

**DOTTORATO IN BIOTECNOLOGIE**  
**XXXII CICLO**  
**TEMATICHE DI RICERCA**

**SANNIA**

**Laccasi fungine native e mutanti per applicazioni industriali: produzione ricombinante e applicazioni nella chimica verde**

Le laccasi sono enzimi ad attività fenolo ossidasi in grado di ossidare un'ampia gamma di substrati aromatici. In virtù della loro ampia specificità di substrato le laccasi trovano impiego in diversi settori dell'industria e sono al centro di numerose applicazioni biotecnologiche. Il gruppo di ricerca del Prof. Sannia è impegnato nell'isolamento e caratterizzazione di laccasi fungine e nella loro mutagenesi finalizzata all'ottenimento di biocatalizzatori disegnati *ad hoc* per specifiche applicazioni. In particolare, la ricerca sarà incentrata nell'ambito della chimica-verde, mirando all'utilizzo dei suddetti enzimi per la biosintesi di nuove molecole coloranti, per l'applicazione nell'industria tessile e alla sintesi di bio-polimeri conduttori, tra cui la polianilina.

**Isolamento e caratterizzazione di nuove lipasi per applicazioni industriali: ricerca di nuove lipasi industrialmente rilevanti**

Le lipasi di origine microbica rappresentano una classe di enzimi idrolitici versatile ed ampiamente usata nelle applicazioni industriali e nella chimica organica. Data la prominente posizione delle lipasi come biocatalizzatori saranno studiati nuovi enzimi lipolitici, nativi e ricombinanti, isolati tramite *data mining* di banche dati genomiche e *bioprospecting* in aree marine contaminate. Per ottimizzare le proprietà industrialmente rilevanti delle nuove lipasi saranno utilizzate tecniche di *design* genico. Gli enzimi, espressi in sistemi ricombinanti, saranno integrati in flussi di processi industriali quali la detergenza e la produzione di *fine chemicals*.

**Nuovi cluster genici per la biosintesi di**

**PhD IN BIOTECHNOLOGY**  
**XXXII CYCLE**  
**RESEARCH TOPICS**

**SANNIA**

**Fungal native and recombinant laccases for industrial applications: recombinant production and applications in green chemistry**

Laccases are phenol oxidases able to oxidize a broad range of aromatic compounds. Due to their low substrate specificity these enzymes are applied in different industrial sectors and are considered one of the greenest enzyme of this century. Prof. Sannia's research group is involved in the isolation and characterization of fungal laccases and on their mutagenesis aimed to the obtainment of tailored enzymes for specific applications in green chemistry. In particular, the research is focused on the exploitation of these enzymes in the biosynthesis of new dye-molecules for application in textile industry and on the bio-synthesis of conducting bio-polymers, such as polyaniline.

**Isolation and characterization of new lipases for industrial applications: discovery of new industrially valuable lipases**

Microbial lipases represent a versatile class of hydrolytic enzymes widely used in industrial applications and organic chemistry. Keeping in view the prominent position of lipases as industrial biocatalysts, analysis of new wild type and recombinant lipolytic enzymes will be carried out. Isolation of the new bio-systems will be obtained through genome data bank mining and bioprospecting of polluted/extreme marine environments. In order to develop enzymes with industrially "tailored" properties the design of new lipase coding genes will be performed. The new bio-catalysts will be integrated in industrial process flow such as detergency and fine chemicals production.

**Analysis of new Polyhydroxyalkanoate biosynthetic**

### **Poliidrossialcanoati (PHA): produzione e applicazione di nuovi bio-materiali**

I poli-idrossialcanoati sono bio-polimeri sintetizzati da numerosi generi di batteri e immagazzinati sotto forma di granuli intracellulari, a scopo di riserva. Ottenibili da fonti rinnovabili e completamente biodegradabili, i PHA rivestono particolare interesse biotecnologico per il loro impiego come bio-plastiche. La composizione monomerica di tali polimeri è dipendente dal tipo di microorganismo produttore e dal mezzo di coltura, ed è fondamentale nella determinazione delle proprietà chimico-fisiche del polimero. Il gruppo di ricerca del Prof. Sanna è impegnato nell'isolamento e caratterizzazione di nuovi *cluster* genici responsabili della biosintesi di PHA. In particolare lo studio è finalizzato all'analisi del ruolo svolto dai geni costituenti l'operone per la biosintesi di PHA da *B. cereus* verificandone l'influenza nella determinazione della composizione monomerica e le proprietà applicative del polimero.

