



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL' AMBIENTE**

***PERCHÈ I G-QUADRUPLEX SONO EFFICACI  
ANTIAGGREGANTI DI PROTEINE?***

Tesi di laurea di  
Andrea Travaglini  
Matricola 1100977

Docente Referente  
Chiar.mo Prof. Paolo Mariani

Sessione invernale 2022/2023

## RIASSUNTO BREVE

**NIH** National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information

Log in

**PubMed**<sup>®</sup>

Search

Advanced

User Guide

Save

Email

Send to

Display options ⚙

> RNA Biol. 2023 Jan;20(1):495-509. doi: 10.1080/15476286.2023.2228572.

### Why are G-quadruplexes good at preventing protein aggregation?

Theodore J Litberg<sup>1</sup>, Rajesh Kumar Reddy Sannapureddi<sup>2</sup>, Zijue Huang<sup>1</sup>, Ahyun Son<sup>1</sup>, Bharathwaj Sathyamoorthy<sup>2</sup>, Scott Horowitz<sup>1</sup>

Affiliations + expand

PMID: 37493593 PMCID: PMC10373610 DOI: 10.1080/15476286.2023.2228572

Free PMC article

FULL TEXT LINKS

 View full text

ACTIONS

“ Cite

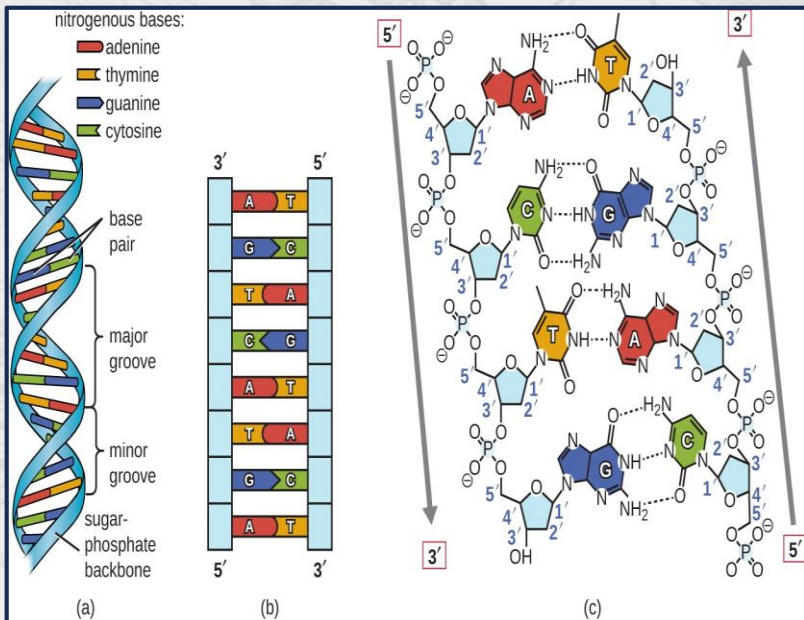
 Collections

I g-quadruplex sono particolari strutture di DNA e RNA che si formano in presenza di ripetizioni di guanine lungo il filamento. Una delle proprietà osservate dei g-quadruplex è la capacità di ridurre l'aggregazione delle proteine unfoldate in soluzione agendo da co-chaperoni.

Modificando le due sequenze formanti g-quadruplex prese in esame, LTR III e PARP-1, accompagnate da studi di NMR, CD e saggi di aggregazione e fluorescenza è stato possibile investigare ulteriormente l'attività antiaggregante dei g-quadruplex e da quali fattori è influenzata. Tre fattori sono emersi fondamentali nella determinazione dell'attività chaperonica dei quadruplessi: la loro topologia, l'accessibilità e dinamica del core della struttura e lo stato di oligomerizzazione.

Conoscere la fisica che determina la capacità dei g-quadruplex di modulare l'aggregazione di proteine può aiutare a delucidare i loro possibili ruoli nelle malattie neurodegenerative.

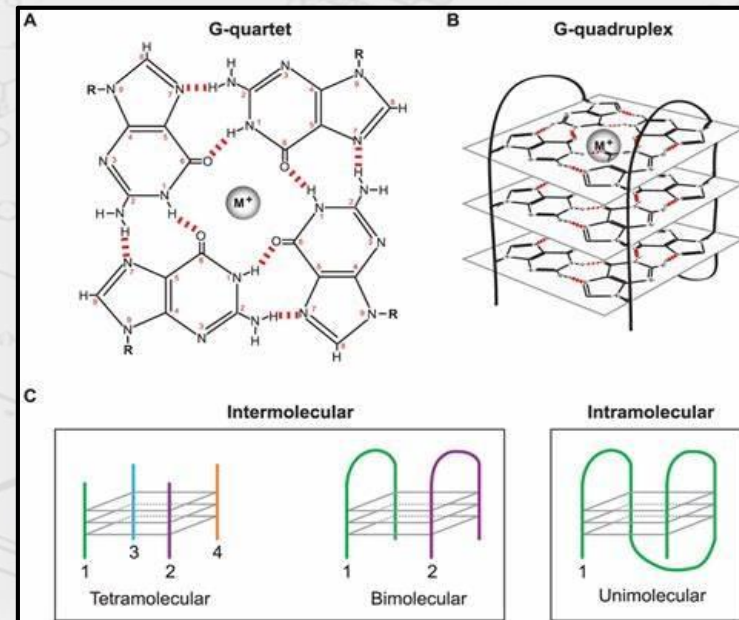
# I G-QUADRUPLEX



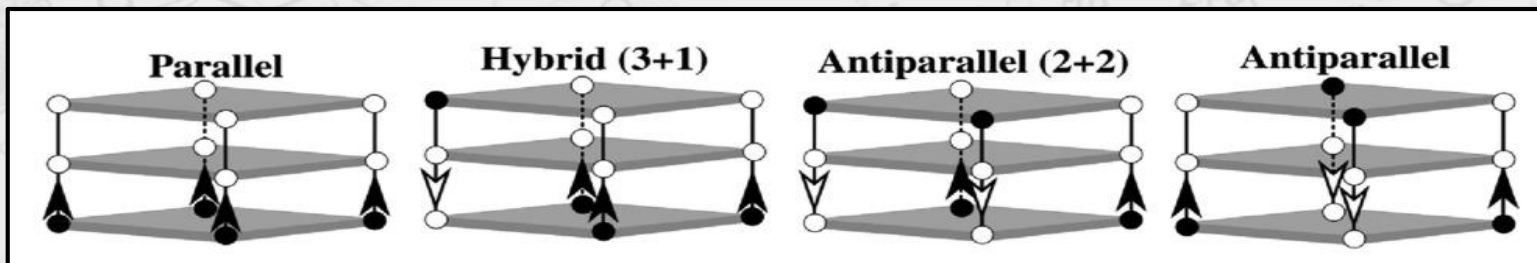
STRUTTURA DOPPIA ELICA DEL DNA

Name	Conformation	General Seq. Requirements	Sequence
Cruciform		Inverted Repeats	$\overrightarrow{\text{TCGGTACCGA}}$ $\overleftarrow{\text{AGCCATGGCT}}$
Triplex		$(R+Y)_n$ Mirror Repeats	$\overrightarrow{\text{AAGAGGGGAGAA}}$ $\overleftarrow{\text{TTCTCCCTCTT}}$
Slipped (Hairpin) Structure		Direct Repeats	$\overrightarrow{\text{TCGGTTCGGT}}$ $\overrightarrow{\text{AGCCAAGCCA}}$
Tetraplex		Oligo (G) <sub>n</sub> Tracts	$\text{AG}_3(\text{T}_2\text{AG}_3)_3$ single strand
Left-handed Z-DNA		$(YR+YR)_n$	$\overrightarrow{\text{CGCGTGC GTG}}$ $\overleftarrow{\text{GCGCACG CACAC}}$

