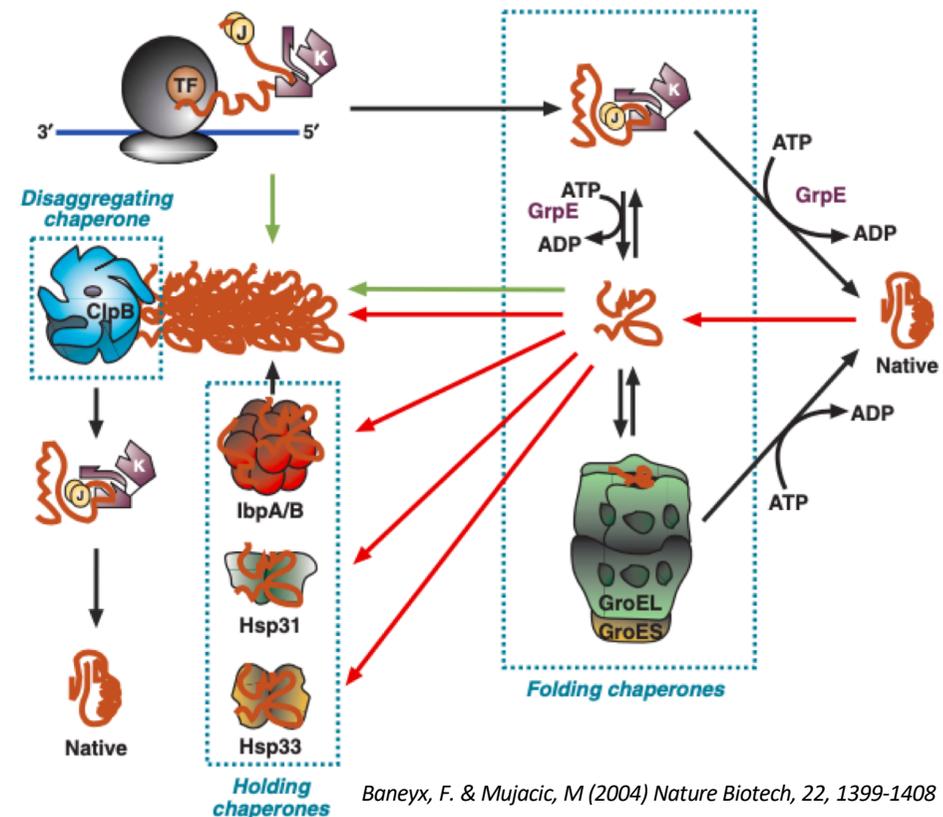


Le small heat shock proteins (sHsp)

- Sono proteine di massa molecolare relativamente piccola.
- Non consumano ATP.
- Prendono in carico proteine in via di ripiegamento mascherandone le sequenze idrofobiche esposte; così facendo ne prevengono l'aggregazione.
- **NON favoriscono un ulteriore ripiegamento** delle proteine.
- Nel corso del loro ciclo funzionale generalmente formano oligomeri costituiti da un diverso numero di subunità (da due a diverse decine).

Le caratteristiche delle sHsp procariotiche

- Le sHsp procariotiche sono generalmente denominate **holdasi** per la loro capacità di prendere in carico proteine in via di ripiegamento mascherandone le sequenze idrofobiche esposte, ma senza assisterne il ripiegamento.
- Questa condizione si verifica quando gli chaperoni non possono prendere in carico altre proteine.
- Ciò si verifica generalmente quando una cellula è sottoposta a stress, in particolare a heat shock.



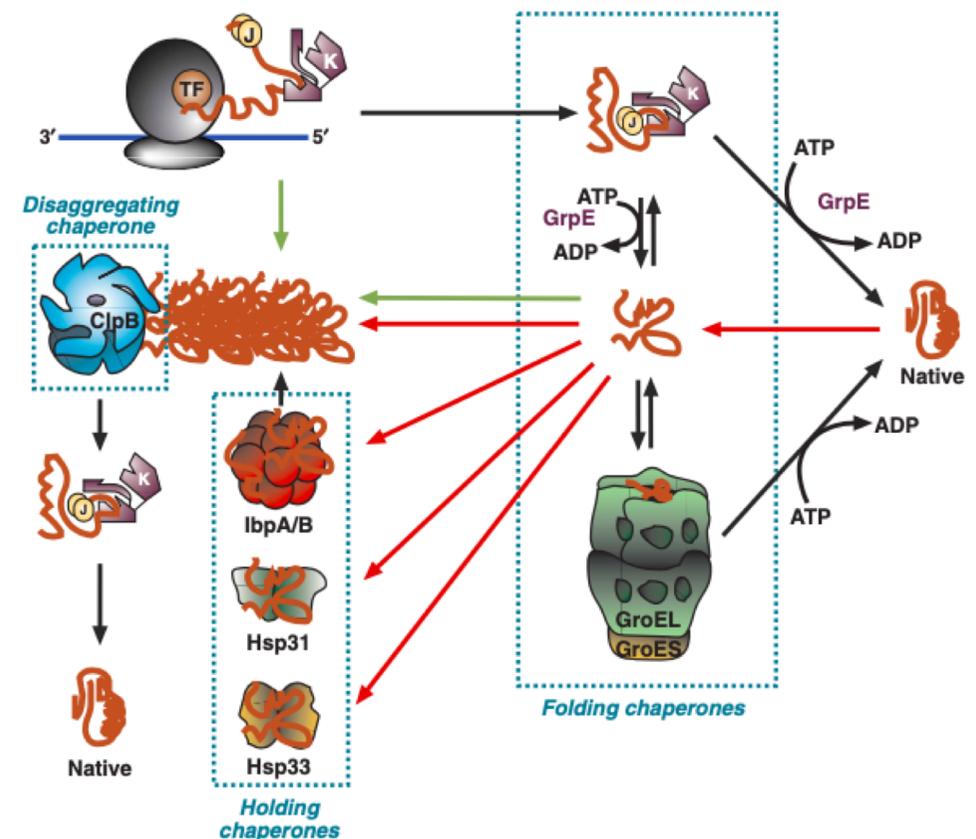
Le holdasi rappresentano la “sala d'attesa” delle proteine che aspettano di essere consegnate agli chaperoni dopo che questi hanno svolto il lavoro arretrato su altre proteine.

Le sHsp procariotiche

- Nei procarioti fanno parte della famiglia delle sHsp le proteine **IbpA** e **IbpB**, due proteine omologhe di 16 kDa.
- Nella loro forma funzionale esse formano oligomeri di 600-700 kDa.
- **Hsp31** e **Hsp33** non sono tradizionalmente classificate come sHsp ma funzionano in modo analogo.