### **BARTOLUCCI**

#### **Caratterizzazione di glicosil idrolasi da microrganismi ipertermofili e loro impiego biotecnologico**

Gli enzimi da microrganismi ipertermofili sono non solo stabili ed attivi ad alte temperature ma anche ai comuni agenti denaturanti e spesso ai solventi organici; tali caratteristiche, di conseguenza, li rendono particolarmente adatti per applicazioni biotecnologiche. In particolare glicosilidrolasi da fonti ipertermofile, quali cellulasi e xilanasi, trovano un largo impiego in progetti di "green energy". Nel gruppo di Biochimica e Biologia molecolare di microrganismi termofili (BBMT) è in corso la caratterizzazione di una cellulasi, Sso2534, dell'archaeon ipertermofilo *Sulfolobus solfataricus* P2, e della ottimizzazione dei suoi livelli di produzione in ospiti mesofili attraverso l'utilizzo di diversi sistemi di espressione. La caratterizzazione successiva di altre cellulasi e xilanasi da microrganismi termofili ha come scopo la realizzazione di cocktail enzimatici da utilizzare su biomasse lignocellulosiche per la

### **gene clusters for the production and application of new green bio-plastic materials**

Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are biodegradable, biocompatible polymers of hydroxyalkanoic acids, produced as intracellular storage-granules by a variety of bacteria species. The material properties and hence the potential biotechnological application of PHAs vary depending on the monomer composition. Prof. Sanna's research group is involved in the isolation and characterization of new gene clusters responsible for PHA biosynthesis. In particular, the research is aimed at examining the role played by the genes of *B. cereus* PHA biosynthetic operon in determining monomeric composition, and thus the potential applicability, of the produced polymer.

### **BARTOLUCCI**

#### **Characterization of glycosyl hydrolases from hyperthermophilic microorganisms and their biotechnological applications**

Enzymes from hyperthermophilic microorganisms are stable and active at high temperatures as well as to the common denaturant agents and organic solvents; these peculiar features are especially suitable for biotechnological applications. In particular glycosyl hydrolases from hyperthermophilic sources, as cellulases and xylanases, are applied in green energy projects. Biochemistry and Molecular Biology of Thermophilic Microorganisms (BBMT) group is currently involved both in the characterization of cellulase Sso2534 of hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* and in the optimization of its production in mesophilic hosts by different expression systems. The following characterization of cellulases and xylanases from other thermophilic microorganisms is focused on the generation of enzymatic cocktails to improve the digestion on lignocellulosic biomasses to produce biocompatible products as biofuels.

produzione di prodotti biocompatibili come ad esempio *bio fuel*

### **Studio del sistema di difesa anti-virale CRISPR-Cas per la selezione di ceppi batterici insensibili all'infezione virale da impiegare in processi industriali**

Il sistema CRISPR (regularly interspaced short palindromic repeats)-Cas (CRISPR-associated proteins) è un meccanismo di difesa antivirale che consiste nell'incorporazione di sequenze di DNA derivanti da DNA esogeno (virale o plasmidico) nel cromosoma dell'organismo ospite. Tali sequenze funzionano in sinergia con l'insieme di proteine ed enzimi Cas dell'ospite per garantire una efficiente sistema di sorveglianza verso l'invasione di DNA estraneo nelle cellule suscettibili. Nel gruppo BBMT, sono stati effettuati analisi per studiare sia la regolazione trascrizionale dei loci CRISPR sia i meccanismi che sono alla base della selezione del target di DNA esogeno. Come sistema modello è stato impiegato l'organismo archaeale *Sulfolobus* ed due virus che lo infettano SSV1 (*Sulfolobus* spindle-shaped virus 1) e SSV2 (*Sulfolobus* spindle-shaped virus 2). Lo studio del sistema CRISPR è funzionale per svariate applicazioni biotecnologiche, ad esempio 1) per rendere insensibili all' infezione virale colture batteriche impiegate in bioprocessi industriali oppure 2) per impiegare proteine/enzimi del sistema CRISPR-Cas nel silenziamento di specifici geni attraverso un meccanismo simile a quello dell' RNA interference, che non implica dunque la manipolazione del genoma dell' ospite.

#### **CAPPARELLI**

### **Impiego di proteine e peptidi con attività antimicrobica nel food packaging e nel settore biomedicale**

Negli ultimi tempi la sicurezza alimentare è diventata di estremo interesse per i consumatori, in quanto il problema del deterioramento e della contaminazione degli alimenti da parte di agenti patogeni non è ancora stato risolto. Uno dei filoni di ricerca della

### **Exploitation of the CRISPR-Cas antiviral defence system: setting up the construction of Virus Insensitive Thermophilic Strains (VITSs) for applications in industrial workflows**

The CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)-Cas (CRISPR-associated proteins) defence system is a resistance mechanism that incorporates sequences derived from foreign DNA elements (viruses or plasmids) into the host genome. These acquired sequences, in conjunction with host Cas proteins constitute an efficient surveillance immune system that destroys incoming foreign nucleic acids. In BBMT group, transcriptional studies have been performed to shed light on the mechanisms underlying the transcriptional regulation of the CRISPR loci as well as of the viral target selection, using as model system the archeal well-known organism *Sulfolobus* and two of its infecting viruses SSV1 (*Sulfolobus* spindle-shaped virus 1) and SSV2 (*Sulfolobus* spindle-shaped virus 2). The study of the CRISPR system is functional for a number of biotechnological applications, i.e. i) to render insensitive (immune) bacterial cultures used for any industrial workflow against specific detrimental viruses ii) to employ proteins/enzyme of the CRISPR-Cas system to knock-down specific genes through a mechanism similar to the RNA interference without manipulation of the original microbial genome.

