RIASSUNTO ATTIVITÀ DI RICERCA

Laureanda: Ilenia Notaroberto

Relatore: Prof. Enrico Baruffini

Correlatore: Dott. Alexandru Ionut Gilea

Tesi svolta presso il laboratorio di biologia molecolare dell'Università di Parma

Titolo tesi: Caratterizzazione di varianti alleliche che causano patologie associate a CYCS e screening di molecole a potenziale azione terapeutica contro patologie associate ad ACO2 in Saccharomyces cerevisiae

Durante il mio lavoro di tirocinio ho avuto la possibilità di partecipare a due progetti differenti, entrambi riguardanti le patologie mitocondriali e svolti sull'organismo modello *S. cerevisiae*:

1. Nel primo progetto ci siamo occupati della validazione di mutazioni identificate in pazienti con caratteristiche cliniche compatibili con patologie associate a mutazioni in alcuni geni mitocondriali. In particolare, la validazione ha riguardato mutazioni identificate nel gene umano *CYCS*, codificante il citocromo c, il cui ortologo nel lievito è *CYC1*. Dunque, sono stati costruiti modelli di lievito con le mutazioni equivalenti. Una volta ottenuti i mutanti, ci siamo concentrati sull'analisi fenotipica eseguendo *spot assay*, analisi dell'attività respiratoria ed estrazione di proteine seguita da *Western blot* utilizzando un anticorpo primario che riconosce il citocromo c.
2. Il secondo progetto aveva l'obbiettivo di identificare e caratterizzare molecole a potenziale azione terapeutica contro patologie dovute a mutazioni nel gene umano *ACO2*, codificante per l'aconitasi mitocondriale, e il cui ortologo di lievito è *ACO1*. Partendo da due librerie di molecole, per un totale di circa 2000 molecole, molte delle quali approvate dalla FDA per altre patologie, e utilizzando un mutante aco1 termosensibile per la capacità di crescere mediante un metabolismo di tipo ossidativo, è stato allestito uno screening che ha permesso di identificare nove molecole per la capacità di ripristinare la crescita ossidativa del mutante. Successivamente, sono state eseguite analisi di crescita, analisi dell'attività respiratoria, quantificazione della proteina Aco2 e dei livelli di mtDNA in presenza di queste molecole, per valutare possibili meccanismi di *rescue*.