

### ***Progetti proposti per la 3° edizione del Percorso di Eccellenza***

#### ***P1- Sviluppo di un approccio farmaco-genico per l'ottimizzazione delle funzioni cellulari mediante modulazione dinamica dell'interazione tra il reticolo endoplasmatico e mitocondri.***

Il mantenimento di una corretta interazione tra gli organelli intracellulari, come il reticolo endoplasmatico e il mitocondrio, è fondamentale per i processi cellulari cruciali quali la bioenergetica mitocondriale, la sintesi e la degradazione proteica, l'autofagia, la morte/sopravvivenza e l'interazione con altre cellule. In diverse malattie, incluse le malattie neurodegenerative (e.g., di Alzheimer) e tumore, si osserva un'alterata e aumentata interazione fisica tra due organelli che si pensa possa essere la causa delle disfunzioni cellulari. I risultati delle indagini del gruppo proponente suggeriscono che la correzione dell'interazione, mediante l'espressione dei linkers peptidici di una specifica lunghezza, tra reticolo endoplasmatico e mitocondrio, possa ripristinare le funzioni nelle cellule modello di malattia di Alzheimer. Il progetto mira allo sviluppo di un linker peptidico artificiale attivabile con una small molecule disegnata appositamente, con lo scopo di ottimizzare l'interazione tra il reticolo endoplasmatico e mitocondrio, e quindi ripristinare le funzioni cellulari delle cellule malate.

##### **Metodi e approcci impiegati:**

il sistema farmaco-genico sarà sviluppato combinando diversi approcci di drug design e di studio preclinico. Gli approcci di chimica farmaceutica includono il disegno e la sintesi di small molecules. Gli approcci biochimici includono il disegno razionale dei peptidi, l'in silico modeling e mutagenesi delle proteine. Le tecniche di biologia molecolare prevedono la generazione di vettori genetici esprimenti i linkers peptidici e la trasduzione di cellule mediante vettori chimici e virali. Le tecniche di biologia e fisiologia cellulare come saggi biochimici, funzionali e microscopia con l'utilizzo delle sonde fluorescenti d'avanguardia saranno impiegate per monitorare l'effetto del sistema innovativo farmaco-genico sulle funzioni cellulari.

**Docenti e laboratori coinvolti:** *Lim\** (BIO/09), Minassi (CHIM/06), Pirali (CHIM/08), Miggiano (BIO/10).

#### ***P2 - Progettazione e sintesi di agenti chelanti e complessi metallici per applicazioni diagnostiche e terapeutiche.***

Diversi ioni metallici sono impiegati in ambito diagnostico (MRI, PET, SPECT, Optical Imaging), terapeutico (radioterapia alfa e beta) e teranostico, generalmente sotto forma di complessi stabili. In questo progetto lo studio della chimica di coordinazione degli ioni metallici e delle loro interazioni con molecole biologiche è alla base: i) della progettazione, della realizzazione e della caratterizzazione di nuovi agenti chelanti selettivi in grado di formare complessi stabili per ioni metallici di interesse applicativo, ii) della preparazione dei rispettivi complessi metallici e iii) della caratterizzazione dei complessi metallici e delle loro potenzialità applicative.

##### **Metodi e approcci impiegati:**

il progetto prevede attività di tipo chimico-sintetico, consistente nella preparazione di molecole organiche e complessi metallici e di tipo analitico, con l'impiego di tecniche e strumentazioni (NMR, spettrofotometria, potenziometria, ecc.) adeguate a valutare l'identità, la purezza e la stabilità dei composti preparati.