#### **CAPPARELLI**

### **Use of proteins and peptides with antimicrobial activity for food packaging and biomedical applications**

In the last years, food safety has become of great interest for consumers and actually the problem of food deterioration and contamination by pathogens has not been still solved. One of the cornerstones of the research activity managed by Prof. Rosanna Capparelli

Prof.ssa Capparelli è volto all'individuazione di biomolecole ad attività antimicrobica come proteine e peptidi antimicrobici. Queste biomolecole, essendo componenti della immunità innata ed ampiamente distribuite in natura, rappresentano la prima linea di difesa contro i patogeni. Le molecole antimicrobiche verranno incorporate o nell'imballaggio o in film sterili da applicare sul prodotto stesso (quali alimenti ed apparati biomedicali) allo scopo di garantirne un più alto grado di sicurezza da agenti patogeni ed un vantaggio commerciale. Le ricerche condotte nel laboratorio della Prof.ssa Rosanna Capparelli hanno dimostrato l'efficacia delle Temporine (peptidi antimicrobici naturali) nei confronti di alcuni dei patogeni che più frequentemente colonizzano gli alimenti (*Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*) o causano infezioni nosocomiali (*Staphylococcus epidermidis*). Attualmente esperimenti in corso sono volti a valutare l'attività biologica di un nanocomposto formato da idrossiapatite biomimetica funzionalizzata superficialmente con la lattoferrina (LF-HA) contro diversi agenti patogeni tra cui *Helicobacter pylori*, patogeno presente in più della metà della popolazione mondiale.

#### **Sicurezza alimentare: nuova strategia diagnostica.**

Un secondo progetto di ricerca della Prof.ssa Rosanna Capparelli ha come scopo la realizzazione di un sistema rapido, specifico e sensibile per il riconoscimento dei patogeni come la *Salmonella spp.* (monofasica, typhimurium, enteriditis) la cui importanza è dovuta al loro impatto sulla salute pubblica. Questo progetto prevede la produzione di anticorpi policlonali che saranno disposti su una lamina d'oro in grado di orientare la parte variabile degli anticorpi verso gli agenti patogeni presenti nel campione da analizzare. Il sistema si basa sull'utilizzo di strumenti innovativi, gli immunosensori che, disposti in linea, permetteranno di rilevare, attraverso specifiche reazioni antigene - anticorpo, la presenza di *Salmonella spp* negli alimenti di origine animale e vegetale.

aims to identify natural molecules with biological activities such as antimicrobial proteins and peptides. These molecules are widely distributed in nature and represent the first line of defense against different pathogens contributing to innate immune response. Antimicrobial proteins and peptides will be incorporated in packaging or in sterile film to be applied on the product itself (i.e. food and biomedical equipment) to obtain higher level of protection from pathogens and having commercially advantage. Experimental evidences obtained in the laboratory of Prof. Rosanna Capparelli prove the efficacy of Temporin (natural antimicrobial peptides) against common foodborne pathogens (*Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*) or agents causing nosocomial infections (*Staphylococcus epidermidis*). Currently some tests are being carried out to evaluate the biological activity of a hybrid nanocomposite composed of synthetic biomimetic hydroxyapatite surface-functionalized by lactoferrin (LF-HA) against several pathogens including *Helicobacter pylori*, pathogen presents in more than half of population worldwide.

#### **Food safety: New diagnostic strategy.**

The project leaded by Prof. Rosanna Capparelli aims to develop a rapid, specific and sensitive equipment for the recognition of pathogens of fundamental importance for their impact in public health like *Salmonella spp.* (monophasic, typhimurium, enteriditis). This project consists in production of polyclonal antibodies which will be tether on a gold surface capable to orient them with their variable part exposed to pathogens in solution. The system relies on the use of innovative tools, the immunosensors which, arranged in line, will allow to detect, through specific reactions antigen - antibody, the presence of *Salmonella spp* in foods of animal and vegetable origin.

## **CALABRO'**

### **Caratterizzazione di molecole e composti bioattivi da fonti naturali contro i danni e l'invecchiamento della pelle.**

La pelle è un tessuto di rivestimento in continuo rinnovamento e che riveste moltissime funzioni. Numerosi fattori cellulari ne controllano l'omeostasi, la rigenerazione e la riparazione dai danni prodotti da stress ambientali e radiazioni UV. Nel laboratorio della Prof. Calabrò si utilizzano tecniche di ingegneria genetica, biologia cellulare e microscopia a fluorescenza per l'identificazione e caratterizzazione dei meccanismi molecolari che controllano il potenziale proliferativo e rigenerativo delle cellule epiteliali. L'interesse del laboratorio è volto alla identificazione di molecole e composti bioattivi, derivati da fonti naturali, d'interesse per l'industria cosmetica da applicare contro i processi di danno ed invecchiamento della pelle.

