

## Dr.ssa Anna Carla Aiello

### Attività scientifica svolta nel 2° anno di Dottorato, Anno Accademico 2011/2012

Nel muscolo scheletrico l'invaginazione della membrana citoplasmatica (tubuloT) e le cisterne terminali del reticolo sarcoplasmatico (SR) formano i complessi giunzionali di membrana noti anche come triadi.

In queste strutture si instaura il meccanismo di eccitazione contrazione muscolare (E-C coupling) grazie all'accoppiamento funzionale tra il recettore voltaggio sensibile della diidropiridina (DHPR) situato sul tubulo T e il canale calcio (RyR1) sul reticolo sarcoplasmatico.

La Giuntifilina 1 e la Giuntofilina 2 (JPHs) sono proteine molto conservate ed espresse nel muscolo scheletrico. Hanno una regione C-terminale che le ancora al reticolo sarcoplasmatico e una regione N-terminale contenente motivi noti come MORN che hanno grande affinità per i fosfolipidi della membrana citoplasmatica. Grazie a questa struttura le JPHs mediane l'avvicinamento tra il tubulo T e la membrana del reticolo sarcoplasmatico, ciò garantisce un E-C coupling funzionale.

Dalla letteratura emerge che le JPHs interagiscono con proteine coinvolte nell'E-C coupling (RyR1 e DHPR) e proteine coinvolte nell'omeostasi del calcio come il canale TRPC3 (Transient Receptor potential cation channel type 3).

Il mio progetto di dottorato ha come scopo quello di cercare interattori di JP1 nel muscolo scheletrico grazie all'utilizzo della tecnica del doppio ibrido in lievito.

A questo scopo sono stati clonati quattordici frammenti di Giuntofilina 1, sovrapposti tra loro, che coprono l'intera porzione citoplasmatica. Questi frammenti sono stati utilizzati come "proteine esca" per lo screening. E' stata valutata, mediante Western Blot, l'espressione di tali frammenti nel ceppo di lievito Y2H Gold; solo i frammenti che sono risultati ben espressi sono stati utilizzati nello screening con una library umana di muscolo scheletrico.

Usando come proteine esca frammenti che ricoprono la sequenza di JPH1 dall'amminoacido 1 a 638, sono stati trovati molti possibili interattori (proteine preda). Questi risultati dovranno essere confermati invertendo i vettori che contengono le proteine esca e preda e verificando le interazioni con ulteriori approcci biochimici.

- **Progress Report: 21/06/2011**

Junctophilins interaction in skeletal muscle

- **Journal Club: 04/06/2011**

Hypertrophy in skeletal myotubes induced by a junctophilin-2 mutant, Y141H, involves an increase in store-operated  $\text{Ca}^{2+}$ -entry via Orai1.

- **Partecipazione a congresso:**

iim (istituto interuniversitario di miologia) VIII congresso annuale, 27-29 ottobre 2011, Sestri Levante (GE).

*Titolo:* Junctophilins interactions in skeletal muscle

*Autori:* Lucia Golini, Anna Carla Aiello, Emiliana Giacomello, Virginia Barone, Vincenzo Sorrentino