**Docenti e laboratori coinvolti:** *Giovenzana\** (CHIM/03), Miletto (CHIM/02), aziende esterne.

**Nota:** *il progetto prevede una collaborazione costante con gruppi di ricerca e aziende del settore chimico-farmaceutico, con la possibilità quindi di seguire lo sviluppo del progetto nella sequenza dei suoi stadi e di interagire con persone e in contesti diversi da quelli del gruppo di ricerca proponente.*

#### ***P3 - Studio di inibitori duali SOCE e DHODH nel trattamento di malattie autoimmuni***

SOCE è un importante meccanismo di regolazione dei livelli intracellulari di calcio, che vede la partecipazione di due proteine chiave: STIM e Orai. La sua over-attivazione gioca un ruolo cruciale nella patogenesi di diverse malattie autoimmuni come la sclerosi multipla (SM), una malattia neurologica cronico-infiammatoria demielinizzante, attraverso attivazione del pathway della calcineurina-NFAT e conseguente rilascio di

citochine pro-infiammatorie. Accanto alla disregolazione SOCE, alcune alterazioni del metabolismo cellulare caratterizzano lo sviluppo e la progressione della SM. In tale contesto, la diidroorotato deidrogenasi (DHODH), un enzima mitocondriale limitante la velocità nella biosintesi della pirimidina *de novo*, svolge un ruolo cruciale nel metabolismo intracellulare delle cellule T e B attivate. Durante il progetto, partendo da un composto hit identificato ad attività modulatore negativa su SOCE ed inibitoria su DHODH ben bilanciata, si mirerà a sviluppare nuove serie di analoghi allo scopo di identificare dei validi candidati per (i) specificità dual-target nelle linee cellulari; (ii) profili ADME *in vitro* e di farmacocinetica *in vivo*; (iii) efficacia in modello murino di MS (encefalomielite autoimmune sperimentale).

**Metodi e approcci impiegati:**

sintesi (allestimento di reazioni, TLC, purificazioni cromatografiche, caratterizzazione spettroscopica), screening (MTT, calcio microfluorografia, mutagenesi, inibizione enzimatica), studi di docking e di cristallografia a raggi X, studi ADME *in vitro* (studi di solubilità e di stabilità metabolica).

**Docenti e laboratori coinvolti:** **Pirali\*** (CHIM/08), Di Martino (CHIM/08), Miggiano (BIO/10), Aprile (CHIM/08), Cappellano (DSS, UPO).

**Nota:** Il progetto coinvolge anche una start up ([www.chemicare.it](http://www.chemicare.it)) e lo Studente avrà la possibilità di interfacciarsi anche con questo tipo di realtà, acquisendo conoscenze in termini di protezione della proprietà intellettuale e ricerca traslazionale.

**P4 - Analisi biochimica e strutturale di enzimi ricombinanti della zanzara *Anopheles gambiae*.**

Il percorso proposto si inquadra in una linea di ricerca che ha come *focus* l'analisi funzionale e strutturale di enzimi di *Anopheles gambiae*, la specie di zanzara che rappresenta uno dei principali vettori della malaria nella popolazione umana. Lo Studente verrà coinvolto in tutte le fasi dell'attività sperimentale finalizzata alla produzione in forma ricombinante, alla purificazione e alla caratterizzazione biochimica e strutturale delle potenziali sulfotransferasi citosoliche (SULTs) della zanzara *Anopheles*, enzimi ancora poco caratterizzati negli insetti nonostante i loro equivalenti funzionali svolgano un ruolo centrale nella fisiologia dei mammiferi.

**Metodi e approcci impiegati:** progettazione e realizzazione di costrutti per l'espressione di proteine ricombinanti in *E. coli*; purificazione di proteine mediante cromatografia liquida; allestimento di saggi per la caratterizzazione degli enzimi purificati (analisi in HPLC-UV/VIS e HPLC-MS); analisi dell'attività delle SULTs in campioni di tessuti di zanzara (*in collaborazione con gruppi esterni al DSF*); sintesi chimica di substrati e/o inibitori a piccola molecola; cristallizzazione degli enzimi e loro complessi e determinazione della struttura 3D.

**Docenti e laboratori coinvolti:** **Rossi\*** (BIO/10), Del Grosso (CHIM/08), Galli (CHIM/08).

**P5 - Recupero di composti bioattivi da sottoprodotti alimentari per la messa a punto di materie prime e semilavorati di impiego dermatologico e cosmetico con solide performance di sostenibilità**

La sostenibilità di un prodotto finito per applicazione topica può interessare ogni fase dello sviluppo formulativo: dall'impiego di ingredienti derivanti dalla valorizzazione di sottoprodotti alimentari, alla loro lavorazione e formulazione, fino allo smaltimento.