## **DI DONATO**

### **Utilizzo di monoossigenasi multicomponente batteriche (BMM) per la sintesi di nuovi catecoli antiossidanti.**

I catecoli sono molecole antiossidanti di particolare interesse industriale. L'enzima ToMO è una BMM molto versatile in grado di ossidrilare un'ampia gamma di composti aromatici monociclici trasformandoli in catecoli. Gli studi condotti nel laboratorio del Prof. Di Donato utilizzano le metodiche della biologia computazionale e dell'ingegneria proteica per alterare in maniera mirata sia la specificità di substrato che la regioselettività di ToMO allo scopo di creare catalizzatori ossidrilasici *ad hoc* per la sintesi di nuovi catecoli antiossidanti da impiegare nell'industria cosmetica, alimentare e farmaceutica.

### **Caratterizzazione e applicazione biotecnologica di glicosidasi isolate da batteri marini.**

Le glicosidasi batteriche sono al centro di un numero crescente di attività di ricerca in virtù del loro ruolo chiave in diversi processi biologici e della loro utilità in

## **CALABRO'**

### **Characterization of molecules and bioactive compounds from natural sources against skin damage and aging.**

Constantly renewed, the skin is much more than just an envelope. A number of distinct cellular factors control epidermal tissue homeostasis, regeneration and damages, such as those occurring following UV irradiation.

Prof. Calabrò's laboratory is currently investigating the molecular mechanisms and signaling pathways regulating the proliferative and regenerative potential of epithelial cells. Our research is based on recombinant DNA technology, immunofluorescence microscopy and cellular biology. The aim of the project is to identify molecules and bioactive compounds, from natural sources, of interest for the cosmetic industry, able to influence epithelial, regeneration and differentiation and counteract skin damage and aging.

## **DI DONATO**

### **Use of bacterial multicomponent monooxygenases (BMM) for the biosynthesis of novel antioxidant catechols.**

Catechols are antioxidant molecules of particular industrial interest. ToMO is a versatile BMM endowed with the ability to hydroxylate a wide array of monocyclic aromatic compounds and to convert them in catechols. Studies performed in Prof. Di Donato laboratory use computational biology and protein engineering to fine-tune both the substrate specificity and the regioselectivity of ToMO thus obtaining catalysts *à la carte* for the synthesis of new antioxidant catechols to use in the cosmetic, food and pharmaceutical industry.

### **Characterization and biotechnological application of glycosidases isolated from marine microorganisms.**

Bacterial glycosidases are the focus of a growing interest in the scientific community because of their key role in several biological processes and their potential

applicazioni biotecnologiche. Nel laboratorio del Prof. Di Donato è in corso la caratterizzazione di una sottoclasse di glicosidasi, le alfa-L-ramnosidasi, in un peculiare microorganismo marino, *Novosphingobium puteolanum* PP1Y, in grado di crescere utilizzando un'ampia gamma di idrocarburi policiclici aromatici come unica fonte di carbonio e di energia. Le conoscenze acquisite saranno utilizzate per la messa a punto di bioconversioni di composti flavonoidici per produrre molecole di interesse per l'industria farmaceutica e alimentare.

#### **FIorentino**

##### **Analisi e sviluppo di sistemi molecolari per l'identificazione di inquinanti ambientali**

I metalli pesanti sono tra le principali cause di inquinamento dei nostri tempi; essi non sono biodegradabili e minacciano l'ambiente e la salute umana anche a concentrazioni molto basse. I microrganismi hanno sviluppato un'ampia varietà di sistemi molecolari per difendersi da tali metalli tra cui regolatori trascrizionali responsivi, ossidasi, reductasi e proteine di membrana che esportano i metalli all'esterno della cellula. Nel nostro laboratorio studiamo i meccanismi molecolari responsabili della resistenza all'arsenico nei microrganismi termofili attraverso approcci biochimici e genetici allo scopo di sviluppare biosensori cellulari e nanosensori biochimici per la rivelazione di tale metallo nell'ambiente. Ulteriori studi saranno rivolti all'identificazione di microrganismi ambientali resistenti all'arsenico per il loro possibile impiego in strategie di "bioremediation".

#### **GIARDINA**

##### **Proteine fungine auto-assemblanti per applicazioni biotecnologiche**

Le idrofobine sono piccole proteine prodotte dai funghi filamentosi, coinvolte nella formazione di strutture aeree e nel legame delle ife a superfici idrofobiche. In forma solubile sono biosurfattanti e auto-assemblano in film anfifilici alle interfacce idrofiliche / idrofobiche. Questi film sono stabili sia meccanicamente che

use in biotechnological applications. Prof Di Donato's group is currently investigating a specific class of glycosidases, alpha-L-rhamnosidases, in *Novosphingobium puteolanum* PP1Y, a peculiar microorganism that is able to grow on a wide array of polycyclic aromatic compounds as unique carbon and energy source. The knowledge acquired will be used for the development of biotransformations of flavonoids to produce molecules of interest for the pharmaceutical and food industry.