Ripiegamento proteico assistito da chaperone nel citoplasma di *E. coli*

- I polipeptidi nascenti che richiedono l'assistenza di chaperoni molecolari incontrano per la prima volta TF o DnaK-DnaJ.
- Entrambi coinvolgono tratti di amminoacidi idrofobici esposti al solvente.
- Il substrato nella sua forma intermedia di folding può raggiungere una conformazione nativa ed essere trasferito nella camera centrale del complesso GroEL/GroES
- **In periodi di stress (freccie rosse), le proteine termolabili si svolgono e si aggregano.**
- IbpA/B lega proteine parzialmente ripiegate sulla sua superficie per servire da serbatoio di intermedi aperti fino a quando non diventano disponibili gli chaperoni che intercalano all'interno i grandi aggregati che si sono formati in seguito allo stress termico.
- Gli chaperoni di sostegno Hsp33 e Hsp31 diventano importanti rispettivamente sotto stress ossidativo ed elevato stress termico.
- ClpB promuove il taglio e la disaggregazione delle proteine ospiti non foldate a causa dello stress termico e collabora con gli altri chaperoni per riattivare le proteine quando lo stress diminuisce.
- Le proteine ricombinanti che mancano di un'interazione precoce con TF o DnaK-DnaJ, subiscono cicli multipli di interazioni abortive con chaperoni e si accumulano in corpi di inclusione (freccie verdi).

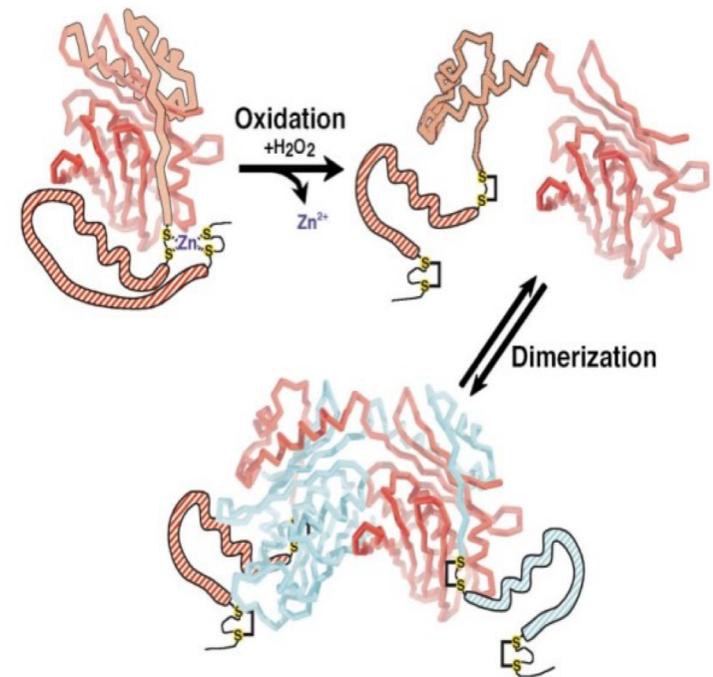


Hsp31

- Hsp31 funziona in condizioni di elevato stress termico.
- Hsp31 è un omodimero formato da subunità di 31 kDa. La superficie del dimerico forma una sorta di avvallamento idrofobico entro cui si accomodano le proteine substrato (non si tratta di una vera e propria cavità come nel caso delle chaperonine).

Hsp33 e la protezione dallo stress ossidativo

- Hsp33 è implicata nella **protezione dallo stress ossidativo**.
- Lo stress ossidativo causa il «misfolding» e la compromissione funzionale delle proteine. È quindi logico che le conseguenze dello stress ossidativo vengano contrastate sia a livello del controllo del ripiegamento proteico sia a livello del controllo della degradazione delle proteine.
- In condizioni basali, Hsp33 è un monomero che coordina un atomo di zinco grazie ai gruppi –SH di quattro suoi residui di cisteina.
- Quando le cellule sono esposte alle specie reattive dell'ossigeno (stress ossidativo), le cisteine si ossidano formando ponti disolfuro, e non possono di conseguenza tenere legato lo zinco che quindi viene rilasciato.
- In questa forma Hsp33, per ragioni non del tutto chiare, è in grado di dimerizzare; il dimero è la forma funzionale della holdasi.
- Cessato lo stress ossidativo il ponte disolfuro si riforma grazie alle condizioni riducenti intracellulari e la Hsp33 ritorna nella forma monomeric, non funzionale (si veda la figura).



Le caratteristiche delle sHsp eucariotiche

- Anche le sHsp eucariotiche rappresentano un raggruppamento eterogeneo di proteine che condividono con quelle procariotiche molte delle caratteristiche già menzionate.
- Le più rappresentate tra le sHsp eucariotiche sono proteine che contengono il dominio delle **α -cristalline**.
- Esiste un ampio repertorio di proteine denominate cristalline, la cui struttura è descritta al sito web del “Protein Data Bank”:
<https://pdb101.rcsb.org/motm/127>
- Oltre alle α -cristalline esistono anche le β , γ , δ , ε e λ cristalline. Ciascuno di questi raggruppamenti ha proprietà strutturali alquanto differenti gli uni dagli altri, sebbene tutti presentino un’ampia prevalenza di struttura a foglietto beta.

