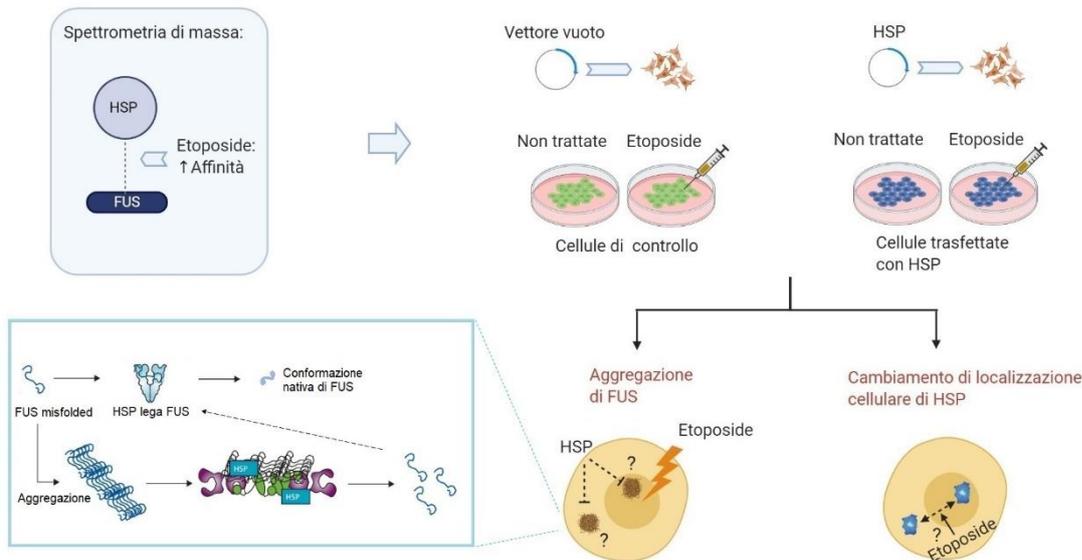


## GRAPHICAL ABSTRACT

**Ruolo delle HSP nella modulazione degli aggregati di FUS**

**Federico Arlati**, laboratorio di Biologia Molecolare animale della prof.ssa Barabino, Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, UNIMIB

FUS è una RNA-binding protein appartenente alla famiglia FET, coinvolta in processi di trascrizione, splicing e riparazione del danno al DNA. Da analisi di spettrometria di massa è emerso che, in presenza di danno al DNA (indotto da etoposide, ETO), alcune proteine aumentano la propria affinità per FUS, tra cui alcune HSP. La cellula possiede un macchinario composto da diversi chaperoni molecolari tra cui le HSP. Questo sistema consente, già a partire dal processo di traduzione e con successivi passaggi, il raggiungimento del corretto ripiegamento delle proteine nella loro conformazione nativa. In letteratura è stato osservato che, nei motoneuroni di pazienti affetti da SLA, FUS forma degli aggregati, i quali sembrano essere responsabili della disfunzione cellulare alla base del meccanismo neurodegenerativo. Uno degli scopi della tesi è verificare se la presenza delle HSP possa ridurre la formazione di questi aggregati. Un altro aspetto che si vorrebbe valutare, è se la aggregazione di FUS avvenga nel nucleo o nel citoplasma e se le HSP cambino la propria localizzazione subcellulare in seguito al trattamento con ETO.

Nel nostro lavoro, abbiamo utilizzato cellule HeLa (linea tumorale di cellule umane di cervice uterina) trasfettate con vettori plasmidici codificanti per HSP. Per analizzare l'aggregazione di FUS, utilizziamo la tecnica del *filter retardation assay*, che si basa sulla capacità di una membrana di nitrocellulosa di trattenere gli aggregati proteici più grossi di 0.2  $\mu\text{m}$ . Per determinare la localizzazione subcellulare delle HSP utilizziamo, oltre alla visualizzazione mediante *microscopia confocale*, un protocollo di *frazionamento cellulare* per separare il citoplasma dal nucleo.