



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo



Allegato 1)

CUP: E66C18001200007

Id. proposta: AIM1833071

linea di attività: attività 1)

Area di specializzazione SNSI: SALUTE

1 contratto ricercatore a tempo determinato Linea 1

Settore concorsuale:	05/E2 Biologia molecolare
Dipartimento (sede operativa dell'attività di ricerca)	Dipartimento di Scienze Biologiche, geologiche e ambientali
Lingua straniera	inglese
Specifici requisiti di ammissione	Dottorato di ricerca su tematiche inerenti al settore scientifico-disciplinare BIO/11
Settore scientifico-disciplinare (profilo)	BIO/11 Biologia molecolare
Numero massimo di pubblicazioni che ciascun candidato può presentare:	12 (dodici). In caso di superamento del numero massimo, si avverte che la commissione prenderà in considerazione esclusivamente le prime 12 pubblicazioni inserite nell' "elenco sottoscritto delle pubblicazioni"
Periodo obbligatorio fuori sede	8 mesi
Descrizione delle attività previste:	
<p>La linea di ricerca (LdR) proposta è volta allo sviluppo di peptidi abili a contrastare la disfunzione mitocondriale tipica dei neuroni dopaminergici colpiti dal Parkinson (PD) in quanto agenti sui complessi formati dalla proteina mitocondriale VDAC1 e la proteina patologica alfa-sinucleina (Syn).</p> <p>Questo obiettivo si pone in continuità con una delle linee di ricerca portate avanti in questi anni dal Dipartimento che ha permesso di sviluppare il peptide NHK1 in grado di recuperare la vitalità di un modello cellulare di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) inibendo la formazione degli aggregati tossici formati dal VDAC1 e da un mutante patogenetico della Superossido Dismutasi 1. Questa ricerca è stata svolta grazie ad un finanziamento annuale dell'AriSLA (Ass. italiana ricerca sulla SLA) e ha condotto recentemente ad una prestigiosa pubblicazione (Magri, SciREP 2016) e al deposito di due domande di brevetto, una nazionale ed una internazionale, per l'uso di NHK1 nella SLA.</p> <p>E' noto che la disfunzione mitocondriale conseguente all'accumulo sull'organello di specifiche proteine erroneamente ripiegate è un evento che conduce a morte il neurone e ciò accomuna molte malattie neurodegenerative (MND). Considerando tali premesse, la LdR proposta adotta la strategia seguita in precedenza per selezionare il peptide NHK1 attivo contro la SLA e mira a identificare singoli peptidi, o miscele di essi, idonei a recuperare il difetto mitocondriale e quindi la vitalità dei neuroni affetti da PD. Tale obiettivo verrà raggiunto nei tre anni previsti grazie allo svolgimento di cinque successive attività, quali:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) sintesi di peptidi della proteina VDAC1; 2) analisi in vitro dell'attività dei peptidi; 3) saggi di diffusione in modelli in vitro di barriera emato-encefalica (BEE); 4) analisi dei peptidi in idonei modelli cellulari PD; 5) delivery e analisi dei peptidi prescelti in adeguati modelli di topi transgenici PD. <p>Le attività previste ai punti 1 e 2 verranno svolte in sede durante il primo anno. Infatti, in Dipartimento esistono competenze idonee basate su adeguate expertise per la purificazione di proteine ricombinanti oltre ad una profonda conoscenza delle proteine VDAC. Verranno così disegnati una serie di peptidi corrispondenti ai domini VDAC1 più idonei all'interazione con la proteina Syn. Tali peptidi verranno poi prodotti nel laboratorio di sintesi peptidica del dott. Giuseppe Pappalardo (IBB-CNR, Catania) con cui verrà potenziata la</p>	



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo



collaborazione.

Questi nuovi peptidi VDAC1, insieme ad altri già in uso (es. NHK1), verranno analizzati mediante saggi in vitro, per la loro capacità di interferire nella formazione dei complessi tossici Syn-VDAC1. In particolare, le interazioni tra le proteine ricombinanti VDAC1 e Syn saranno saggiate con metodiche già validate e in uso nei nostri laboratori (Magrì, SciREP 2016). Tramite Spettrometria di Massa verrà poi valutato il pattern di interazioni che ogni peptide stabilisce con gli aggregati di Syn. Queste analisi saranno eseguite in sede, in collaborazione con il gruppo del prof. Foti (Dip. Chimica - UniCT), responsabile dello Spettrometro ad alta risoluzione Orbitrap LC-MS presente in Ateneo al Centro BRIT “Bio-nanotech Research and Innovation Tower”. Inoltre, il Dipartimento è fornito di un apparato Planar Lipid Bilayer (PLB, Warner) con il quale verranno effettuate specifiche analisi elettrofisiologiche per valutare la funzionalità del VDAC complessato alle molecole in esame (peptidi e Syn).

I risultati ottenuti nel primo anno consentiranno di: a) individuare i peptidi che in vitro esercitano un'efficace azione antagonista nei confronti dei complessi Syn-VDAC1; b) ottenere dati sufficienti ad determinare gli amminoacidi coinvolti nell'interazione fra le due molecole.