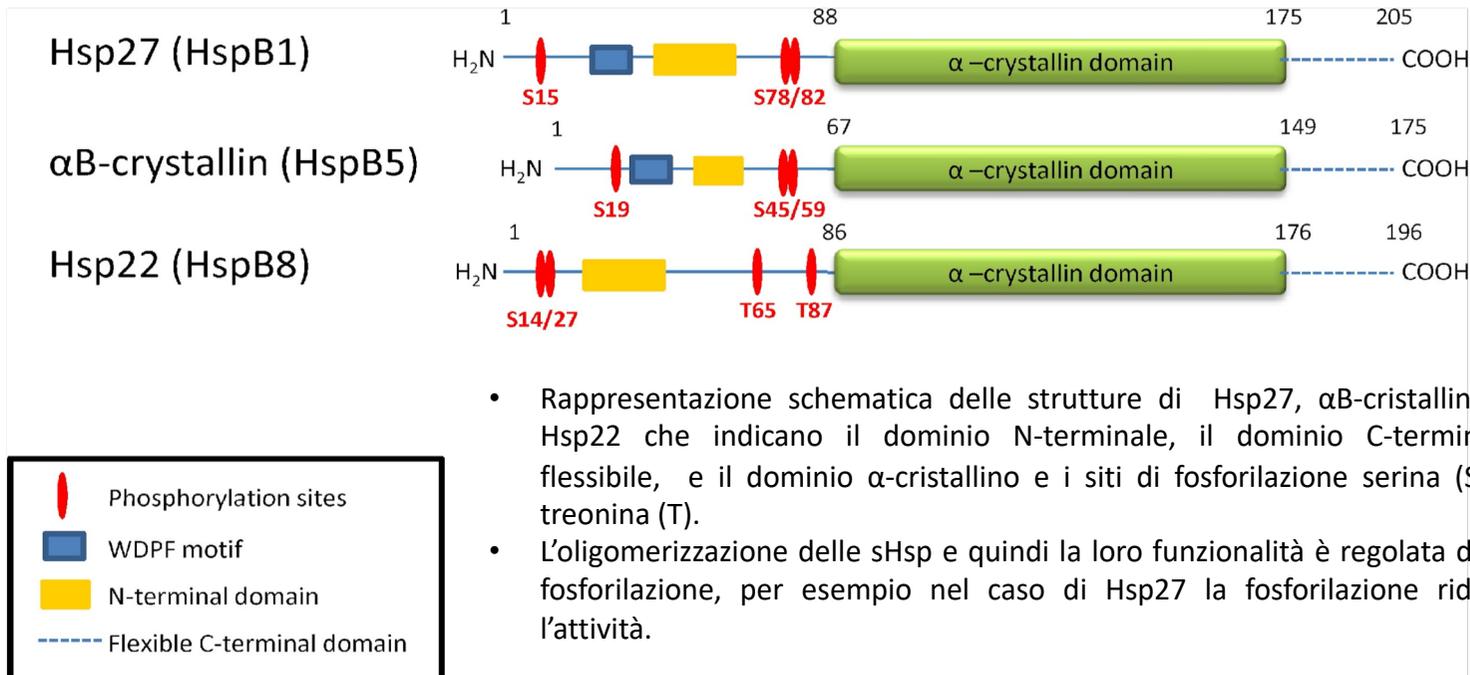
Le caratteristiche delle cristalline

- La loro denominazione di cristalline deriva dalla loro localizzazione, il cristallino dei vertebrati.
- **Esse hanno il ruolo di conferire al cristallino medesimo quelle caratteristiche di trasparenza e rifrattività indispensabili a garantire la normale funzione visiva.**
- Le α -cristalline si trovano in due isoforme nel cristallino, le forme A e B, la cui lunghezza è di circa 175 amminoacidi e che sono strettamente correlate in termini evolutivi (54% di residui identici evidenziati nell'allineamento).
- Le cristalline non solo svolgono un ruolo chaperonico (holdasico) nel cristallino in cui provvedono a prevenire l'aggregazione delle altre proteine con conseguente opacizzazione e compromissione della funzione visiva, ma sono anche ampiamente diffuse in molti altri tipi cellulari, dove si presentano come domini all'interno di sHsp che espletano la funzione di holdasi.

Moonlighting proteins

- Molte cristalline espletano anche funzioni che non hanno nulla a che vedere con il loro ruolo nel cristallino: si tratta in generale di funzioni enzimatiche (tre esempi: delta cristallina di anatra funge anche da enzima arginino-succinato liasi, epsilon cristallina di toporagno è una aldeide deidrogenasi che agisce sulla retina e lambda cristallina di coniglio funge anche da enzima L-gulonato 3-deidrogenasi coinvolta in reazioni di ossidoriduzione).
- Quando una stessa proteina assume funzioni diverse in diversi contesti biologici si parla di **moonlighting protein**.
- L'alfa cristallina funge da chaperone, trovando proteine spiegate e danneggiate e legandosi a esse prima che possano aggregarsi in complessi. Sfortunatamente, nonostante questa protezione, il danno si accumula con l'avanzare dell'età, poiché i cristalli vengono spezzati o spiegati o ossidati. Lentamente, il danno porta a un progressivo accumulo di aggregati opachi, con conseguente cataratta.

Domini strutturali delle proteine umane α B-cristallina HSP27 HSP22



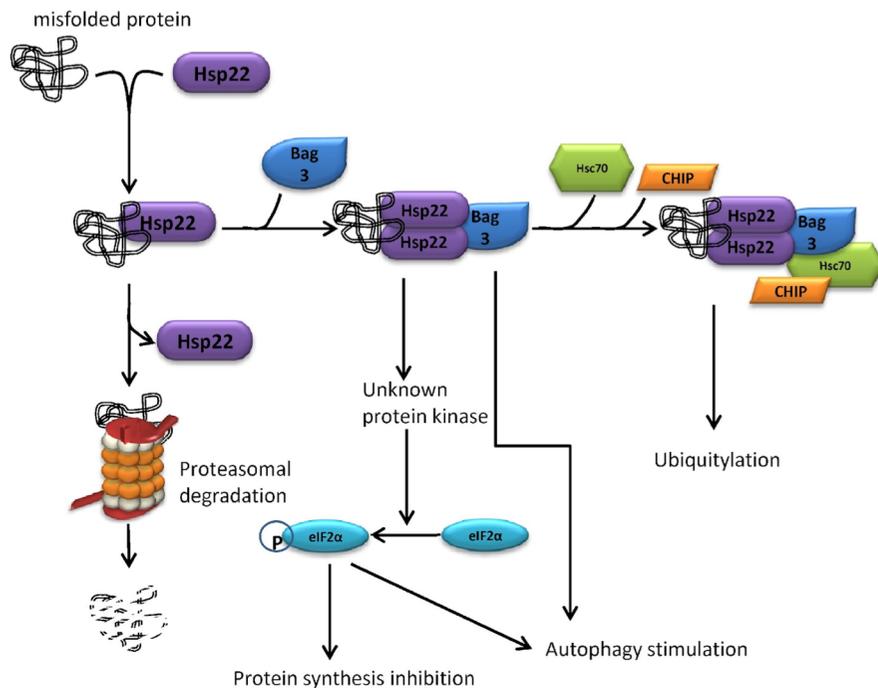
- Rappresentazione schematica delle strutture di Hsp27, α B-cristallina e Hsp22 che indicano il dominio N-terminale, il dominio C-terminale flessibile, e il dominio α -cristallino e i siti di fosforilazione serina (S) e treonina (T).
- L'oligomerizzazione delle sHsp e quindi la loro funzionalità è regolata dalla fosforilazione, per esempio nel caso di Hsp27 la fosforilazione riduce l'attività.

Acunzo J et al Int J Biochem Cell Biol. 2012 44(10):1622-31. doi: 10.1016/j.biocel.2012.04.002

