

Poster P.10.68

NEUROSERPIN MISFOLDING AND FENIB NEURODEGENERATION: MECHANISM AND INHIBITION PROCESSES

Visentin C.*^[1], Broggin L.^[1], Russo R.^[2], Bonato F.^[3], Passarella D.^[3], Dallavalle S.^[4], Manno M.^[5], Bolognesi M.^[1], Ricagno S.^[1]

^[1]Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano ~ Milano ~ Italy, ^[2]Dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano ~ Milano ~ Italy, ^[3]Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Milano ~ Milano ~ Italy, ^[4]Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, università degli Studi di Milano ~ Milano ~ Italy, ^[5]Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche ~ Palermo ~ Italy

Familial Encephalopathy with Neuroserpin Inclusion Bodies (FENIB) is a rare and genetic disease characterized by progressive neurodegeneration and dementia [1]. The onset of the pathology is accounted to the impact of specific point mutations in neuroserpin (NS) protein folding. Mutated NS polymerises and accumulates as inclusion bodies within endoplasmatic reticulum of neurons [2]. Wild type NS presents two glycosylation sites, N157 and N321, but their role in NS pathological behaviour is not elucidated in vitro [3].

We recombinantly expressed for the first time glycosylated NS using LEXSY expression system. The presence of the glycosylation was confirmed by mass spectroscopy. The native fold of protein was demonstrated by circular dichroism analysis and the activity test supports this data highlighting a higher rate of tPA inhibition if compared to non-glycosylated NS. Moreover, in vitro polymerization test supports the protective role of the post-translational modifications.

We previously reported the capability of embelin (EMB) to interfere with NS polymerisation [4]. Unfortunately this compound is unsuitable for therapeutic purpose because of its poor solubility and high cellular toxicity. We then synthesised and screened several EMB-like compounds to identify the active portion of the molecule. In particular, we tested compounds with modifications on the quinonic ring or the length of the aliphatic tail.

L'encefalopatia con corpi di inclusione di neuroserpina è una rara malattia genetica caratterizzata da neurodegenerazione progressiva e conseguente demenza [1]. L'insorgenza della malattia è associata a mutazioni puntiformi nel gene di neuroserpina (NS) che causano alterazioni nel folding della proteina. Infatti, i mutanti polimerizzano e si accumulano nel reticolo endoplasmatico dei neuroni sotto forma di corpi di inclusione [2]. NS presenta due siti di glicosilazione, N157 e N321, ma il loro ruolo nella patogenesi non è ancora stato chiarito [3].

Riportiamo per la prima volta l'espressione di NS ricombinate e glicosilate, ottenuta utilizzando LEXSY come sistema di espressione. La presenza della glicosilazione è stata confermata attraverso analisi di spettrometria di massa, mentre con analisi di dicromismo circolare abbiamo verificato il corretto folding della proteina. Il test di attività in vitro ha evidenziato una maggior inibizione del tPA da parte di NS glicosilata rispetto alla variante non glicosilata. In presenza della modificazione post-traduzionale inoltre abbiamo osservato un rallentamento della cinetica di polimerizzazione in vitro.

In un precedente lavoro abbiamo riportato la capacità di embelina (EMB) di inibire la polimerizzazione di NS [4], ma la scarsa solubilità e l'elevata citotossicità di questo composto lo rendono poco adatto ad applicazioni terapeutiche. Abbiamo quindi sintetizzato e testato diversi composti derivati da EMB al fine di identificarne la porzione attiva. In particolare abbiamo modificato l'anello chinonico e la lunghezza della coda alifatica.

[1] Davis RL, et al. (1999) Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin. Nature 401(6751):376-379□

[2] Gooptu B & Lomas DA (2009) Conformational pathology of the serpins: themes, variations, and therapeutic strategies. Annual review of biochemistry 78:147-176.

[3] Moriconi C, et al. (2015) Interactions between N-linked glycosylation and polymerisation of neuroserpin within the endoplasmic reticulum. FEBS J.

[4] Saga G, et al. (2016) Embelin binds to human neuroserpin and impairs its polymerisation. Sci Rep 6:18769.□

Encefalopatia familiare con corpi di inclusione di neuroserpina

Coordinator: Martino Bolognesi

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2017

Telethon Project (nr):

GGP17036

Disease Name:

FENIB

Keywords:

Neurodegeneration, Neuroserpin, Embelin