Le attività 3 e 4 saranno svolte durante il secondo anno, sviluppando collaborazioni nuove o appena avviate con prestigiosi gruppi di ricerca nazionali e esteri. Gli studi sulla capacità permeante dei peptidi verranno eseguiti presso i laboratori di ricerca dei proff. Masserini (direttore del Centro di Nanomedicina, Univ. MI-Bicocca) e Re (responsabili Spin-off di UniMIB “AmpyoPharma”), esperti nella formulazione di nanoparticelle come veicolo di farmaci per le MND e nell'individuazione e utilizzo di idonei modelli in vitro di BEE. L'iniziale collaborazione con questo gruppo ha prodotto interessanti risultati preliminari sulla capacità del peptide NHK1, tal quale o internalizzato in nanoliposomi funzionalizzati, di permeare motoneuroni e attraversare un modello cellulare di BEE.

L'attività 4 è volta a studiare l'effetto prodotto dai peptidi preselezionati (tal quali o incorporati in nanoliposomi) in idonei modelli cellulari di PD.

Questa fase verrà eseguita sviluppando la collaborazione con il dott. François Ichas presso l'Ist. Malattie Neurodegenerative - CNRS, Bordeaux (FR). Il centro, diretto dal dott. Bezdard Erwan rinomato per i suoi studi sul Parkinson, è indirizzato allo sviluppo di soluzioni terapeutiche per il PD.

Qui verrà effettuato uno screening di tipo HCS (High-content screening) su colture primarie di neuroni corticali murini esposti ad aggregati di Syn umana. I nostri peptidi verranno testati sia come molecole singole sia in miscele varie, monitorando i complessi Syn-VDAC1 e vari parametri cellulari e mitocondriali. Verranno utilizzati sia sistemi single-cell che camere microfluidiche, per studiare l'effetto indotto dai peptidi anche su selezionati compartimenti neuronali.

Il ricercatore richiesto nella linea “Mobilità” trascorrerà presso questo centro un periodo di 8 mesi, utili a individuare i più promettenti peptidi da indirizzare alla successiva analisi in vivo. In particolare, acquisirà e porterà in sede: a) le competenze relative all'utilizzo di tecnologie innovative per l'individuazione e il potenziamento di putativi agenti terapeutici; b) sufficiente esperienza circa le tecniche di isolamento e coltura dei neuroni primari oltre all'allestimento di modelli di sinucleinopatie, utili per lo studio anche di altre MND.

Durante il III anno, e parte del II, verrà svolta in sede l'attività 5, volta all'analisi dell'efficacia dei peptidi prescelti in un specifico modello murino di PD (utilizzabile in sede grazie alla collaborazione con la prof.ssa Marchetti e alla facility di Ateneo “Center of Advanced Preclinical in vivo Research – CAPIR”). I peptidi verranno somministrati, in dosi ottimizzate e secondo opportune vie di somministrazione, a modelli murini PD pre- e post-sintomatici. L'effetto sull'animale verrà valutato con opportuni test comportamentali, analisi di specifici parametri cellulari, funzionalità mitocondriale e tossicità cellulare.

Il ricercatore dovrà possedere un forte background in ambito bio-molecolare e conoscenze avanzate di fisiologia mitocondriale. Inoltre, dovrà avere adeguata esperienza: a) nell'utilizzo e nel mantenimento dei principali modelli murini transgenici oltre ad una idonea conoscenza dei test comportamentali in uso per gli animali modello MND; b) nell'utilizzo delle principali tecniche di espressione e caratterizzazione elettrofisiologica di proteine canale di membrana.

La ricerca si basa sul potenziamento di importanti collaborazioni e sul rafforzamento di sinergie locali, nell'ottica di sviluppare obiettivi strategici comuni (es. formazione di figure specifiche per l'avvio di idonee start-up da inserire nella filiera dei farmaci innovativi contro le MND), con significative ricadute sul territorio,



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo



non solo locale.

Il Dipartimento vigilerà su ogni azione, garantendo che vengano sempre applicati i principi di uguaglianza di genere e razza e di tutela dei disabili, che i reagenti e le tecnologie vengano impiegate tutelando la salute dell'operatore e annullando i rischi di inquinamento ambientale. Inoltre, il dipartimento garantirà che i risultati raggiunti vengano adeguatamente pubblicizzati alle associazioni locali dei pazienti PD, anche mediante i comuni canali informatici o social.

Declaratoria 05/E2: BIOLOGIA MOLECOLARE

Il settore si interessa dell'attività scientifica e didattico-formativa nel campo delle funzioni biologiche a livello molecolare delle macromolecole informazionali. È di interesse di questo settore l'analisi delle caratteristiche biochimiche ed evolutive degli acidi nucleici, le interazioni tra acidi nucleici e proteine, tra proteine e proteine e le relazioni esistenti tra la struttura tridimensionale di proteine e acidi nucleici e le funzioni biologiche da essi svolte in tutti gli organismi, virus, procarioti ed eucarioti. Particolare attenzione è rivolta alle macromolecole che sono coinvolte nella conservazione, nella riparazione, nella duplicazione, nella trascrizione e nella traduzione dell'informazione contenuta negli acidi nucleici, alle macromolecole che sono responsabili dei fenomeni di controllo dell'espressione genica, della proliferazione, differenziamento e trasformazioni cellulari, alle macromolecole che permettono il movimento cellulare, l'interazione tra cellule, lo sviluppo degli organismi multicellulari sia animali sia vegetali. Questo settore include la bioinformatica, la biologia computazionale e dei sistemi. Le tematiche suesposte sono affrontate utilizzando da un lato le tecniche di ingegneria genetica, dall'altro la biocristallografia, le metodiche di caratterizzazione biochimica delle macromolecole biologiche e gli strumenti bioinformatici.