

Motivi di riconoscimento e/o interazione con fosfoaminoacidi.

F.Ferrè, A.Via e M.Helmer Citterich

Centro di Bioinformatica Molecolare - Dip. Biologia - Università di Roma "Tor Vergata"

Le protein chinasi (PK) sono una classe di enzimi coinvolti nella trasduzione del segnale in grado di fosforilare residui specifici di substrati specifici; per molti di essi sono note sequenze substrato consenso. In funzione del tipo di residuo fosforilabile, le PK si dividono in serina/treonina chinasi e tirosina kinasi; alcune PK, come le MAPKK, mostrano una doppia specificita'. Il nostro scopo e' di confrontare la superficie del sito attivo di un membro di ciascuna sottofamiglia di PK (seguendo la classificazione di SCOP) in modo da mettere in evidenza caratteristiche conservate. L' approccio seguito e' il metodo dei motivi 3D (de Rinaldis et al., JMB 284, 1211-1221, 1998) che permette di utilizzare allineamenti multipli di superfici proteiche per definire motivi tridimensionali associati ad una specifica funzione, che possono essere usati per ricerche in database di strutture proteiche. Questa metodologia consente di definire una 'signature' di superficie che caratterizzi la specificita' di legame delle due famiglie di PK, difficilmente rilevabile per mezzo di allineamenti di sequenza. Cio' permettera' inoltre di fare previsioni sulla base strutturale della specificita' di legame di PK per le quali i substrati non siano stati ancora caratterizzati. Inoltre sara' possibile definire un strategia sperimentale per confermare i nostri risultati, mediante delineazione di mutanti (allo scopo di cambiare la specificita' per il legame del substrato di una data PK).

Lo stesso approccio puo' essere utilizzato per confrontare la superficie delle protein fosfatasi, allo scopo di evidenziare residui conservati fra le serina/treonina fosfatasi e le tirosina fosfatasi, e fra protein fosfatasi e PK. La nostra ipotesi e' che tutte le proteine in grado di legare fosfoaminoacidi possano condividere delle similarita' di superficie; altri domini proteici noti per la loro abilita' nel riconoscere fosfoaminoacidi, come gli SH2 e i WW, saranno oggetto di studio nel corso del progetto. Nelle fasi iniziali del progetto, il confronto di un membro per ogni famiglia di PK ha messo in luce residui conservati sulla superficie; molti di essi sono noti per la loro importanza per quanto riguarda catalisi o riconoscimento del substrato. Alcuni sono comuni a tutte le proteine in esame, mentre altri sono specifici per le serina/treonina chinasi o per le tirosina chinasi. Allo stadio attuale stiamo esaminando le interazioni fra le PK e i loro substrati mediante lo studio delle strutture di enzimi co-cristallizzati con il substrato o con un inibitore.