STRUTTURE NON B-DNA

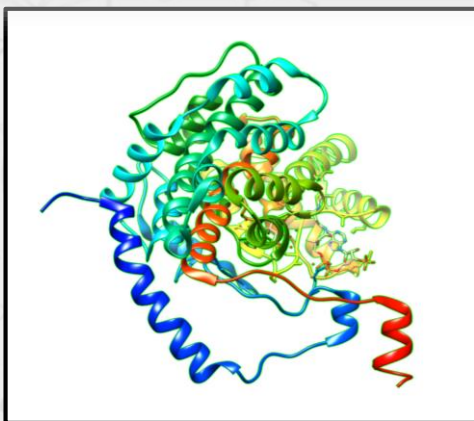
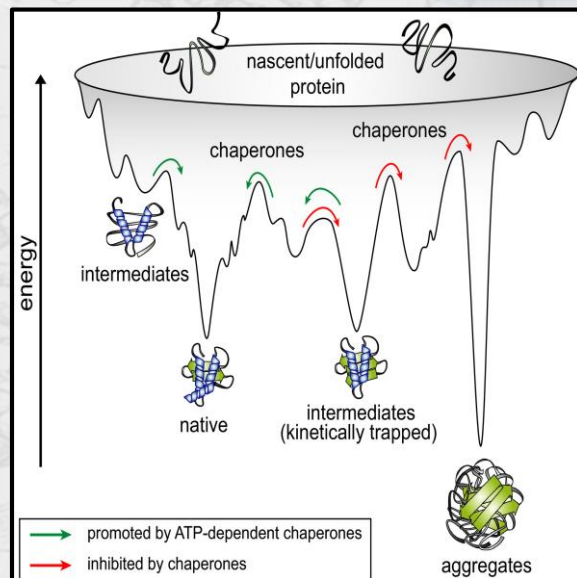