Il meccanismo di funzionamento delle sHsp eucariotiche

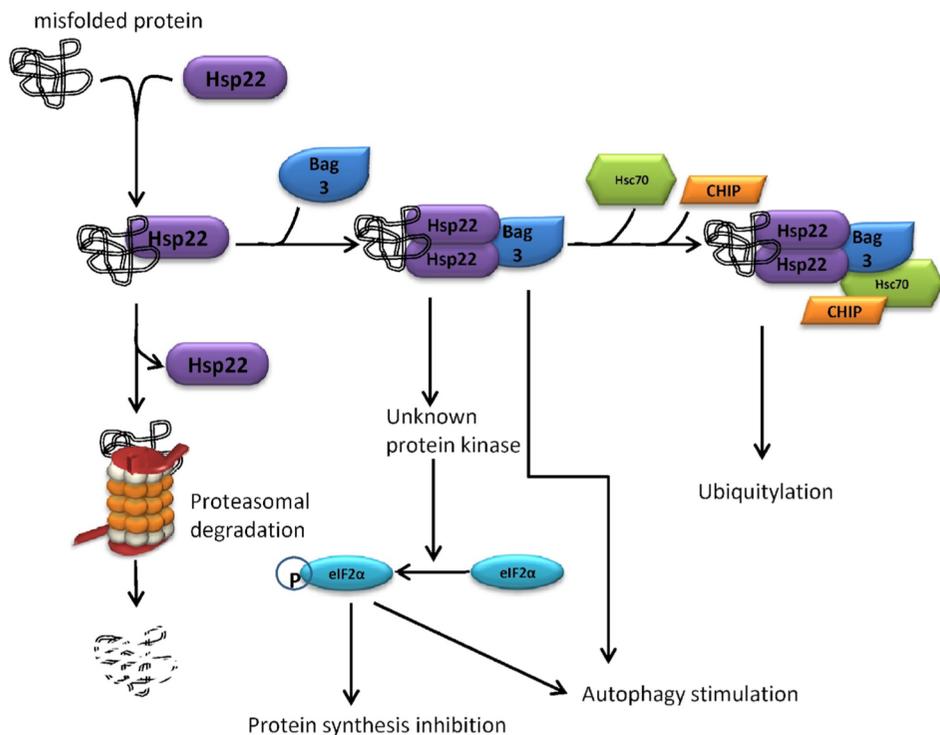
- Le sHsp eucariotiche vanno incontro a oligomerizzazione quando prendono in carico le proteine clienti, così come fanno le sHsp procariotiche. Si è inoltre ritenuto fino a tempi relativamente recenti che, al pari di quelle procariotiche, questo fosse il solo ruolo delle sHsp eucariotiche.
- Tuttavia le sHsp eucariotiche esercitano anche ruoli regolativi di primaria importanza in alcune delle maggiori funzioni cellulari.
- sHsp sono coinvolte nella resistenza agli stress extracellulari (compresi gli agenti antitumorali), svolgono quindi un ruolo fondamentale nella sopravvivenza cellulare.
- Hsp27, α B-cristallina e Hsp22 sono coinvolte nel controllo della degradazione proteica a livello del proteasoma, della sintesi proteica e dell'apoptosi.

Hsp22



- Hsp22 (HspB8) è espresso nella maggior parte dei tessuti ma il suo mRNA è altamente espresso nei muscoli scheletrici e lisci umani, nel midollo spinale, nei neuroni motori e sensoriali, nel cuore, nel cervello, nella prostata, nei polmoni e nei reni.
- Hsp22 previene o diminuisce efficacemente l'aggregazione di proteine parzialmente non foldate o denaturate nelle cellule.
- L'attività dello chaperone Hsp22 assicura la degradazione proteolitica delle proteine non foldate e può essere mediata sia dal proteasoma sia dalla macroautofagia.
- Hsp22 si trova al crocevia di entrambi i meccanismi, svolgendo un duplice ruolo nella sopravvivenza cellulare.

Hsp22

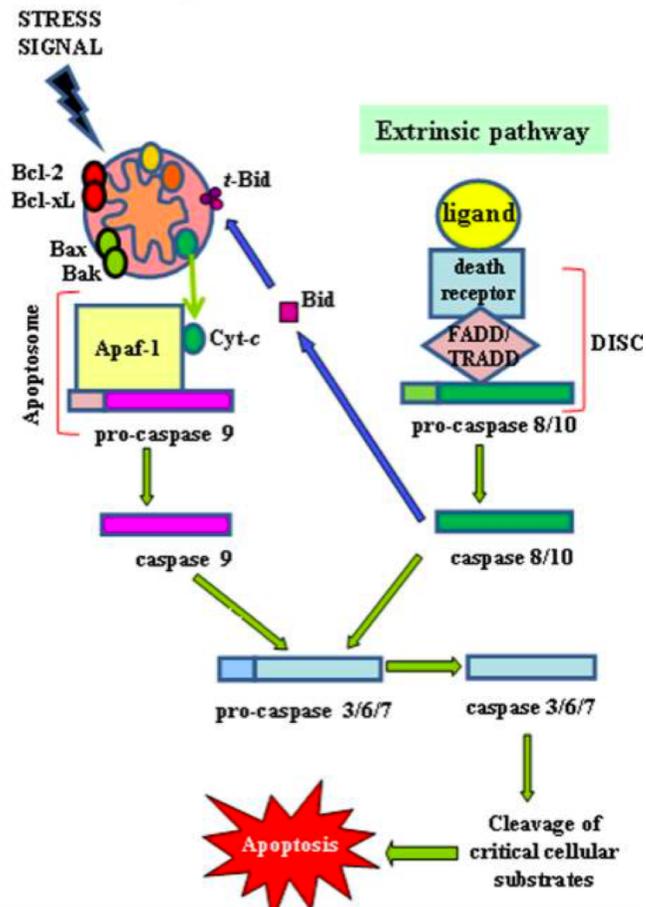


Acunzo J et al Int J Biochem Cell Biol. 2012 44(10):1622-31. doi: 10.1016/j.biocel.2012.04.002

- La formazione del complesso Hsp22-Bag3 (Bag3 è uno stimolatore della macroautofagia) promuove la rimozione autofagica di proteine mal ripiegate garantendo una rimozione cellulare di proteine aggregate.
- Hsp22 forma anche un complesso multimerico con Bag3, Hsc70 e CHIP (ubiquitin ligase associato a chaperone). Questo complesso promuove la degradazione ubiquitina-dipendente mediato dal proteasoma.
- Con un meccanismo ancora sconosciuto, il complesso Hsp22-Bag3 porta anche alla fosforilazione di eIF2α (fattore di inizio della traduzione), all'inibizione della sintesi proteica e alla stimolazione della macroautofagia.
- Autofagia è un processo di pro-sopravvivenza, organelli e/o porzioni del citoplasma vengono inghiottiti all'interno di vacuoli autofagici a doppia membrana per la degradazione a livello dei lisosomi garantendo il turnover fisiologico di organelli vecchi/danneggiati e fornendo alle cellule substrati metabolici per soddisfare le esigenze energetiche sotto stress.

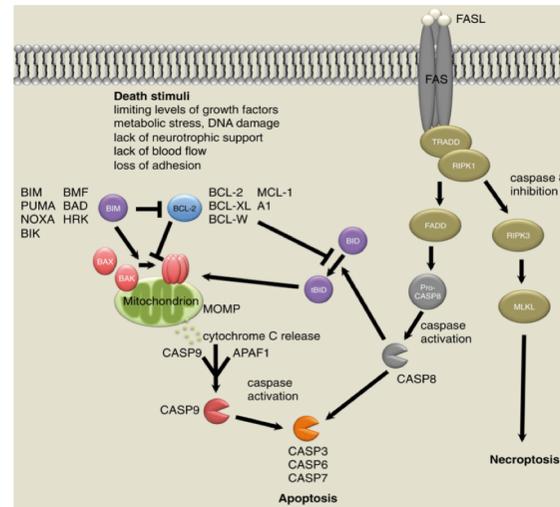
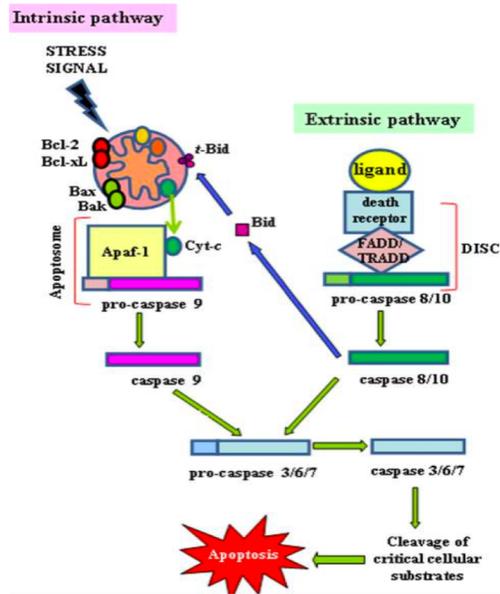
Apoptosi

