

## NUOVI DATI SULL'ATTIVAZIONE DELLA PROFENOLOSSIDASI DI *CIONA INTESTINALIS* NEL PROCESSO INFIAMMATORIO

M. CAMMARATA, V. MANGANO, A. VIZZINI, M. PERGOLIZZI, V. ARIZZA,  
D. PARRINELLO, M. VAZZANA, N. PARRINELLO

camat@unipa.it

Dip. di Biologia Animale, Univ. degli studi di Palermo, Via Archirafi 18, 90123 Palermo

La fenolossidasi è coinvolta nella sintesi della melanina nella maggior parte degli organismi ed in molti invertebrati partecipa alle risposte immunitarie. Il contatto con agenti estranei può determinare l'attivazione del sistema della profenolossidasi (proPO) tramite una serin-proteasi che produce la forma attiva dell'enzima (PO). In *Ciona intestinalis* la PO è una o-difenolossidasi, presente nei lisati di emociti. Nella tunica di questa ascidia l'inoculo di LPS induce una risposta infiammatoria che si manifesta con una repentina infiltrazione di numerosi emociti, la degranulazione ed il rilascio di materiali che possono contribuire alla formazione di una capsula. Nel presente lavoro è stato studiato il sistema proPO e di alcune molecole ad esso correlate, con particolare attenzione agli aspetti biochimici, cellulari e molecolari dell'intero sistema sia nella tunica sia negli emociti circolanti. La morfologia degli emociti circolanti è stata studiata attraverso osservazione al microscopio con la doppia colorazione di etidio bromuro/arancio di acridina associata con la colorazione per la PO. L'immunocitochimica ha rivelato l'attività PO in granulociti uniloculari rifrangenti e cellule a morula. Le cellule della tunica coinvolte nella risposta fenolossidasi sono state identificate sia mediante osservazioni microscopiche degli espianti di tunica saggiati per la reazione enzimatica, sia mediante esperimenti di immunostochimica. Gli emociti contenenti PO coinvolti nella risposta infiammatoria sono stati identificati nell'emolinfa, nel tessuto connettivo e nelle porzioni di cestello branchiale al di sotto della tunica. L'immunoblotting con anti-CinPO2 e l'analisi SDS-PAGE da frazioni separate su colonna cromatografica ad alta pressione dimostrano che l'attività PO è riconducibile a componenti di diverso peso molecolare modulate dall'inoculo con LPS. Infine gli mRNA dei geni per la PO1 e PO2 della perossinectina e della superossido dismutasi Cu-Zn dipendente, sono stati identificati in silico e amplificati per PCR e sequenziati da cDNA di emociti.