STRUTTURA G4

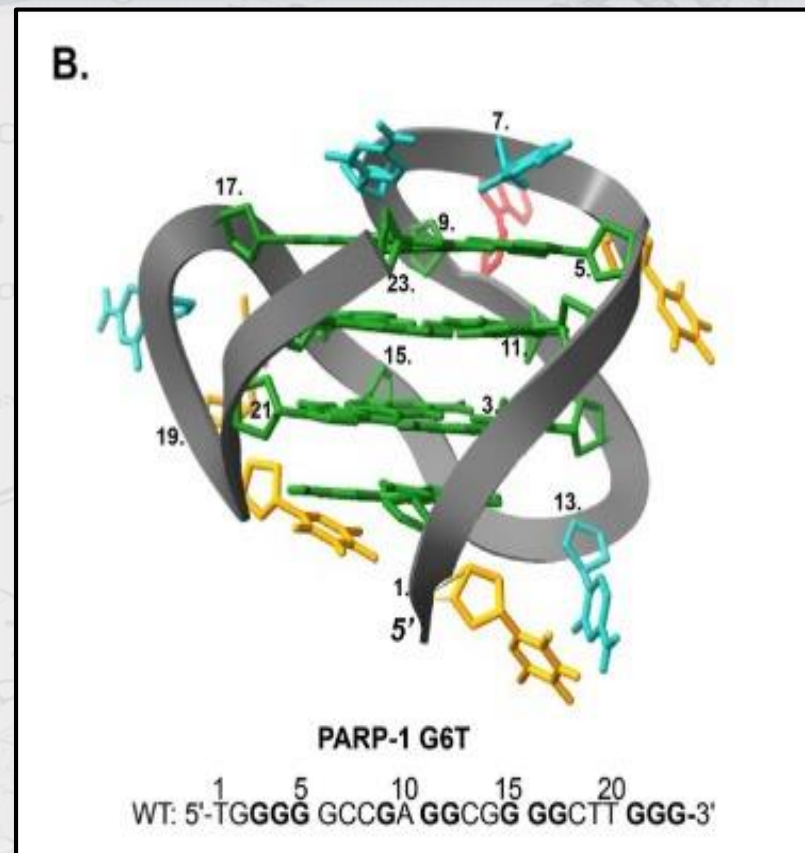


TOPOLOGIA G4

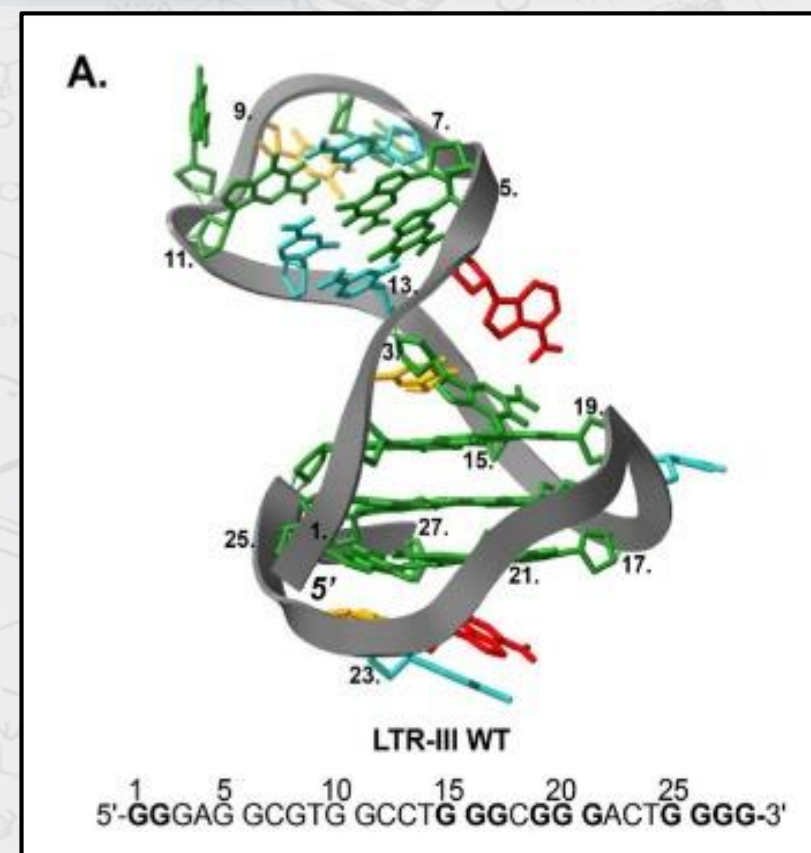
# APPLICAZIONI DEI G-QUADRUPLIX: ATTIVITÀ CHAPERONICA



CITRATO SINTASI DI CUORE SUINO

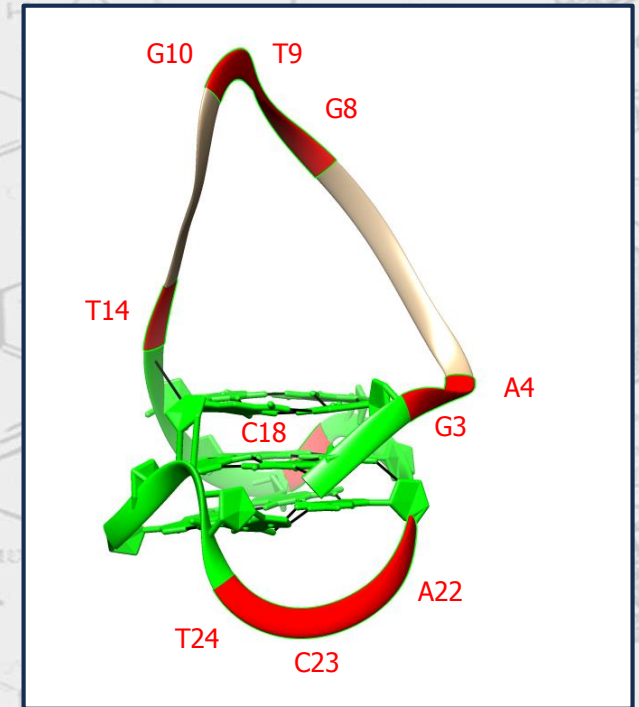
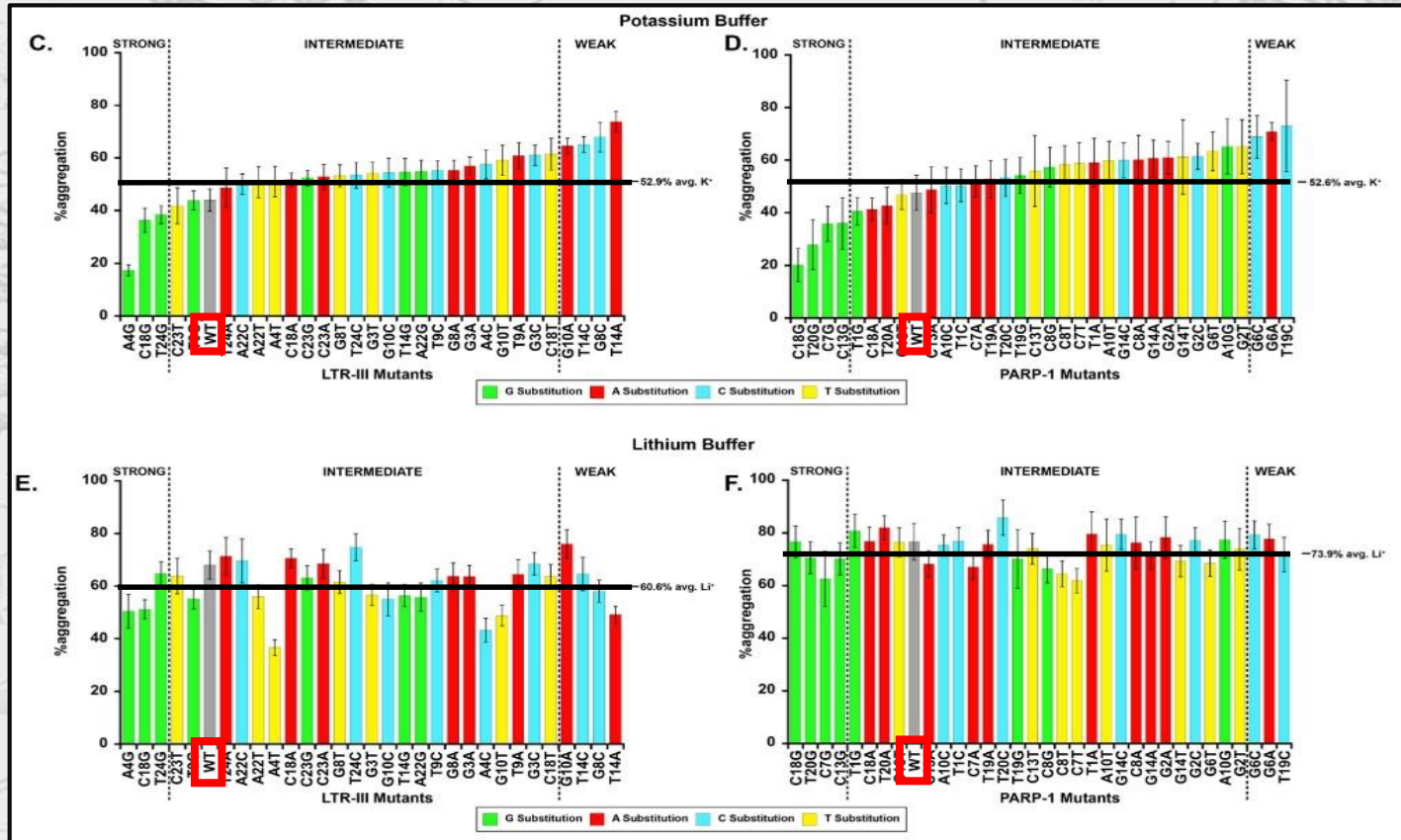


