Effetto dello ione specifico sull'aggregazione dell'Insulina in fibrille amiloidi

Candidato: Viola Tinti viola.tinti@stud.unifi.it

Relatore: Pierandrea Lo Nostro pierandrea.lonostro@unifi.it

Correlatore: Gabriella Caminati gabriella.caminati@unifi.it

In questo progetto di tesi ci siamo proposti di studiare il meccanismo di formazione delle fibrille amiloidi e, in particolare, l'effetto che diversi anioni, a parità di controione e a diverse concentrazioni, producono sulla cinetica di aggregazione proteica. Il deposito di fibrille o placche amiloidi nel tessuto cerebrale causa malattie neurodegenerative che compaiono in età avanzata, anche se in realtà il processo fisiopatologico inizia molto tempo prima della comparsa dei sintomi; è quindi importante approfondire lo studio riguardo al meccanismo di formazione di tali fibrille, come questo venga modificato in presenza di sali e se sussista un effetto dello ione specifico.

Il sistema che indaghiamo in questo progetto di tesi è costituito da Insulina, usata come proteina modello per l'aggregazione in fibrille amiloidi, e sali di sodio (NaCl, NaF, NaBr, NaI, e NaSCN) a due diverse concentrazioni (0.1 M e 0.5 M).

Per analizzare la cinetica di aggregazione proteica, in funzione degli anioni e delle loro concentrazioni, abbiamo usato come tecnica fotofisica la spettroscopia di emissione di fluorescenza, utilizzando come sonda fluorescente la Tioflavina T (ThT). Misure di Dicroismo Circolare ci hanno permesso di ottenere informazioni sulla struttura secondaria degli aggregati fibrillari maturi e, in particolare, sulla presenza in percentuale di porzioni ricche di β -sheets e di come questa varia in funzione del sale. Misure di *Confocal Laser Scanning Microscopy* (CLSM) abbinate all'acquisizione di spettri di emissione spazialmente risolti per i vari domini di aggregati presenti nel campione ci hanno aiutato a comprendere la morfologia degli aggregati maturi in funzione dell'anione.

La cinetica di aggregazione in fibrille amiloidi dell'Insulina risulta essere influenzata dalla presenza in soluzione di anioni diversi, i quali cambiano notevolmente il profilo cinetico rispetto a quello osservato in loro assenza. In particolare a forze ioniche più alte (concentrazione 0.5 M) si nota un effetto maggiormente marcato dovuto al cambiamento delle interazioni elettrostatiche ed idrofobiche.