

## INDIVIDUAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI UNA NUOVA METALLOTIONEINA NELL' ASCIDIA *CIONA INTESTINALIS*

N. FRANCHI, L. BALLARIN, E. PICCINNI

nicola.franchi@unipd.it

Dip. di Biologia, Univ. degli Studi di Padova

Le metallothioneine (MT) sono proteine a basso peso molecolare in grado di legare metalli essenziali e non essenziali grazie alla presenza di cisteine organizzate in cluster conservati.

La funzione principale di queste molecole è legata all'omeostasi dei metalli essenziali ma svolgono anche un ruolo importante nella detossificazione di metalli pesanti, nella protezione da ROS e nella regolazione della risposta immunitaria.

MT sono state individuate in molti taxa animali, così come in vegetali e funghi ma, fino ad ora, non erano state descritte metallothioneine negli urocordati. Questo importante gruppo, sistergroup dei vertebrati, offre l'occasione di studiare l'evoluzione molecolare grazie alla sua posizione filogenetica di cordati invertebrati.

La nostra attenzione è rivolta all'ascidia solitaria *Ciona intestinalis*. In tale organismo abbiamo individuato un trascritto la cui sequenza aminoacidica dedotta presenta le caratteristiche delle MT: il 30% dei residui aminoacidici sono cisteine organizzate in cluster e la regione promotrice presenta i siti di induzione da metalli, ROS e citochine tipici per questa famiglia di proteine.

Mediante RT-PCR è stata dimostrata l'inducibilità di questi trascritti dopo esposizione per 5 giorni a 10  $\mu$ M CdCl<sub>2</sub> in acqua di mare artificiale. Tratti dell'apparato digerente di organismi trattati e non trattati sono stati utilizzati per studiare la localizzazione degli mRNA tramite ibridazione *in situ*.

La metallothioneina di *Ciona intestinalis* risulta più corta (39 aminoacidi) se paragonata a quelle degli altri deuterostomi (circa 60 aminoacidi) e manca dei domini "alfa" e "beta" peculiari delle MT a Cd dei Vertebrati e degli echinodermi. Si è osservato che i campioni raccolti presentavano un' elevata espressione di MT e pertanto sono stati eseguiti esperimenti di detossificazione in acqua di mare artificiale.

L'ibridazione *in situ* ha evidenziato come la produzione di queste molecole sia a carico degli emociti, tra cui immunociti, suggerendo la possibilità che, anche in *Ciona intestinalis*, possano avere un ruolo chiave nella risposta immunitaria.