

STUDIO DELL'ATTIVITÀ ANTI BIOFILM DEI PEPTIDI
ANTIMICROBICI ESTRATTI DAI CELOMOCITI DI
PARACENTROTUS LIVIDUS (ECHINODERMATA)

V. ARIZZA¹, F.T. GIARAMITA¹, D. PARRINELLO¹, D. SCHILLACI², M. VAZZANA¹,
N. PARRINELLO¹

arizza@unipa.it.

¹Dip. di Biologia Animale, Univ. di Palermo, Via Archirafi 18, 90123 Palermo; ²Dip. di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Univ. di Palermo, Via Archirafi 32, 90123 Palermo

Negli invertebrati marini il sistema di difesa contro i microbi è basato su meccanismi immunitari di tipo cellulare e umorale. Tra questi ultimi sono compresi i peptidi antimicrobici (AMP). Gli AMP sono di norma peptidi di piccole dimensioni con un numero di amminoacidi che va da 10 a 50, con carica positiva o anfipatica. Quelli che derivano da invertebrati marini, sono specifici contro le cellule procariotiche e possiedono un ampio spettro antimicrobico che comprende i patogeni umani.

In questo lavoro, dimostriamo che la frazione peptidica con massa inferiore o uguale a 5kDa estratta dal supernatante del lisato dei celomociti del riccio di mare *Paracentrotus lividus* (5-CC) possiede un ampio spettro di attività antimicrobica contro tutti i ceppi batterici patogeni umani saggiati *in vitro*, come *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, ATCC 25923, ATCC 43866, *Staphylococcus epidermidis* DSM3269, 1457, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231 e *Candida tropicalis* ATCC 13813. La concentrazione minima inibente (MIC) del 5-CC varia da 253,7 a 15,8 mg ml⁻¹. Inoltre, come dimostrato da osservazioni al microscopio confocale, la 5-CC è anche capace inibire la formazione dei biofilm di stafilococco. Per caratterizzare gli AMP presenti nella frazione peptidica, il 5-CC è stato analizzato con un RP-HPLC/nESI-MSMS. Le analisi hanno individuato tre principali peptidi (Paracentrina I, II e III) con una taglia molecolare rispettivamente di 1251.7, 2088.1, e 2292.2 daltons. L'analisi MSMS ha evidenziato che i peptidi comprendono rispettivamente le sequenze peptidiche 9-19, 12-31 e 24-41 della β - timosina di *P. lividus* (AN AJ439718).

La β -timosina è uno dei peptidi antibatterici presenti nelle piastrine dei vertebrati.

Ulteriori studi sono in corso per valutare, attraverso tecniche di biologia molecolare la sua localizzazione sia a livello tissutale, sia a livello cellulare e la modulazione della sua espressione in presenza di microrganismi.

In conclusione, le paracentrine potrebbero essere candidate come agenti anti-biofilm di patogeni umani e/o come sostanze antifouling.