SEQUENZA NUCLEOTIDICA  
E STRUTTURA DI PARP-1



SEQUENZA NUCLEOTIDICA E  
STRUTTURA DI LTR III WT

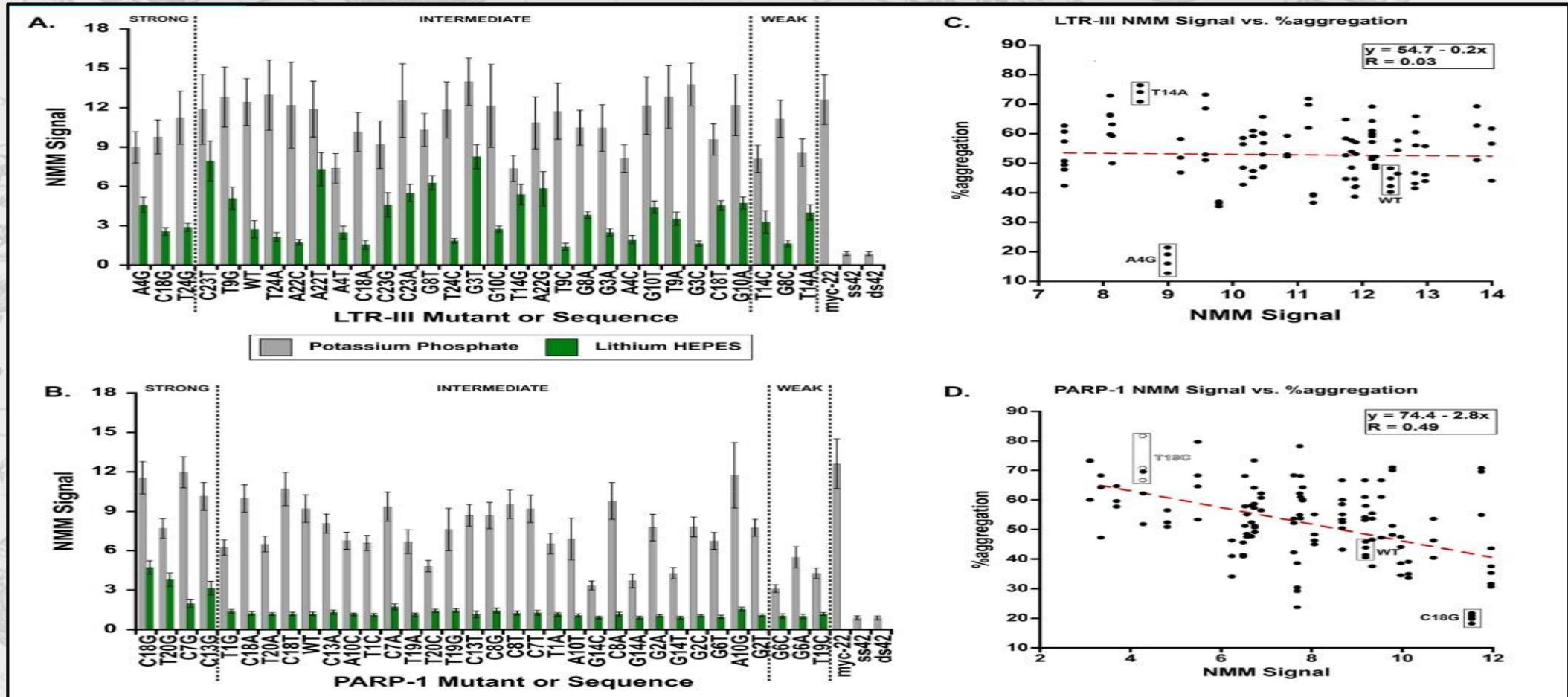
# EFFETTO DELLE MUTAZIONI PUNTIFORMI SULL' ATTIVITÀ ANTIAGGREGANTE



LOCALIZZAZIONE DELLE MUTAZIONI SU LTR III WT

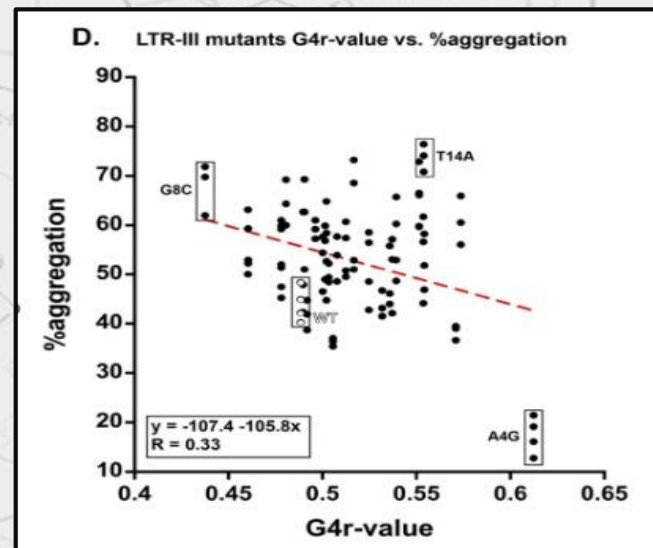
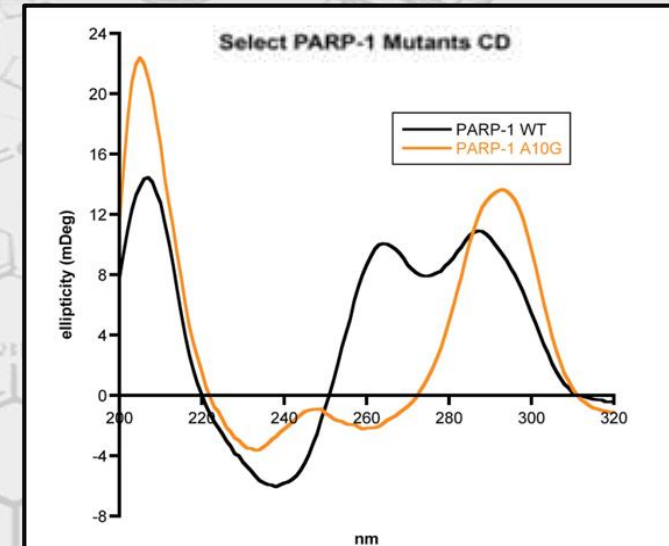
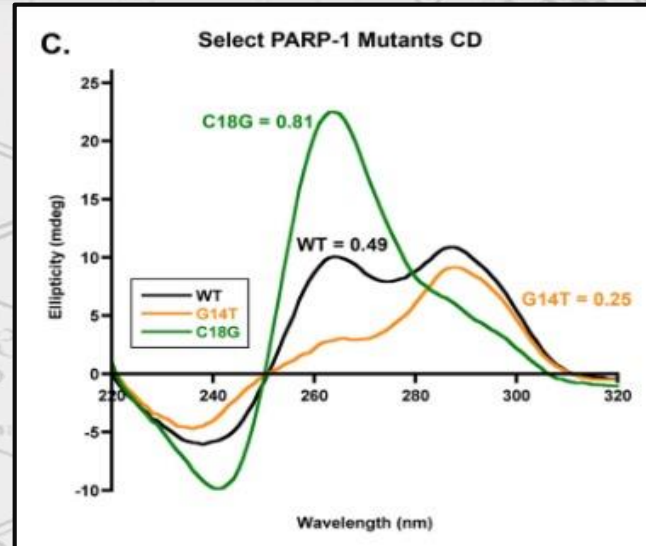
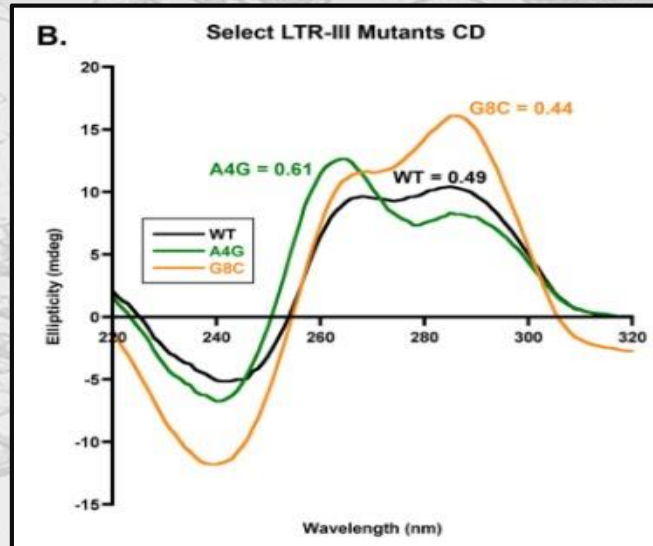
RAPPRESENTAZIONE GRAFICA DEI RISULTATI DEL SAGGIO DI AGGREGAZIONE PER I MUTANTI DI LTR III E PARP-1 IN BUFFER STABILIZZANTE DI K<sup>+</sup> E IN BUFFER DESTABILIZZANTE DI Li<sup>+</sup>