Lo studente parteciperà alle diverse fasi sperimentali nelle quali sarà articolato il progetto. *Studio preformulativo.* Estrazione di sostanze bioattive da sottoprodotti di filiere agro-alimentari (risicoltura, trasformazione frutta e verdura ed enologico). La caratterizzazione chimica degli estratti, realizzata attraverso l'utilizzo di tecniche spettrofotometriche e cromatografiche, sarà focalizzata sulla rilevazione delle principali classi di composti generalmente noti per proprietà funzionalmente utili nei contesti di ricaduta della ricerca, in particolare: polifenoli, fenoli semplici, flavonoidi e derivati, acidi organici. Successivamente si passerà alla valutazione *in vitro* della loro attività idratante, emolliente, anti-aging, antielastica, depigmentante, dermoriparatrice. Verranno quindi impiegati processi tecnologici di conversione delle sostanze bioattive più promettenti in materie prime adatte all'allestimento di semilavorati (preformulati) da utilizzare in preparazioni topiche. *Studio formulativo.* Impiego dei preformulati a base di sostanze bioattive per la formulazione di preparazioni topiche *green*, di consistenza liquida, semisolida e solida (soluzioni, creme, gel, emulgel, polveri, film). Estrazione *green* dei composti bioattivi dai prodotti finiti (in collaborazione con gruppi di ricerca esteri). Valutazione *in vitro* dell'efficacia dei prodotti finiti.

**Metodi e approcci impiegati:** metodiche estrattive finalizzate ad ottenere composti bioattivi ancora presenti in sottoprodotti di origine vegetale e caratterizzazione della loro composizione con metodi spettrofotometrici e cromatografici (HPLC e GC).

Tecniche di solubilizzazione, macinazione, essiccamento (*spray drying, freeze drying*) anche in presenza di eccipienti stabilizzanti (biopolimeri polisaccaridici e proteici) per la produzione di semilavorati. Caratterizzazione tecnologica e chimico-fisica (determinazione di viscosità e scorrevolezza, analisi del contenuto di sostanza attiva e impiego di tecniche quali TGA, PSD, FTIR-ATR, XRPD) dei semilavorati e dei prodotti finiti.

**Docenti e laboratori coinvolti:** *Bordiga\** (CHIM/10), Locatelli (CHIM/10), Giovannelli (CHIM/09).

**Nota:** *il progetto prevede la collaborazione con uno o più gruppi di ricerca esteri. Lo studente avrà modo di trascorrere un periodo in uno di questi gruppi sfruttando le modalità di mobilità internazionale di Ateneo e Dipartimento (Erasmus Traineeship o Free Mover).*

### ***P6 - Analisi multiparametrica di segnali intracellulari e potenziale di membrana applicata allo studio delle neuropatie e delle malattie neurodegenerative***

Il percorso formativo prevede di utilizzare un dispositivo innovativo costituito da una matrice di SiPM (silicon photomultiplier), per studiare in simultanea, tramite l'uso di sonde ingegnerizzate bioluminescenti, le variazioni di calcio, del potenziale di membrana e di ATP in sistemi modello per le neuropatie e le malattie neurodegenerative.

#### **Metodi e approcci impiegati:**

Colture primarie di cellule del sistema nervoso e linee cellulari, trasduzione delle cellule con sonde bioluminescenti, registrazione e analisi dei segnali bioluminescenti

**Docenti e laboratori coinvolti:** *Distasi\** (BIO/09), Lim (BIO/09).

**Nota:** *la ricerca sarà condotta in collaborazione il prof. Massimo Caccia (FIS/01- Fisica sperimentale) del Dipartimento di Scienza e Alta Tecnologia dell'Università dell'Insubria.*

**N.B. L'asterisco indica il Docente "capofila" del progetto.**