Intrinsic pathway



- Con il termine apoptosi si indica un processo di morte cellulare programmata.
- E' un fenomeno controllato geneticamente che determina la morte programmata di una cellula a un certo punto del suo ciclo vitale.
- Due vie distinte ma alla fine convergenti avviano l'apoptosi: la via mitocondriale, intrinseca o regolata da BCL-2 (B-cell lymphoma 2 (BCL-2)-regulated pathway) e la via estrinseca o del death receptor pathway.
- Sebbene il pathway intrinseco svolga un ruolo chiave nel controllo dell'omeostasi dei tessuti, anche l'altro pathway è coinvolto nello stesso processo, specialmente a livello del sistema ematopoietico. Esiste quindi un cross-talk.
- L'apoptosi viene eseguita principalmente da una famiglia di proteasi note come caspasi (cysteinyll, aspartate-specific proteases). Le caspasi sono centrali nel meccanismo dell'apoptosi in quanto sono sia gli iniziatori (caspase-2, -8, -9 e -10), i principali responsabili dell'inizio del percorso apoptotico) sia gli esecutori (caspase-3, -6 e -7), responsabili della scissione dei componenti cellulari e della morte cellulare.
- Dal punto di vista morfologico le cellule apoptotiche mostrano un caratteristico restringimento cellulare citoplasmatico, gemmazione della membrana plasmatica, esposizione della fosfatidilserina (PS) sul lato extracellulare della membrana plasmatica, condensazione della cromatina e frammentazione del DNA.
- L'espressione di PS negli strati esterni della membrana cellulare consente il riconoscimento precoce delle cellule morte da parte dei macrofagi, con conseguente fagocitosi.

Via apoptotica estrinseca



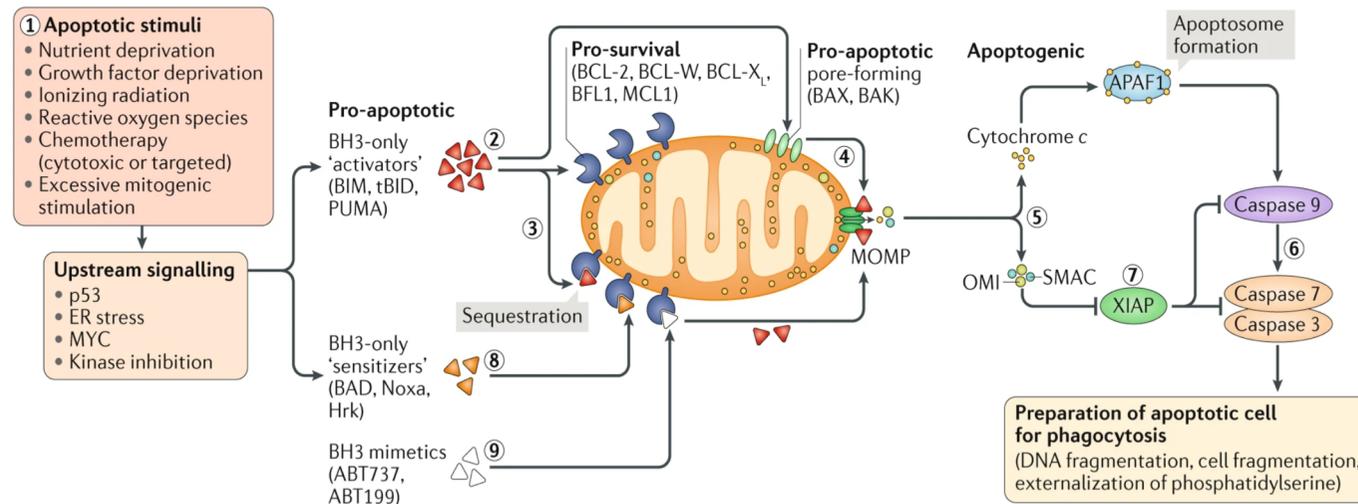
Voss AK and Strasser A. The essentials of developmental apoptosis [version 1]. F1000Research 2020, 9(F1000 Faculty Rev):148 (doi: 10.12688/f1000research.21571.1)

- La via apoptotica estrinseca (dipendente dal «death receptor») inizia dall'interazione dei recettori appartenenti alla superfamiglia dei recettori TNFR (tumor necrosis factor), con i rispettivi ligandi, la famiglia di proteine TNF. I sistemi di segnalazione più caratterizzati dei complessi recettore della morte/ligandi sono: TNFR1-TNF α , FAS (CD95, APO-1) - FasL, TRAILR1 (DR4) -TRAIL, TRAILR2 (DR5) - TRAIL.
- Dopo l'interazione con il ligando, lo stesso recettore subisce oligomerizzazione e una modifica conformazionale con conseguente interazione con le proteine adattatrici (FADD /TRADD)
- Successivamente viene sequestrato a livello di questo complesso proteico, l'inziatore pro-caspasi-8 e 10, con conseguente autoattivazione delle caspasi.
- L'attivazione delle caspasi responsabili dell'inizio del processo apoptotico provoca il processamento delle caspasi effettrici a valle 3, -6 e -7 la cui attivazione determina la scissione di substrati essenziali per la vitalità cellulare, inducendo la morte cellulare.

Via apoptotica intrinseca

Fig. 1: The mitochondrial apoptosis pathway.

