

Applicazioni biologiche della rilassometria

Nel numero di ottobre di questa rubrica abbiamo introdotto i principi generali della rilassometria, in particolare della tecnica nota come rilassometria a ciclo di campo. Sebbene l'ambito di applicazione della tecnica sia estremamente vasto, in quell'occasione ci siamo limitati ad elencare le applicazioni più comuni. In questo numero, invece, cercheremo di descrivere le informazioni biologiche e biochimiche che si possono ottenere con questa tecnica, con particolare riguardo allo studio di proteine in soluzione ed all'analisi di tessuti.

Il profilo rilassometrico, noto anche come profilo di dispersione o NMRD (nuclear magnetic relaxation dispersion), è il grafico che riporta la velocità di rilassamento del sistema (solitamente rappresentato dai nuclei di idrogeno dell'acqua) in funzione della frequenza di Larmor del sistema stesso. Ricordando che sono efficienti a causare rilassamento i moti del sistema che avvengono alla frequenza di Larmor, il profilo NMRD è una misura della distribuzione di frequenze dei moti che avvengono nel sistema. A titolo di esempio, la Figura 1 mostra il profilo di dispersione di una proteina diamagnetica. Essa è in grado di causare una modulazione dell'interazione dipolare dei protoni dell'acqua attraverso la propria reorientazione nel campo magnetico applicato. Ciò significa che il rilassamento sarà determinato dalla velocità con cui la proteina si reorienta, che a sua volta dipende da dimensioni e forma. In questo contesto si possono studiare processi di dimerizzazione, di unfolding, di variazione conformazionale. Se la frequenza di dispersione (il flesso della curva) ci informa sulle proprietà dinamiche della proteina, i tratti non dispersivi sono indicativi dell'idratazione della proteina. In particolare, l'ampiezza della dispersione, intesa come delta tra i due plateau, è correlata al numero di molecole d'acqua sepolte all'interno della proteina [1].

Quando nella proteina è presente un centro paramagnetico, questo modifica le proprietà di rilassamento in due modi: un forte aumento della velocità di rilassamento, dovuto al grande momento magnetico dell'elettrone, e una variazione del processo dinamico che causa il rilassamento, che ora non tiene solo conto della dinamica della proteina, ma anche del rilassamento magnetico dell'elettrone stesso, che può essere più rapido del rilassamento della proteina. In Figura 2 è rappresentato il profilo di dispersione dell'addotto tra la sieralbumina umana e l'eme ferrico, a mostrare il grande aumento della velocità di rilassamento [2]. Per ragioni di spazio non si può analizzare l'ampia casistica di profili NMRD di proteine paramagnetiche, che differiscono per proprietà elettroniche e cinetiche del metallo considerato, oltre che per proprietà di-

namiche e strutturali della proteina stessa.

Un altro settore interessante di applicazione biologica della rilassometria è l'analisi di tessuti di origine biotica o autoptica. È noto che la velocità di rilassamento dell'acqua nei tessuti è sensibilmente differente nei diversi tessuti, e può ulteriormente variare in situazioni patologiche [3]. Questo fenomeno è alla base del contrasto fisiologico che si osserva nelle immagini tomografiche di risonanza magnetica. L'acqua nei tessuti è in grado di interagire con sistemi in soluzione (proteine secrete, proteine citosoliche) e sistemi a vario grado di immobilizzazione (proteine di membrana, citoscheletro, reticolo endoplasmatico) in modo ordinato. In situazioni patologiche questo ordine viene compromesso (cytoplasmic chaos, secondo la definizione di Seymour H. Koenig che la applicò allo studio dei tumori del sistema nervoso centrale), con una conseguente variazione della distribuzione delle frequenze nel profilo NMRD. La Figura 3 mostra i profili di dispersione di un insieme di reperti autoptici di mesencefalo umano. Come si può notare la forma del profilo è nettamente diversa da quanto visto prima. Esso può essere descritto come un insieme di dispersioni lorentziane, ognuna con una frequenza caratteristica, che complessivamente definiscono una forma pseudo-esponenziale. La regione a basse frequenze tiene conto dei moti lenti, ovvero dei sistemi immobilizzati. Nel caso specifico, il confronto di questi dati con il corrispondente insieme di campioni prelevati da pazienti affetti da malattia di Parkinson mostra un aumento del contributo a basso campo consistente con l'evidente formazione di corpi di inclusione intracitoplasmatici, ovvero precipitati proteici che rallentano il moto dell'acqua e ne alterano le proprietà di rilassamento [4].

Mauro Fasano

Dipartimento di Biologia strutturale e funzionale
Università dell'Insubria, Varese

Bibliografia

- [1] B. Halle *et al.*, Multinuclear relaxation dispersion studies of protein hydration, in *Biological Magnetic Resonance*, vol. 17: Structure computation and dynamics in protein NMR, N.R. Krishna, L.J. Berliner (Eds.), 1999, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 419.
- [2] M. Fasano *et al.*, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2001, **6**, 650.
- [3] S.H. Koenig, R.D. Brown III, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, 1990, **22**, 487.
- [4] L. Lopiano *et al.*, *Neurochem. Int.*, 2000, **37**, 331.

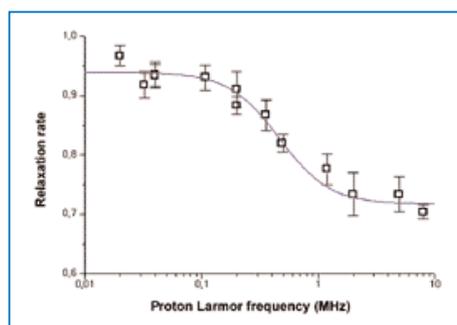


Figura 1 - Profilo di dispersione di proteina diamagnetica, 0,4 mM in tampone fosfato, 4 °C

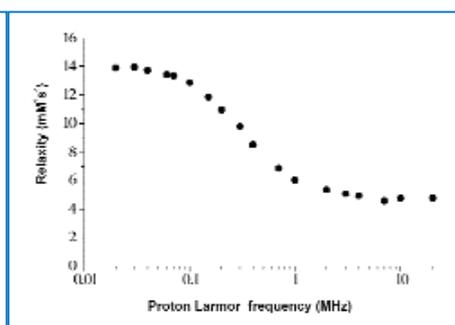


Figura 2 - Profilo NMRD di emalbumina umana in tampone fosfato, 1 mM a 25 °C

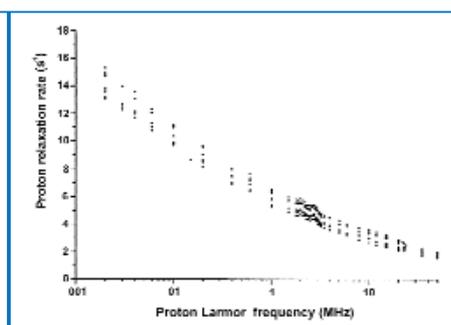


Figura 3 - Profili rilassometrici di 6 campioni di substantia nigra umana da pazienti non affetti da patologie neurodegenerative