

I CILIATI COME ORGANISMI MODELLO PER STUDIARE  
LE DIVERSE FUNZIONI DEI MICROTUBULI  
MEDIANTE LA GENOMICA FUNZIONALE

S. PUCCIARELLI, P. BALLARINI, S. BARCHETTA, D. SPARVOLI, M. MONTANI,  
C. MICELI

sandra.pucciarelli@unicam.it

Dip. di Biologia Molecolare, Cellulare e Animale. Univ. di Camerino, 62032, Camerino (MC), Italia

Gli eterodimeri di tubulina formano microtubuli apparentemente identici in struttura, ma che differiscono in organizzazione, funzioni e proprietà dinamiche. Negli anni sono state accumulate evidenze che isotipi diversi di tubulina in genere co-assemblano nei microtubuli, ma la presenza di differenze nella struttura primaria contribuiscono alle diversità funzionali. I ciliati, che assemblano 17 sistemi microtubulari funzionalmente diversi in un'unica cellula, costituiscono un modello ideale per studiare la complessità dei microtubuli. Nel ciliato antartico *Euplotes focardii*, la beta-tubulina è rappresentata da 4 geni codificanti 4 diversi isotipi. Tra questi, il beta-T3 è localizzato esclusivamente alla base delle cilia e nei corpi basali e questa caratteristica sembra derivare da proprietà intrinseche della sequenza di beta-T3. Infatti, la proteina di fusione GFP-beta-T3 espressa nella linea cellulare murina NIH/3T3 interviene soltanto nella costituzione dei microtubuli del centrosoma, cilio primario, fuso mitotico e corpo intermedio, mentre gli altri isotipi di *E. focardii*, espressi nella stessa linea cellulare, co-assemblano nei microtubuli citoplasmatici. Trasfettando un costrutto chimerico in NIH/3T3, abbiamo dimostrato che il dominio amminotermine è responsabile delle peculiari proprietà di localizzazione di beta-T3. Mediante mutagenesi sito-diretta, abbiamo mostrato che Cys al posto di Ser239 modifica le proprietà funzionali di beta-T3. Abbiamo anche dimostrato che isotipi di tubulina di *Tetrahymena thermophila*, noti solo grazie al sequenziamento del genoma, hanno localizzazioni cellulari e funzioni particolari. L'isotipo beta-like-T4, espresso come proteina di fusione GFP-beta-like-T4, che presenta una localizzazione peculiare di residui Cys, si localizza specificamente nei microtubuli coinvolti nella divisione macronucleare e micronucleare. Questi risultati indicano che diversi isotipi di tubulina sono responsabili delle diverse funzioni dei microtubuli e suggeriscono che i residui di Cys nella struttura primaria possono giocare un ruolo fondamentale.