# COME INFLUISCE LA STABILITÀ DEL CORE DEL G4 SULL' ATTIVITÀ ANTIAGGREGANTE

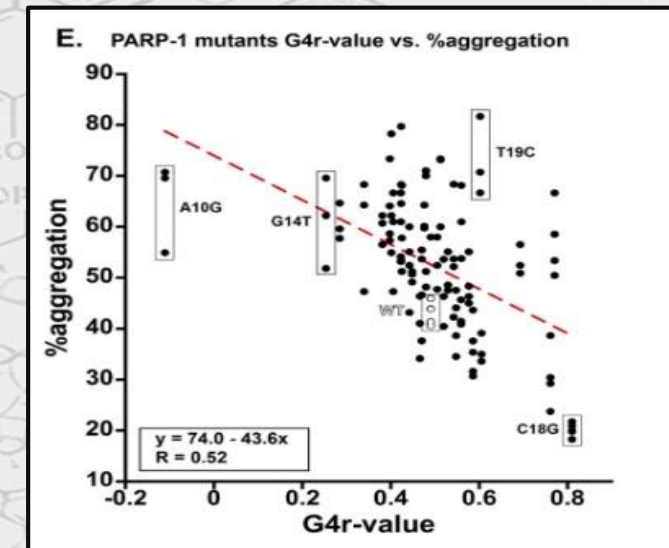


**A/B** ESPERIMENTO DI FLUORESCENZA CON NMM (N-METILMESOPORFIRINA IX) IN BUFFER DI POTASSIO, COLONNE GRIGIE, E IN BUFFER DI LITIO, COLONNE VERDI. **C/D** RAPPRESENTAZIONE GRAFICA DELLA RELAZIONE TRA IL SEGNALE NMM DELLE DUE SEQUENZE E LA % DI AGGREGAZIONE DI CS

# COME INFLUISCE LA STABILITÀ DEL CORE DEL G4 SULL' ATTIVITÀ ANTIAGGREGANTE: ANALISI CON DICROISMO CIRCOLARE



$$\text{G4r-value} = \frac{CD_{265}}{|CD_{265}| + CD_{290}}$$



# COME I LOOP INFLUISCONO SULL' ATTIVITÀ ANTIAGGREGANTE: ESPERIMENTI DI HNMR

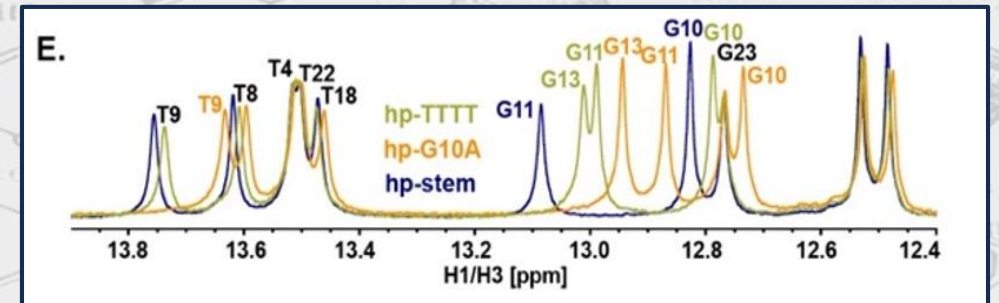
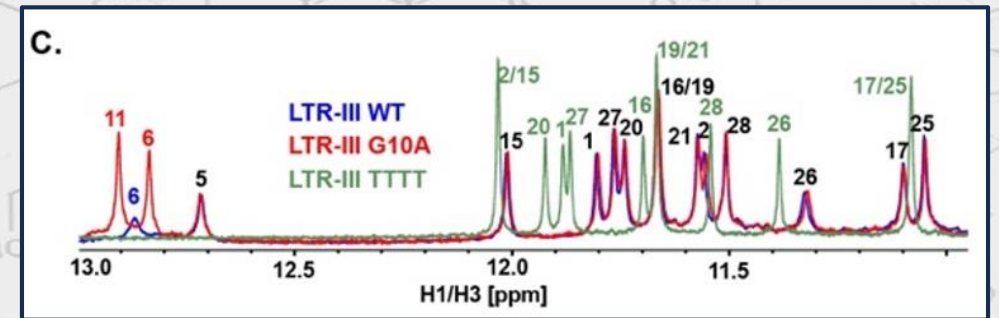
SEQUENZE DEI MUTANTI NELL' HAIRPIN DI LTR III E DI HP SENZA CORE DEL G4