#### **FIorentino**

##### **Analysis and development of molecular systems for the detection of environmental pollutants**

Heavy metals are one of the most serious pollution problems of our time; they are not biodegradable and are threatening for the environment and the human health even at very low concentrations. Microorganisms have developed a wide variety of molecular systems to defend against those metals, among which metal-responsive transcriptional regulators, oxidases, reductases, and membrane proteins for their export outside the cell. In our laboratory, we investigate the molecular mechanisms responsible for arsenic resistance in thermophilic microorganisms through biochemical and genetical approaches in order to develop cell based biosensors as well as biochemical nanosensors for the detection of arsenic in the environment. Further studies will be aimed at identifying environmental arsenic resistant microorganisms for their exploitation in bioremediation strategies.

#### **GIARDINA**

##### **Self assembling fungal proteins for biotechnological applications**

Hydrophobins are small surface active proteins produced by filamentous fungi, involved in the formation of aerial structures and in the attachment of hyphae to hydrophobic surfaces. They are surfactants in their soluble forms and self-assemble into an amphiphilic membrane when they reach a hydrophobic-hydrophilic

chimicamente e sono capaci di modificare la bagnabilità delle superfici. Queste proprietà rendono le idrofobine interessanti per le loro potenziali applicazioni biotecnologiche. Le ricerche saranno indirizzate alla comprensione dei meccanismi di auto-assemblaggio di idrofobine fungine e alle loro possibili applicazioni, in campo biomedico -dalla diagnostica al drug delivery- e della biosensoristica.

## **MARINIELLO**

### **Applicazione di “bioplastiche” in campo alimentare**

La preparazione e la caratterizzazione di nuove bioplastiche apre collateralmente altre linee di ricerca volte all'applicazione di questi materiali in campo alimentare. Le diverse caratteristiche dei vari nuovi biopolimeri prodotti suggeriscono specifiche applicazioni che necessitano di essere confermate sperimentalmente. A tale scopo è opportuno individuare le giuste procedure per stratificare questi materiali sui diversi prodotti alimentari studiandone gli effetti a livello chimico, microbiologico, reologico, sensoriale e nutrizionale. Inoltre, mediante l'incorporazione nei film di composti bioattivi e funzionali, possono essere generati “coating” e “packaging” attivi di cui è possibile indagare l'efficacia. In particolare, i prodotti alimentari oggetto di studio nei nostri laboratori per possibili applicazioni delle bioplastiche da noi preparate includono frutta ed altri vegetali freschi, prodotti dell'industria casearia, prodotti da forno e da frittura.

### **Purificazione e caratterizzazione di enzimi di interesse alimentare**

L'utilizzo degli enzimi nei processi industriali, sia in sostituzione dei catalizzatori tradizionali (adiuvanti di processo) sia come componenti dei prodotti finali (additivi), è certamente destinata a crescere data la loro generale assenza di effetti dannosi sul consumatore e sull'ambiente. Recentemente, lo specifico utilizzo degli enzimi soprattutto di tipo idrolitico (carboidrasi, proteasi e lipasi) in campo

interface. The hydrophobin films have high mechanical resistance and can deeply modify the wettability of surface materials. Due to these characteristics, these proteins are very interesting and could be used in high technology applications. Our research will be focused on the study of self-assembling mechanism of fungal hydrophobins and on their potential applications in biomedical -from diagnostic to drug delivery- and in biosensoristic fields.

## **MARINIELLO**

### **Food application of “bioplastics”**

Preparation and characterization of new bioplastics open new ways devoted to find out possible applications of these materials in food industry. The various features of the different biopolymers produced suggest specific uses requiring to be experimentally confirmed. To this we investigate the useful procedures to stratify these materials on different food products by studying their chemical, microbiological, reological, nutritional and sensory effects. Moreover, by incorporating bioactive and functional additives, it is possible to produce “active” coating and packaging systems whose effectiveness deserves to be investigated. In particular, coating and packaging of foods like fresh fruits and vegetables, as well as dairy, baked and deep-fried products, are investigated in our laboratories.

### **Purification and characterization of enzymes of food interest**

Use of the enzymes in the industrial processes, either as substitutes of the traditional catalysts (processing aids) or as additional components of the final products (additives), is certainly growing due to the general acceptability of the enzymes by consumers and their absence of damage for the environment. Recently, the specific use of several enzymes, mostly of the hydrolytic ones (carbohydrases, proteases, lipases), in food

alimentare è aumentato in modo esponenziale essendo questi biocatalizzatori largamente impiegati nella trasformazione del mais, dei prodotti caseari, della carne e nella produzione di bevande. Interessante appare anche la possibilità di produrre specifici alimenti adatti a particolari esigenze dietetiche, quali ad esempio quelli a ridotto contenuto di colesterolo, mediante l'impiego di enzimi isolati da microrganismi. Attualmente, una nostra linea di ricerca è indirizzata all'individuazione, purificazione ed immobilizzazione di enzimi proteolitici estratti da sorgenti vegetali da utilizzare nella preparazione di nuovi prodotti caseari.