From: [Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins](#)

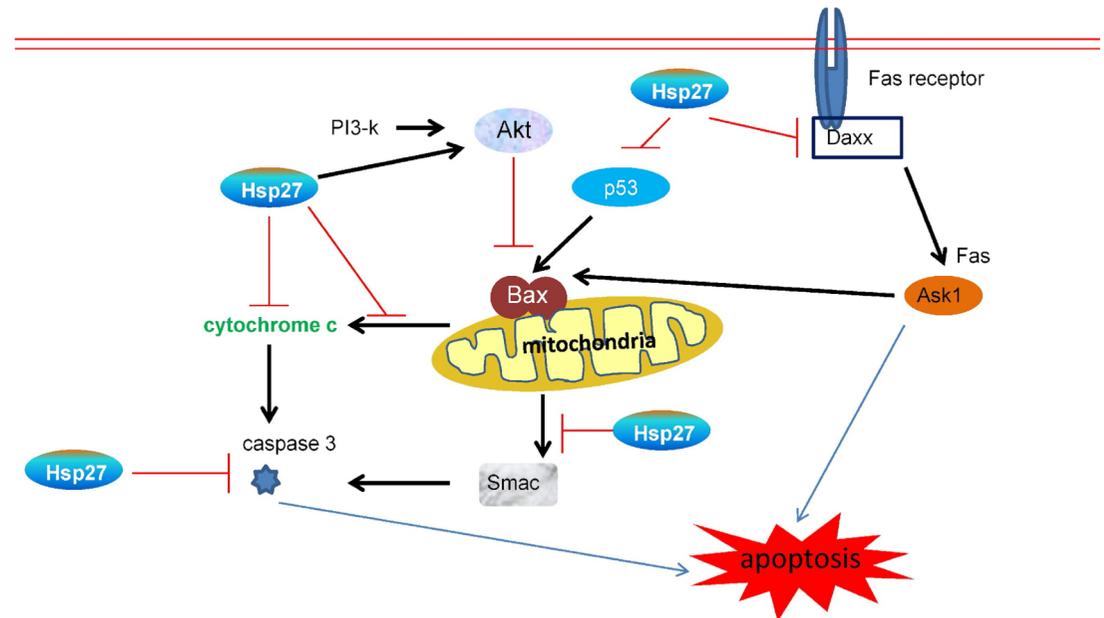


<https://doi.org/10.1038/s41580-018-0089-8>

- La via apoptotica intrinseca (dipendente dai mitocondri) è mediata da segnali intracellulari che convergono a livello mitocondriale in risposta a diverse condizioni di stress.
- La successiva attivazione di membri della famiglia Bcl-2 (Bax, Bak) pro-apoptotici che dimerizzano e causano la distruzione della membrana esterna della membrana mitocondriale (MOMP) e la diffusione nel citosol di proteine normalmente confinate nello spazio intermembrana dei mitocondri.
- Queste proteine includono i cosiddetti fattori apoptogenici, il citocromo-c, SMAC (attivatore di caspasi) e la serina proteasi OMI
- Il citocromo-c si lega al fattore citosolico Apaf-1 (fattore 1 attivante la proteasi dell'apoptosi) e innesca la formazione di un complesso chiamato apoptosoma, con conseguente attivazione di caspasi 9.
- Il processo a sua volta attiva l'esecutore a valle caspasi-3, -6 e -7 per la scissione dei substrati cellulari che portano alla morte cellulare apoptotica.

Hsp27

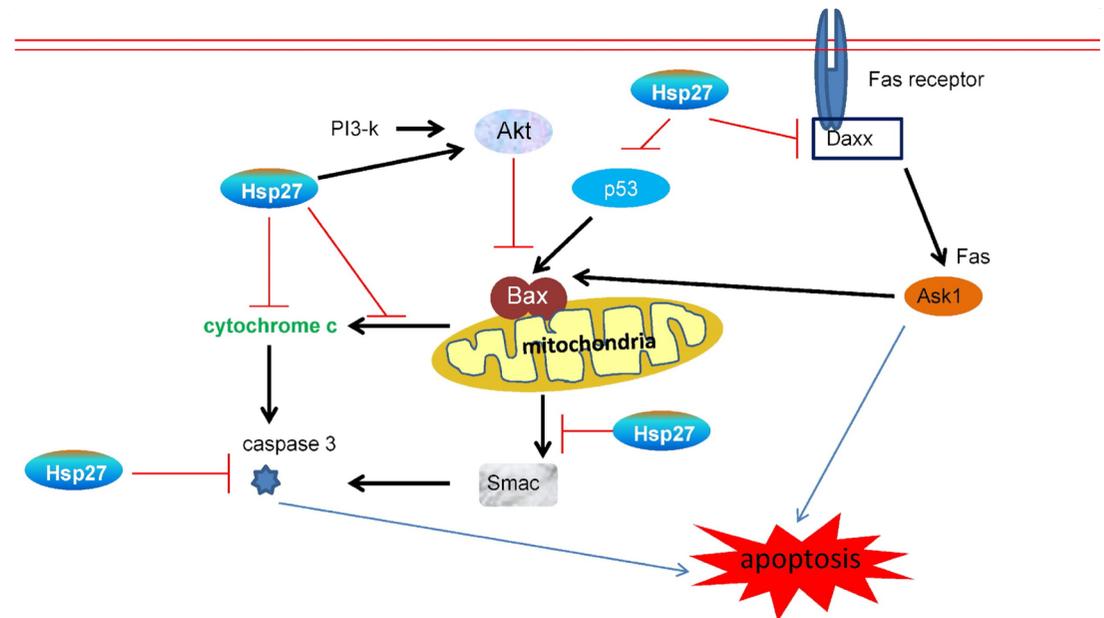
- Hsp27 umano chiamato anche HSPB1, HSP25 o HSP28 è stato descritto per la prima volta nel 1980 quando in cellule HeLa, trattate ad alta temperatura, veniva evidenziata una proteina sconosciuta con un peso molecolare di 27 kDa.
- Hsp27 è espresso in tutti i tessuti umani, compresi gli astrociti e le cellule neuronali primarie, ma principalmente nei muscoli scheletrici, lisci e cardiaci.
- Hsp27, come la maggior parte delle sHsp, previene l'aggregazione di proteine non propriamente foldate o parzialmente denaturate.
- L'espressione di Hsp27 è indotta durante l'ontogenesi, in varie patologie e in molti tipi di tumori.



Acunzo J et al Int J Biochem Cell Biol. 2012 44(10):1622-31. doi: 10.1016/j.biocel.2012.04.002

Hsp27

- Hsp27 partecipa principalmente alla regolazione dell'apoptosi.
- Hsp27 può prevenire l'apoptosi proteggendo le cellule dallo shock termico, dagli effettori apoptotici, stress ossidativo e ischemia.
- Hsp27 può anche inattivare Bax e bloccare il rilascio di Smac (second mitochondria-derived activator of caspase) e citocromo c, coinvolti nel processo apoptotico.
- È interessante sottolineare che Hsp27 mostra anche effetti neuroprotettivi. Negli astrociti e nelle cellule neuronali primarie, è stato dimostrato che Hsp27 protegge le cellule dall'apoptosi indotta dallo stress ossidativo *in vitro* e *in vivo*.