hp-TTTT  
TT  
hp-WT  
TT  
hp-G10A  
T

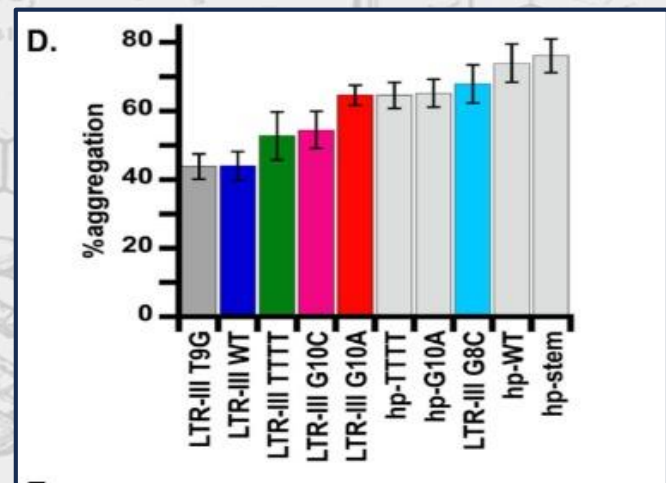
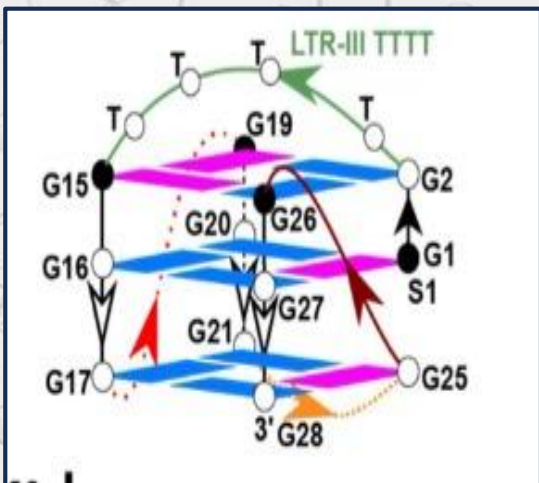
G A G  
13G-C12  
C-G  
15C-G10  
A-T  
A-T  
18T-A7  
C-G  
G-C  
21A-T4  
T-A  
G-C  
24C-G1  
hp-stem

**A.** G-quadruplex DNA

		1	5	10	15	20	25
LTR-III	:	5'	GGGAG	GCGTG	GCCTG	GCGCG	GACTG GGG3'
LTR-III G8C	:	5'	GGGAG	GCCTG	GCCTG	GCGCG	GACTG GGG3'
LTR-III T9G	:	5'	GGGAG	GCGGG	GCCTG	GCGCG	GACTG GGG3'
LTR-III G10A	:	5'	GGGAG	GCGTA	GCCTG	GCGCG	GACTG GGG3'
LTR-III G10C	:	5'	GGGAG	GCGTC	GCCTG	GCGCG	GACTG GGG3'
LTR-III TTTT	:	5'	GGTTT	-----	TG	GCGCG	GACTG GGG3'