### **MARZOCHELLA**

#### **Sviluppo di un processo per la produzione intensiva di biomassa mediante colture autotrofiche di microalghe.**

La produzione di vettori energetici mediante colture autotrofiche di microalghe rappresenta una delle sfide del terzo millennio. Infatti le microalghe permettono di convertire "velocemente" l'energia solare in energia chimica, variamente utilizzabile. Oltre al potenziale energetico, le biomasse algali possono essere sfruttate (anche solo in parte essa) per altre finalità, quali la produzione di bioplastiche. Lo studio dovrà prevedere possibilmente i seguenti aspetti: i) selezione di ceppi microalgali autotrofi caratterizzati da elevata concentrazione di lipidi e/o polisaccaridi di interesse industriale; ii) caratterizzazione della cinetica di crescita delle microalghe e fissazione di anidride carbonica in condizioni di esercizio strettamente controllate; iii) selezione e sviluppo di fotobioreattori idonei a garantire elevate produttività per il/i ceppi microalgali adottati ed elevata efficienza di cattura dell'anidride carbonica; iv) selezione ed ottimizzazione di sistemi di recupero delle microalghe e separazione delle diverse tipologie di componenti. In particolare i sistemi di trattamento dovranno preservare, per quanto possibile, le caratteristiche delle singole classi di componenti delle microalghe; v) valutazione tecnico-economica del processo. L'approfondimento degli aspetti richiamati dovrà

industry is markedly increased being applied in corn, dairy and meat transformation processes, as well as in the beverage production. Moreover, it seems to be extremely appealing the possibility to produce foods for particular diets (as the cholesterol-free diets), by using enzymes isolated from various microorganisms. Presently, we are involved in researches addressed to identify, purify and immobilize proteolytic enzymes from vegetable sources to produce new dairy products.

### **MARZOCHELLA**

#### **Intensive process for the biomass production from autotrophic microalgal cultures.**

The production of autotrophic microalgae as energy vectors is one of the challenges of current millennium. The main advantage of autotrophic microalgal cultures is the "fast" conversion of solar energy into chemical energy. In addition to the energy exploitation, microalgae – or some components – may be adopted as building blocks of several industrial products (bioplastic, etc.). The development of a reliable production process will ask for: i) selection of microalgal strains characterized by high content of lipids and/or polisaccharides; ii) assessment of kinetics of microalgal growth and efficiency to capture the CO<sub>2</sub>; iii) development of high efficiency photobioreactors; iv) selection and optimisation of a biorefinery system to exploit microalgae having care do not damage components; v) techno-economic assessment of the process. The item iv) may be even considered a PhD subject because it may become quite complex if the features of all microalgal components are required to be kept.



essere valutato con riferimento anche alle collaborazioni che potranno essere attivate con centri di ricerca internazionali. È il caso di sottolineare che lo studio di un sistema integrato che risponda al punto iv) elencato costituisce di per se una potenziale attività di ricerca. Infatti esso rappresenta uno degli obiettivi dei sistemi produttivi noti come bioraffinerie.

#### **MONTI**

##### **Nanoparticelle come nuovi strumenti anti stress.**

Le malattie legate all'invecchiamento (come le amiloidosi) stanno aumentando e costituiscono un aggravio per il sistema sanitario. L'angiogenina (ANG) è recentemente emersa come importante regolatore dello stress in quanto bilancia crescita e sopravvivenza cellulare in risposta allo stress e in alcune malattie neurodegenerative la sua normale localizzazione subcellulare e la sua funzionalità sono alterate, e si osserva un drammatico decremento dell'ANG citosolica. Dato che al momento non esistono approcci terapeutici per contrastare la progressione di malattie legate all'invecchiamento, proponiamo un approccio biotecnologico basato sull'uso di nanoparticelle che contengono neomicina, un antibiotico in grado di bloccare ANG nel citosol e quindi di revertire l'effetto dello stress. Utilizzeremo quali modelli cellulari linee costitutivamente stressate, ottenute nel nostro gruppo, che esprimono stabilmente proteine fibrillogeniche. Saranno utilizzate nanoparticelle di diversa taglia e/o composizione chimica, così come nanoparticelle ricoperte di molecole bioattive per indirizzarle verso specifici tipi cellulari.

##### **Funzionalizzazione di superfici di carbonio con apolipoproteine**

I nanotubi di carbonio (CNT) sono strutture idrofobiche e insolubili nei solventi acquosi. Diverse apolipoproteine, o loro frammenti, presentano una struttura anfipatica che permette loro di legare e solvatare i nanotubi di carbonio. Le apolipoproteine saranno a loro volta funzionalizzate mediante legame a biomolecole, ad es. anticorpi, capaci di mediare

#### **MONTI**

##### **Nanoparticles as novel anti stress tools.**

Aging-related diseases (such as amyloidoses) are increasing nowadays and place a large burden on the healthcare system. Angiogenin (ANG) has recently emerged as an important stress-regulator that balances cell growth and survival. In some neurodegenerative pathologies its subcellular localization and functionality are altered, with a dramatic decrease of cytosolic ANG. Since therapeutic approaches are presently available to counteract the progression of aging-related diseases, we propose a biotechnological approach based on nanoparticles containing the antibiotic neomycin, able to block ANG in the cytosol and therefore to rescue stressed cells from death. Constitutive stressed cells, stably expressing fibrillogenic proteins, have been already obtained by our group to be used as cellular models. Nanoparticles differing in size and/or chemical composition, and possibly coated with bioactive molecules to be targeted to specific cell types, will be tested.