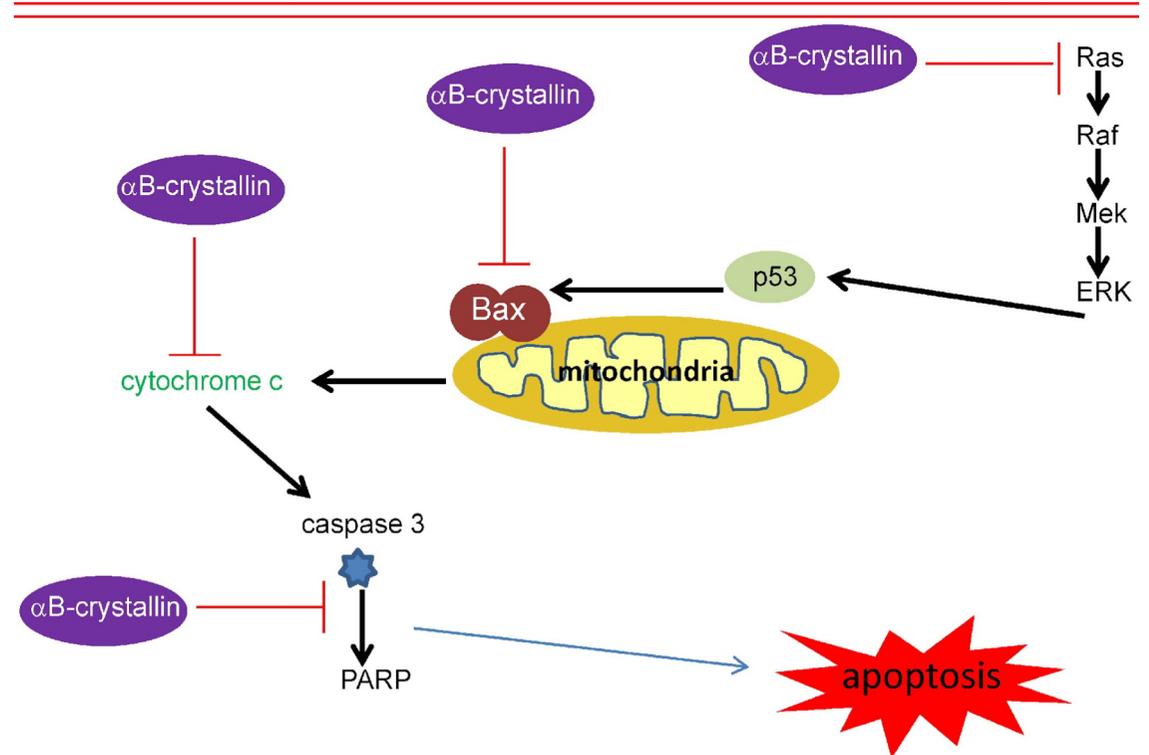
Acunzo J et al Int J Biochem Cell Biol. 2012 44(10):1622-31. doi: 10.1016/j.biocel.2012.04.002

Hsp27 è considerato un inibitore della morte cellulare mediante apoptosi.

- Le proprietà anti-apoptotiche di Hsp27 rendono questa proteina un potenziale bersaglio per la terapia antitumorale per indurre la morte delle cellule tumorali.
- Strategie di inibizione mirate alla down-regolazione di Hsp27 potrebbero prevenirne l'effetto protettivo. Infatti, studi recenti su tumori umani resistenti agli agenti chemioterapici hanno dimostrato che la diminuzione dell'espressione di Hsp27 induce apoptosi.
- Esempi:
 - i) in cellule del cancro alla prostata, l'inibizione di Hsp27 porta all'induzione della caspasi3/7 e diminuisce la crescita cellulare;
 - ii) livelli elevati di Hsp27 nelle cellule staminali del cancro del polmone potrebbero spiegare la resistenza di queste cellule all'apoptosi indotta dalla chemioterapia tradizionale;
 - iii) *in vivo*, è stato dimostrato che la down-regolazione di Hsp27 utilizzando siRNA, oligonucleotidi antisenso (ASO) o inibitori di piccole molecole aumenta l'apoptosi cellulare e diminuisce la crescita del tumore nei topi;
 - iv) lo sviluppo di un siRNA introdotto in un vettore lentivirale per migliorare il silenziamento permanente di Hsp27, ha evidenziato un aumento dell'attività del proteasoma e la regressione di alcuni tumori

α B-cristallina

- α B-cristallina (HSPB5) è uno chaperone scoperto come proteina altamente abbondante nel cristallino dove svolge un ruolo essenziale nel mantenere la trasparenza della lente oculare.
- Agisce come chaperone anche in altri tessuti (muscoli, cervello, milza, polmone, rene, etc.)
- α B-cristallina ha funzioni anti-apoptotiche.
- α B-cristallina previene l'apoptosi interagendo con Bax e inibendone la traslocazione dal citosol al mitocondrio.
- α B-cristallina inibisce caspasi 3 ed il pathway che porta al rilascio del citocromo c.
- α B-cristallina previene l'attivazione di Ras e quindi inibisce il pathway RAF/MEK/ERK, coinvolto nell'attivazione dell'apoptosi in risposta a stress.
- Altamente espressa in malattie neurodegenerative ed alcuni tumori.



Le chaperonopatie

- Chaperonopatie: gruppo di condizioni patologiche caratterizzate dalla presenza di chaperoni molecolari anomali (proteine) che contribuiscono alla insorgenza di alcune patologie.
- Le chaperonopatie possono essere causate da un naturale decadimento della funzionalità degli chaperoni che interviene nel corso dell'invecchiamento.
- Possibili cause: *(i)* ridotta espressione degli chaperoni *(ii)* accumulo di modificazioni strutturali, ad esempio quelle che derivano dall'ossidazione di alcuni gruppi funzionali nelle catene laterali.
- Tutto questo comporta un peggioramento del controllo di qualità delle proteine prese in carico dagli chaperoni medesimi, con conseguente formazione di aggregati proteici.
- Questi, in molti casi possono esercitare un effetto tossico.

Il ruolo degli chaperoni

- Difetti genetici o acquisiti possono influenzare una o più delle funzioni specializzate dei vari segmenti o domini di una funzione chaperonica.
- Le manifestazioni patologiche/cliniche di una chaperonopatia dipenderanno da quale dominio/funzione è compromessa o abolita.
- Uno chaperone molecolare deve essere in grado di eseguire le seguenti operazioni:
 - (1) riconoscere e legare il substrato (ad esempio un polipeptide che necessita di assistenza dello chaperone per il suo corretto folding) attraverso il suo dominio legante il substrato
 - (2) interagire, tramite il suo dominio di oligomerizzazione, con altri chaperoni, co-chaperoni e cofattori per garantire il folding di un polipeptide, o per contribuire alla formazione di un complesso multimerico di polipeptidi.
- **Devono essere anche in grado di interagire, come parte di un complesso chaperone, con altri meccanismi cellulari quali i processi di degradazione delle proteine, per integrare le reti di controllo della qualità delle proteine della cellula.**