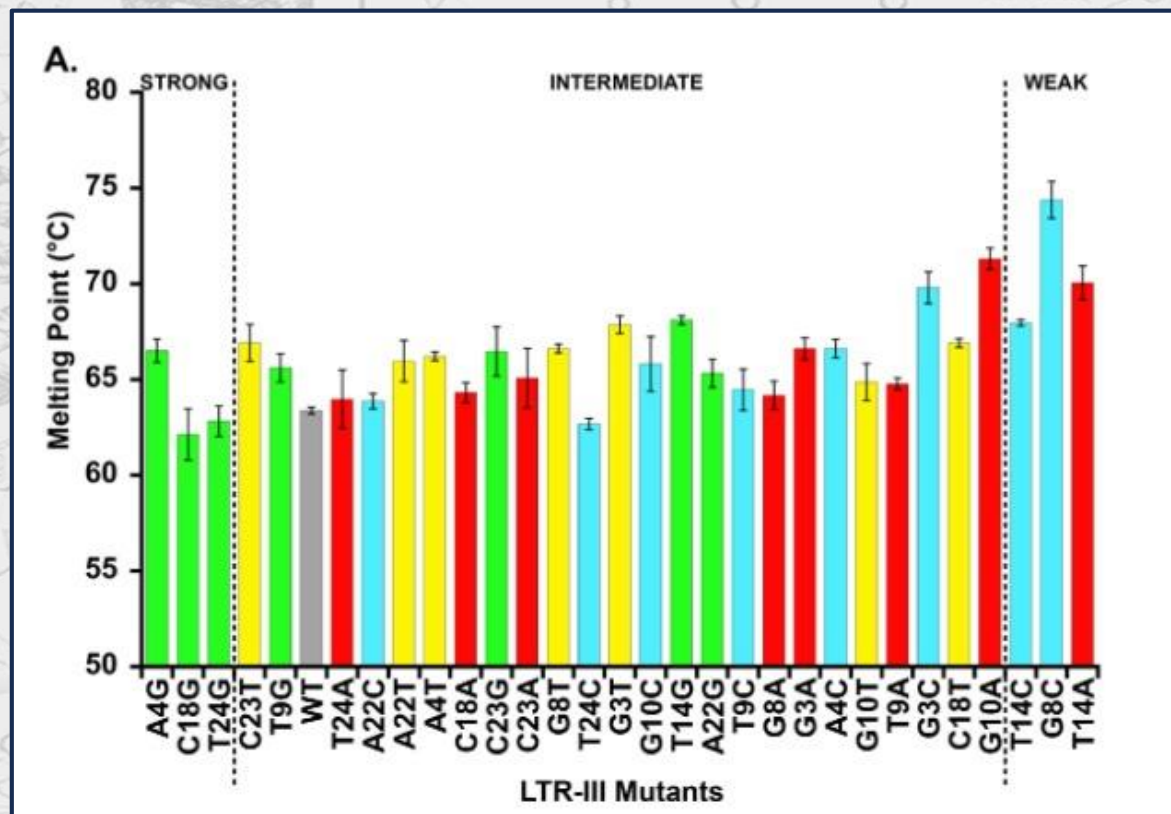


SPETTRO HNMR DI LTR III WT, G10A E TTTT E HP SENZA CORE DEL G4

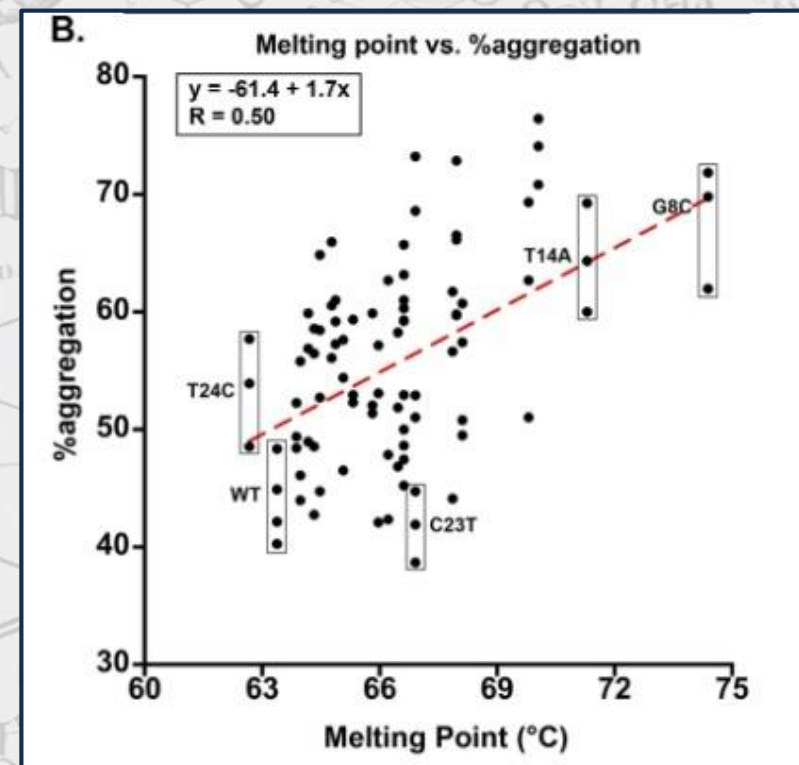




# COME LA DINAMICA INFLUISCE SULL' ATTIVITÀ ANTIAGGREGANTE

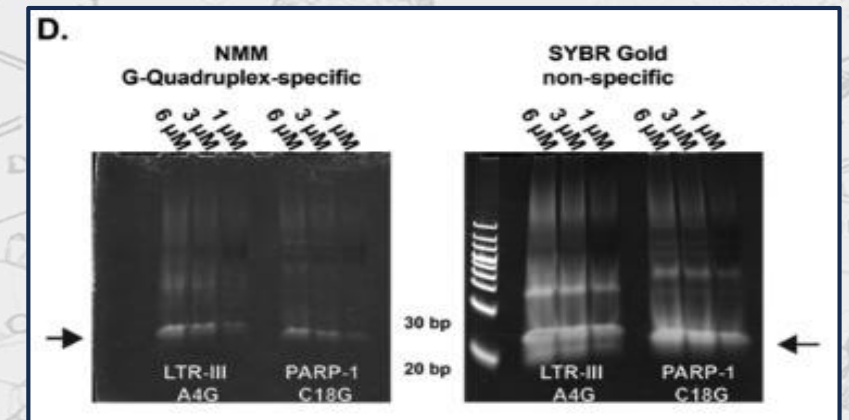
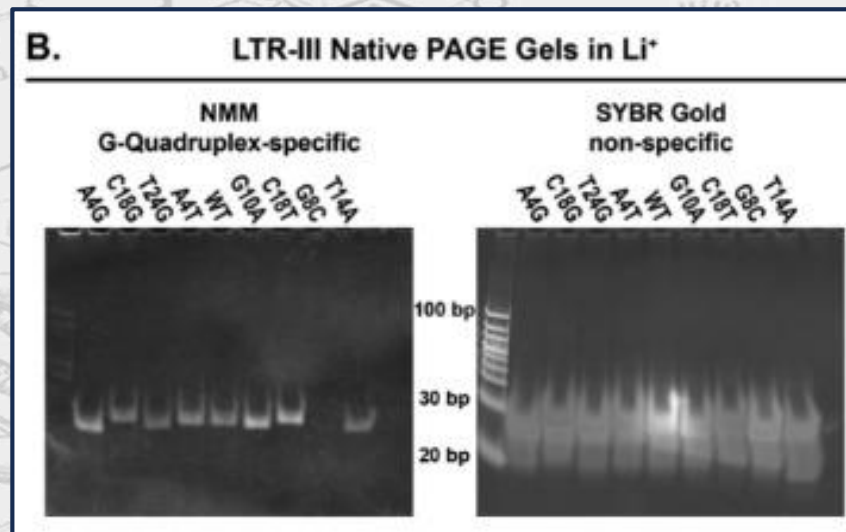
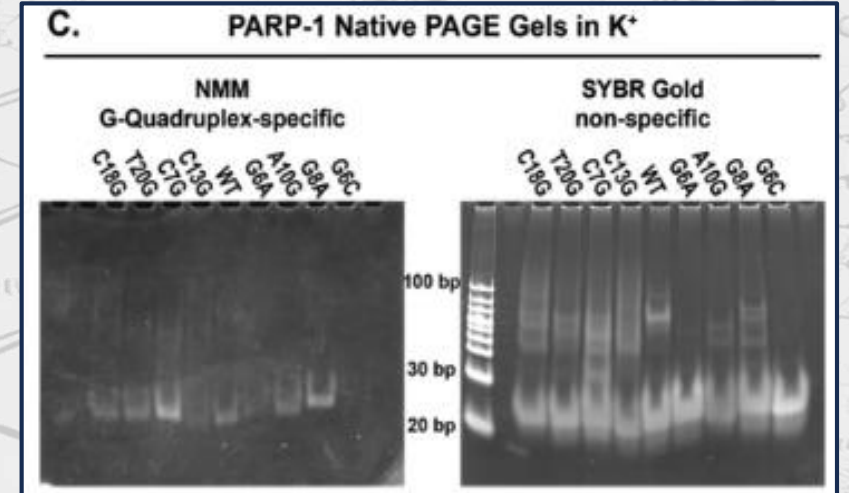
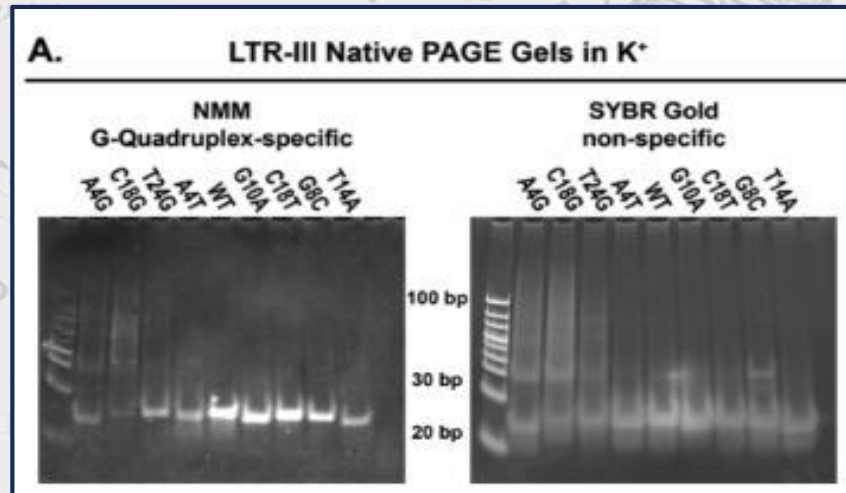
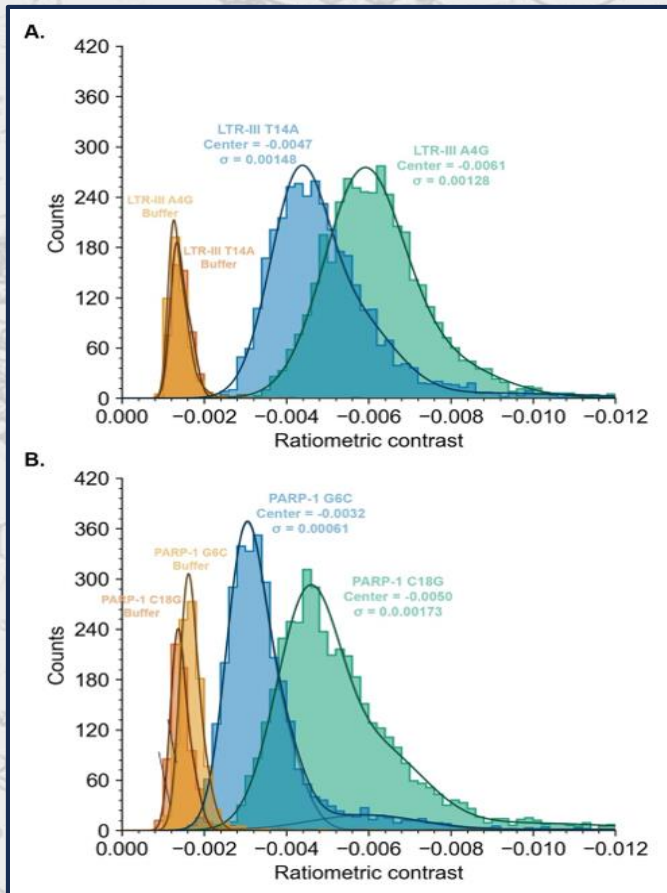


