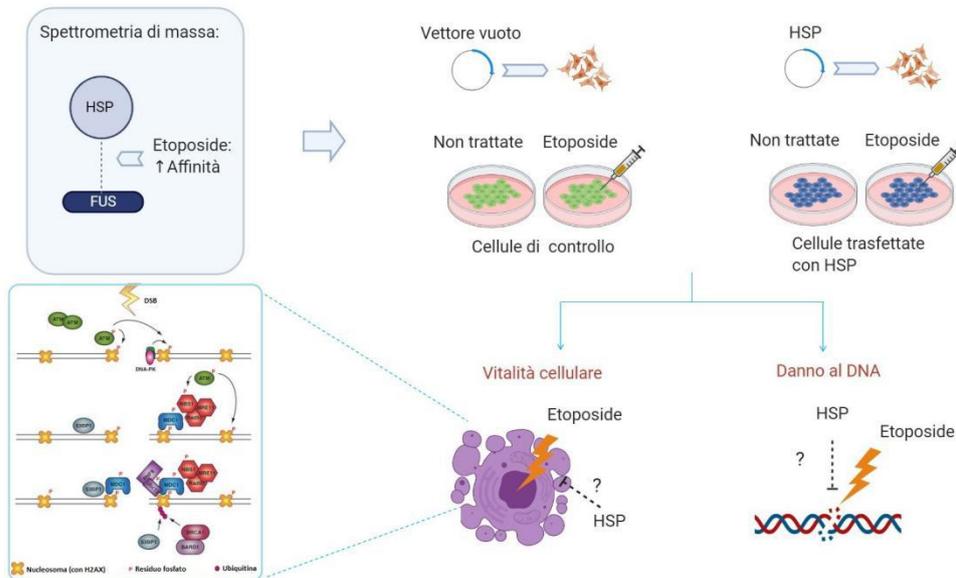


## GRAPHICAL ABSTRACT



### Ruolo delle HSP nella risposta al danno al DNA

**Marzia Zamprogno**, Laboratorio di Biologia Molecolare Animale della prof.ssa Barabino, Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, UNIMIB

Il genoma è costantemente sottoposto a sorgenti esogene ed endogene che possono alterare l'integrità genomica. Per questa ragione, le cellule hanno sviluppato dei meccanismi di riparazione efficienti. La cascata di segnalazione del danno comprende l'intervento di fattori sensori, trasduttori ed effettori, il cui reclutamento consente di attuare differenti risposte come la senescenza, l'apoptosi e la riparazione del DNA.

FUS è una RNA-binding protein appartenente alla famiglia FET, coinvolta in processi di trascrizione, splicing e riparazione del danno al DNA, in quanto viene reclutata precocemente. 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 queste troviamo le HSP, ovvero chaperoni molecolari che cooperano consentendo alle proteine di raggiungere la conformazione nativa. Uno degli scopi principali della tesi è indagare l'effetto delle HSP sulla vitalità cellulare in presenza di un danno al DNA persistente per 18h. In secondo luogo, si vuole determinare se in presenza di ETO, la sovraespressione delle HSP possa ridurre la formazione di foci di danno al DNA.

Nel nostro lavoro, abbiamo utilizzato cellule HeLa (linea cellulare umana derivante da cancro alla cervice uterina) trasfettate con vettori plasmidici codificanti per HSP. Per valutare la vitalità cellulare, utilizziamo il saggio del *trypan blue*, che si basa sulla proprietà di un colorante di non permeare la membrana plasmatica integra, la quale risulta invece compromessa nelle cellule morenti. Per analizzare la formazione dei foci di danno al DNA viene utilizzata la tecnica dell'*immunofluorescenza*, a cui segue la visualizzazione delle immagini mediante la *microscopia confocale*.