

### Progetti proposti per il Percorso d'Eccellenza - AA 2022/2023

#### **P1 - Studio di inibitori potenti e selettivi verso l'isoenzima umano ALDH1A3 iper-espresso nelle Cellule Cancerose Staminali.**

**Docenti e laboratori coinvolti:** Garavaglia\* (BIO/10), Genazzani (BIO/14), Moro (BIO/13), Pinton (BIO/13), Minassi (CHIM/06).

Durante il progetto verranno sintetizzati e valutati inibitori in grado di inibire in modo specifico e selettivo l'enzima umano aldeide deidrogenasi 1A3. Questa proteina fa parte di una famiglia di 19 isoenzimi con azione detossificante, ubiquitari e presenti in diversi tessuti e compartimenti cellulari, e condividono una elevata omologia strutturale e una analogia di sequenza dal 40% al 70%. L'enzima oggetto di questi studi è iperespresso nelle cellule cancerose staminali dei gliomi ad alto grado di invasività e nel mesotelioma, rendendo le cellule tumorali più invasive e resistenti ai chemioterapici ad oggi in uso. Il progetto è multidisciplinare in quanto la biochimica e la cristallografia fondamentali per selezionare molecole selettive e potenti verso l'enzima ricombinante, sono affiancate da un esteso screening di modelli cellulari in vitro e su modelli animali in vivo.

**Metodi e approcci impiegati** - Sintesi chimica; studi di Enzimologia, Biochimica e Cristallografia e screening dei composti mediante *modelling* e computer grafica; screening dei composti su modelli cellulari in vitro e su modelli animali in vivo.

**Note** - Il progetto coinvolge anche un neurochirurgo e un clinico esperto di tumori al polmone e mesotelioma.

#### **P2 - Studio di inibitori dell'enzima indoleammina 2,3-diossigenasi come strategia terapeutica nell'ambito nell'immunoterapia del tumore.**

**Docenti e laboratori coinvolti:** Fallarini\* (BIO/14), Pirali (CHIM/08), Del Grosso (CHIM/08), Massarotti (CHIM/08).

L'indoleammina 2,3-diossigenasi (IDO) è un enzima che favorisce l'*immune escape* del tumore, ovvero la sua capacità di eludere il sistema immunitario. Durante il progetto verranno progettate *in silico*, sintetizzate e valutate *small molecules* capaci di inibire questo enzima. Rispetto allo stato dell'arte, ci proponiamo di sviluppare molecole capaci di interferire non solo con l'attività catalitica dell'enzima, ma anche con la sua attività di *signalling*, scoperta di recente. Lo scopo è quello di contribuire alla scoperta di candidati che superino i limiti che hanno fino ad ora impedito l'utilizzo di tale approccio nella pratica clinica.

**Metodi e approcci impiegati** - Progettazione *in silico*, sintesi (allestimento reazioni, TLC, purificazioni cromatografiche), *screening* (MTT, saggi enzimatici e cellulari) e analisi quantitativa per valutare l'attività inibitoria (via LC-HRMS).

#### **P3 - Analisi biochimica e strutturale di enzimi ricombinanti della zanzara *Anopheles gambiae*.**

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

Il percorso proposto 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 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.

#### **P4 - Analisi multiparametrica di segnali intracellulari e potenziale di membrana applicata allo studio delle neuropatie e delle malattie neurodegenerative**

**Docenti e laboratori coinvolti:** Distasi\* (BIO/09), Lim (BIO/9)

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

**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.

#### **P5 - Sviluppo di un approccio farmaco-genico per l'ottimizzazione delle funzioni cellulari mediante modulazione dinamica dell'interazione tra il reticolo endoplasmatico e mitocondri.**

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

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.

**P6 - Progettazione e sintesi di agenti chelanti e complessi metallici per applicazioni diagnostiche e terapeutiche.**

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

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.

**Note** - 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.

\*L'asterisco indica il docente capofila.