RAPPRESENTAZIONE DELLA TEMPERATURA DI MELTING DI LTR III E MUTANTI



RAPPRESENTAZIONE GRAFICA DELLA TM IN RELAZIONE ALLA % DI AGGREGAZIONE DI CS

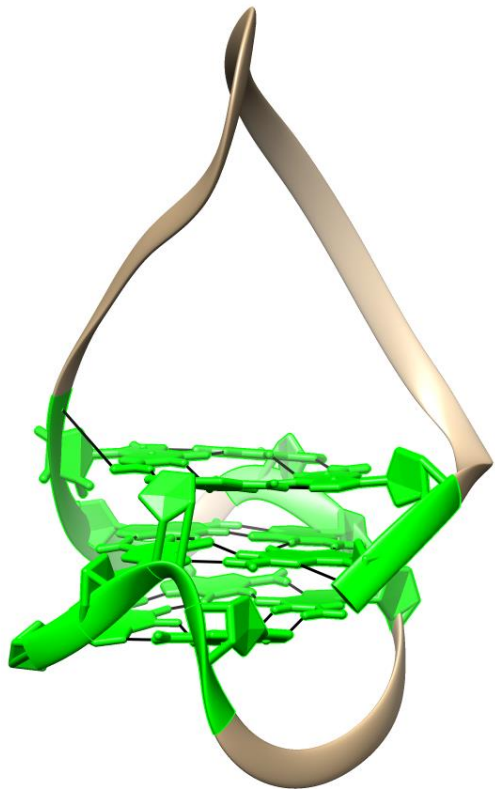
# ALTRI FATTORI CHE POSSONO INFLUIRE SULL' ATTIVITÀ ANTIAGGREGANTE



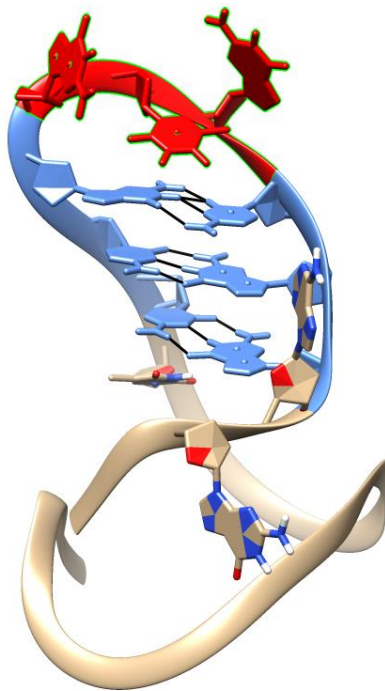
RAPPRESENTAZIONE GRAFICA DEL CONTRASTO RATIOMETRICO DI MUTANTI LTR III E MUTANTI PARP-1

CONFRONTO PATTERN DI FLUORESCENZA A DIVERSE CONCENTRAZIONI DI LTR III E PARP-1

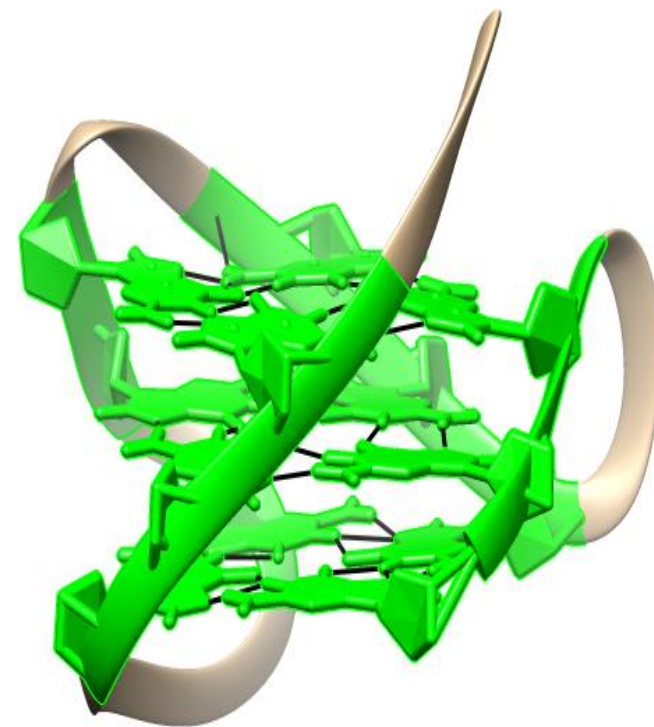
# IMMAGINI DI SUPPORTO



LTR III CON CORE DEL G4 EVIDENZIATO IN VERDE E IN NERO I LEGAMI H



LTR III CON STEM EVIDENZIATO IN BLU E HP IN ROSSO, IN NERO I LEGAMI H



PARP-1 CON CORE DEL G4 EVIDENZIATO IN VERDE E IN GRIGIO LE REGIONI DI LOOP NELLE QUALI SONO STATE EFFETTUATE LE MUTAZIONI PUNTIIFORMI, IN NERO I LEGAMI H

# BIBLIOGRAFIA

- ❖ **Theodore J. Litberga, Rajesh Kumar Reddy Sannapureddib, Zijue Huanga, Ahyun Sona, Bharathwaj Sathyamoorthyb, and Scott Horowitz,** *Why are G-quadruplexes good at preventing protein aggregation?*, RNA BIOLOGY 2023, VOL. 20, NO. 1, doi: 10.1080/15476286.2023.2228572
- ❖ **Perrone R, Nadai M, Frasson I, et al.** *A dynamic G-quadruplex region regulates the HIV-1 long terminal repeat promoter.* J Med Chem. 2013;56:6521–6530. doi: 10.1021/jm400914r
- ❖ **Butovskaya E, Heddi B, Bakalar B, et al.** *Major G-Quadruplex form of HIV-1 LTR reveals a (3 + 1) folding topology containing a stem-loop.* J Am Chem Soc. 2018;140:13654–13662. doi: 10.1021/jacs.8b05332