##### **Apolipoproteins functionalized carbon nanotubes**

Carbon nanotubes (CNT) are very hydrophobic and insoluble structures in aqueous solvents. Various apolipoproteins, or their fragments, present an amphipatic structure conferring them the ability to bind and solubilize carbon nanotubes. We will functionalize the nanotube-linked apolipoproteins with biomolecules, such as antibodies, able to mediate specific cell types

l'adesione di specifici tipi cellulari. Tali ibridi verranno utilizzati per ottenere nuovi substrati per l'adesione e la crescita cellulare.

#### **NOTOMISTA**

##### **Identificazione, modelling, produzione e caratterizzazione di peptidi e peptidomimetici antimicrobici**

I peptidi antimicrobici cationici (CAMP), componenti essenziali del sistema immunitario, a differenza degli antibiotici hanno attività battericida ad ampio spettro. Gli eucarioti superiori producono anche proteine che contengono CAMP "criptici" che vengono rilasciati all'occorrenza mediante proteolisi. Nel laboratorio del Dott. Notomista si sviluppano metodi informatici per l'identificazione dei CAMP criptici e sistemi per la loro produzione in forma ricombinate allo scopo di ottenere nuove molecole antibatteriche. Inoltre, utilizzando metodi per il modelling molecolare, si effettua la progettazione razionale di peptidi e peptidomimetici antimicrobici. E' in corso lo sviluppo di strategie per legare a peptidi e peptidomimetici piccole molecole bioattive che cooperano con il peptide nel danneggiare le cellule bersaglio in modo da trasformare i peptidi antimicrobici in "cavalli di Troia" per veicolare farmaci nelle cellule microbiche. Infine, è in corso di studio la possibilità di sfruttare i CAMP come biosurfattanti e come agenti per il rivestimento e la funzionalizzazione di superfici idrofobiche.

#### **OLIVIERI**

##### **Reattore a biofilm per la produzione intensiva di acidi dicarbossilici**

La produzione di acidi dicarbossilici da fonti rinnovabili è uno dei target dell'industria biotecnologica. Particolare attenzione è posta sia allo sviluppo di sistemi di bioconversione intensivi caratterizzati da elevata produttività specifica e sia al sfruttamento di risorse rinnovabili ed in particolare i rifiuti/reflui caratterizzati da elevato tenore di carboidrati. Tra i sistemi di bioconversione rivestono interesse nella comunità scientifica internazionale i reattori a biofilm.

adhesion. These hybrids will be used to obtain new substrates for cell adhesion and to direct cell growth.

#### **NOTOMISTA**

##### **Identification, modelling, production and characterization of antimicrobial peptides and peptidomimetics**

Cationic antimicrobial peptides (CAMPs), essential components of the immune system, unlike antibiotics have broad-spectrum bactericidal activity. In addition to CAMPs higher eukaryotes produce CAMP-Releasing Proteins which contain "cryptic" CAMPs released by proteolysis when necessary. The research group of Dr. Notomista develops computational methods for the identification of cryptic CAMPs and systems for their production in recombinant form in order to obtain new antibacterial drugs. Moreover, Dr. Notomista's group is devoted to the rational design of antimicrobial peptides and peptidomimetics through the use of molecular modelling strategies. Dr. Notomista's group also develops strategies to bind peptides and peptidomimetics to small bioactive molecules that synergize with the peptide in damaging the target cells thus turning antimicrobial peptides into "Trojan horses" able to carry drugs into microbial cells. Finally, Dr. Notomista's group studies the possible uses of CAMPs as biosurfactants and coating agents for the functionalization of hydrophobic surfaces.

#### **OLIVIERI**

##### **Biofilm reactors for the intensive production of bicarboxylic acids.**

The intensive production of bicarboxylic acids from renewable resources is one of the target of several biotechnological industries. The interest of researchers is for both the development of a bioconversion system characterized by high specific throughput and the exploitation of waste(water)s stream characterized by high sugar content. The attention is focused on biofilm reactors. A possible subject of the PhD research is the development of a biofilm reactor for the intensive

Nell'ambito del DdR lo studio dovrà essere indirizzato a: caratterizzazione cinetica del processo di bioconversione, possibilmente in condizioni di esercizio prossime a quelle di funzionamento del reattore a biofilm; sviluppo di un sistema reattorsitico a biofilm, presumibilmente a letto fisso, possibilmente integrato con il sistema di recupero e concentrazione dei prodotti; sviluppo di un modello del sistema reattoristico anche per l'interpretazione dei risultati sperimentali

