

## Laurea Triennale in Chimica- AA 2011/2012

**Titolo:** Espressione e purificazione di mutanti della proteina E7 del Papilloma Virus Umano

**Title:** Expression and purification of mutants of E7 protein from Human Papilloma Virus

**Candidato:** Niccolò Sciortino

**Relatore:** Prof.ssa Roberta Pierattelli (pierattelli@cerm.unifi.it)

### Abstract

In questo lavoro di tesi abbiamo studiato la proteina E7 da Papilloma virus umano 16, un fenotipo particolarmente maligno del virus. Questa proteina è ritenuta proprio una delle responsabili della progressione cancerogena delle cellule infettate dal virus, ma non sono ancora stati chiariti molti aspetti molecolari di questo processo. E' quindi importante riuscire a caratterizzarne le proprietà strutturali e dinamiche.

Essendo una proteina che presenta alcune caratteristiche peculiari che ne prevengono la cristallizzazione, la spettroscopia NMR risulta la tecnica più indicata per ottenere informazioni a risoluzione atomica. Per poter sfruttare al meglio questa tecnica è necessario esprimere la proteina in batterio e metterne a punto le migliori condizioni di purificazione che non ne alterino le caratteristiche funzionali.

In questo lavoro di tesi abbiamo dimostrato l'assenza di interferenze della coda di istidine presente nella parte terminale della sequenza che avevamo a disposizione, introdotta per agevolarne la purificazione, e che la purificazione attraverso colonne cromatografiche IMAC contenenti Ni(II) non produce interferenze col sito di legame dello ione Zn(II) presente nella proteina nativa.

L'espressione è partita dal disegno dei primer necessari per la delezione della coda di istidine, a cui sono seguiti i passaggi necessari per l'espressione proteica: PCR, trasformazione in E. Coli, purificazione plasmidi, colture in piastre contenenti antibiotici e induzione. Rotte le cellule contenenti la proteina mutata, questa è stata purificata con cromatografia ionica e a scambio dimensionale. Sui campioni di E7 con coda di istidine, inoltre, è stata compiuta la purificazione utilizzando colonne IMAC con Zn(II). Di ogni campione puro sono stati effettuati spettri NMR per confrontare i diversi metodi di purificazione.