Invecchiamento di proteine e chaperoni

THE AGEING PROCESS OF PROTEINS

ACCUMULATION OF MUTATIONS

AGEING OF CHAPERONES: MUTATIONS,
OXIDATION = **CHAPERONOPATHIES**

YOUNG CHAPERONES TO THE RESCUE

CHAPERONOTHERAPY: GENE AND/OR PROTEIN

Stati patologici della senescenza cellulare

PATHOGENIC PATHWAYS

STRESS >> PROTEIN UNFOLDING >> AGGREGATION

PROTEINOPATHY >> PROTEIN MISFOLDING >> AGGREGATION

PROTEINOPATHY + STRESS = AGGREGATION

CHAPERONES TO THE RESCUE

CHAPERONOPATHY >> PROTEIN FOLDING IMPAIRED

PROTEINOPATHY + CHAPERONOPATHY = AGGREGATION

PROTEINOPATHY + CHAPERONOPATHY + STRESS = AGGREGATION

Il ruolo degli chaperoni

- La diminuzione dell'espressione di un gene che codifica per uno chaperone è causa di chaperonopatia. Tuttavia non è stato ancora determinato se la non corretta regolazione genica sia la causa o l'effetto della malattia primaria o della senescenza.
- Altre chaperonopatie strutturali sono causati dalla troncatura dell'm-RNA, oppure dall'ossidazione delle proteine. Queste sono condizioni acquisite piuttosto che ereditarie e tendono a raggiungere livelli patologici con il progredire della senescenza.
- Anche il sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) è coinvolti nel controllo della qualità delle proteine. La degradazione si verifica quando viene rilevata una proteina difettosa parzialmente foldata o parzialmente denaturata da un fattore di stress. Se questo meccanismo di controllo di qualità fallisce, i polipeptidi anomali o denaturati si aggregano e precipitano.
- **La cellula deve mettere in atto un meccanismo di degradazione efficace che elimini le proteine accumulate e tossiche per la cellula.**

Chaperonopatie su base genetica

- Le chaperonopatie che derivano da mutazioni di geni che codificano determinati chaperoni producono malattie (generalmente rare) di norma di notevole gravità.
- Tali chaperonopatie rappresentano un repertorio piuttosto numeroso di patologie genetiche.

Importante ruolo biologico degli chaperoni coinvolti considerando la severità delle patologie causate dal loro malfunzionamento

Chaperonopatie su base genetica

Patologia	Chaperone	Ruolo funzionale	Difetto genetico	Sintomatologia
Sindrome di McKusick-Kaufman (MKS)	CTT	Chaperonina eucariotica	Mutazioni di una subunità	Molteplice (polidattilia, cardiopatie, ecc.)
Sindrome di Bardet-Biedl (BSS)	CTT	Chaperonina eucariotica	Mutazioni di una subunità	Simile a MKS (anche retinite pigmentosa, obesità, deficit cognitivi e anomalie renali)
Neuropatia sensoriale ereditaria	CTT	Chaperonina eucariotica	Mutazioni di una subunità	Atassia, insensibilità al dolore
Sindrome di Williams	Hsp27 (sHsp)	Chaperone (assiste la pol. di actina)	Delezione del gene	Ritardo mentale, dimorfismo facciale
Cataratta precoce	sHsp (dominio α -cristallina)	Molteplice (mantiene solubili le prot. del cristallino)	Mutazioni	Cataratta precoce

Sindrome di Williams

- La delezione del gene che codifica per la small Hsp, Hsp27 è stata trovata in pazienti con sindrome di Williams (WS, sintomatologia: ritardo mentale, dismorfismi facciali).
- Hsp27 è un chaperone legante l'actina coinvolto nella polimerizzazione e formazione del citoscheletro di actina ed è strutturalmente e funzionalmente correlato alle alfa-cristalline.
- Il ruolo chiave di Hsp27 nella biogenesi e il mantenimento della rete di microfilamenti suggerisce che la sua assenza, o il suo malfunzionamento, influenza quegli aspetti della fisiologia delle cellule e dei tessuti che dipendono dal citoscheletro.
- Almeno alcune delle manifestazioni della WS possono essere attribuite ad anomalie citoscheletriche durante lo sviluppo e la crescita postnatale. Tuttavia, l'esatto difetto funzionale della molecola Hsp27 che contribuisce alla patogenesi non è stato ancora caratterizzato.

α -Cristalline

- α -cristalline: membri di una grande famiglia di proteine all'interno del gruppo sHsp con funzione di chaperoni.
- Una caratteristica strutturale distintiva di questi sHsp è una sequenza conservata verso il centro della molecola, circa 80 amminoacidi in lunghezza, definita dominio **α -cristallino**. Di solito, questo dominio è affiancato da un segmento N-terminale non conservato di lunghezza variabile (a seconda dell'organismo) e da una coda C-terminale corta.
- α -A-cristalline e α -B-cristalline lenticolari riducono l'aggregazione-precipitazione delle proteine e lo sviluppo di cataratta.
- Una caratteristica importante delle alfa-cristalline è la loro capacità di formare complessi oligomerici, una proprietà apparentemente dipendente dal dominio alfa-cristallino e direttamente correlata alle funzioni di chaperoni.
- Pertanto, ci si può aspettare che mutazioni che interessano questo dominio interferiranno sia con la capacità di oligomerizzazione sia con la loro funzione.

Cataratta precoce



- La presenza nella lente dell'occhio di proteine non correttamente «foldate», comprese le cristalline, caratterizza alcune forme di cataratta.
- Mutazioni dei geni che codificano per le proteine cristalline, portando a «un folding» errato delle proteine, sono state identificate in diverse forme di cataratta (es. mutazione «missenso» nel gene umano della α -A-cristallina CRYAA è stata evidenziata in cataratte autosomiche dominanti congenite, ADCC).
- Mutazione del gene della γ -D cristallina: forma di cataratta progressiva ad esordio giovanile.
- Sperimentalmente, nei topi, è stato dimostrato che le proteine γ -cristalline mutate possono formare aggregati. Questo potenziale delle cristalline mutanti di formare precipitati può contribuire all'opacità del cristallino in aggiunta al non corretto «folding» delle proteine.

Co-fattori di chaperoni coinvolti nel folding della tubulina

- La degenerazione progressiva delle cellule dei fotorecettori nella retina caratterizza la **retinite pigmentosa (RP)**, il processo degenerativo continua per 20-30 anni e può eventualmente portare alla cecità.
- Oltre 30 loci e diversi difetti genetici sono stati implicati nella RP. Uno dei difetti genici è stato trovato nel gene RP2, che codifica per una proteina di 350 aminoacidi. Il segmento N-terminale di RP2 ha similarità con il cofattore C, che è uno di un insieme di almeno cinque chaperoni (A-E) coinvolti nel folding della tubulina.
- Sono state identificate le mutazioni missenso e troncamento proteico di RP2. Sono state testate le varie mutazioni di RP2, per determinare le localizzazioni e le distribuzioni delle rispettive proteine all'interno della cellula. Le proteine sono risultate assenti o distribuite in modo anomalo. È stato ipotizzato che la mancanza e/o la localizzazione anomala della proteina RP2 in cellula contribuisca alla patologia cellulare della RP.
- Questo potrebbe quindi rappresentare un esempio di fallimento da parte di uno chaperone nel reclutare altre molecole di chaperoni per costituire il corretto networking di chaperoni responsabili del folding della tubulina.