### **PENNACCHIO**

#### **Sviluppo di nuovi bioinsetticidi da antagonisti naturali degli insetti**

Gli insetti parassitoidi si sviluppano a carico di altri insetti e sono utili agenti di contenimento naturale. Lo studio delle interazioni molecolari ospite-parassitoide è finalizzato alla comprensione dei meccanismi che modulano la regolazione fisiologica dell'ospite, per renderlo più idoneo allo sviluppo del parassitoide. L'isolamento e la caratterizzazione funzionale dei fattori di virulenza di origine parassitaria coinvolti e dei loro target molecolari consentono l'individuazione di nuovi bioinsetticidi di origine naturale e/o di strategie di controllo basate sui principi dell'antagonismo fra organismi viventi. Sono in corso studi su molecole capaci di alterare lo sviluppo e immunosoppressive. L'uso di tali molecole dipende fortemente dallo sviluppo di idonee strategie di rilascio ambientale, in modo da limitarne la loro degradazione, favorendone l'ingresso nell'organismo e il raggiungimento dei recettori.

#### **Immunità degli insetti e loro controllo**

Lo studio delle basi funzionali, molecolari e genetiche dell'immunità degli insetti è finalizzato alla comprensione degli intimi meccanismi biologici che regolano tale funzione e ad una loro manipolazione per lo sviluppo di nuove strategie di controllo delle specie dannose. Attualmente si sta concentrando l'attenzione su un gene da noi identificato, capace di generare fibre amiloidi funzionali coinvolte nella modulazione delle risposte immunitarie cellulari e

production of bicarboxylic acids. The items of the research may be: kinetic characterization of the bioconversion process under operating conditions close to that of a biofilm reactor; development of a biofilm reactor (packed bed or fluidized bed) integrated with the product recovery system; development of a model of the reactor/recovery system to support the interpretation of experimental data.

### **PENNACCHIO**

#### **Development of new bioinsecticides from insect natural antagonists**

Insect parasitoids are natural antagonists of other insect species used as hosts. The study of host-parasitoid interactions aims to unravel the molecular mechanisms underpinning the regulation of host physiology and its suitability for the developing parasitoid. The isolation and functional characterization of the virulence factors of parasitic origin involved and of their molecular targets allow to identify new natural bioinsecticides and/or to develop control strategies based on natural antagonism between living organisms. Molecules disrupting insect development and immunity are currently being studied. The practical use of these molecules is strongly dependent on the definition of suitable delivery strategies to protect them against degradation, favoring their entrance into the organism and the final interaction with their cognate receptors in a bioactive form.

#### **Insect immunity and control**

The study of the functional, molecular and genetic bases of insect immunity aims to unravel the mechanisms modulating the defense barriers, in order to define new pest control strategies based on the manipulation of immunocompetence. Current studies are focused on a gene we have recently identified, which encodes a protein involved in the assemblage of functional amyloids regulating both humoral and cellular immune response in insects. The silencing of this gene

umoral. Il silenziamento di questo gene genera fenotipi letali e ha la potenzialità di rendere gli insetti più vulnerabili all'attacco di antagonisti naturali. E' in corso la definizione di strategie molecolari di controllo basate sull'uso della tecnologia RNA interference (RNAi).

### **Il collasso delle colonie di api: fattori di stress coinvolti e possibili rimedi**

Le api sono particolarmente vulnerabili a diversi stress ambientali, capaci di generare squilibri biologici nelle complesse strutture sociali in cui esse vivono, spesso portandole al collasso, con conseguenze ecologiche ed economiche di enorme portata. Abbiamo contribuito alla definizione di un modello di analisi di questo fenomeno complesso, descrivendo come alcuni agenti patogeni e xenobiotici sono in grado di indurlo modulando negativamente la risposta immunitaria. Ciò rappresenta la base di partenza per l'analisi funzionale e molecolare del ruolo che altri agenti di stress possono avere nell'induzione di questa sindrome. Il quadro emergente delle complesse interazioni sottese al fenomeno del collasso consente di definire possibili rimedi su base farmacologica/biotecnologica e di gestire i regimi alimentari delle api al fine di esaltarne l'immunocompetenza.

### **PICCIALLI**

#### ***Strutture a quadrupla elica del DNA (G-Quadruplex): da possibili candidati farmaci a struttura base per costruzioni supramolecolari.***

Oligonucleotidi con sequenze ricche di guanine, capaci di formare strutture di DNA a quadrupla elica (G-quadruplex), costituiscono una classe di molecole con un crescente interesse farmacologico per il loro coinvolgimento nella regolazione dell'espressione genica, per la loro presenza nelle regioni dei promotori di numerosi oncogeni e nella modulazione dell'attività di numerose proteine. Relativamente a questo ultimo aspetto è stato scoperto che alcune strutture G-quadruplex, definite aptameri, hanno una elevata capacità di riconoscimento e di legame con

generates lethal phenotypes and lowers the immune barriers, making insects more vulnerable to their natural antagonists. New pest control strategies, based on the use of RNA interference (RNAi) technology, are currently being developed.

### **Honey bees colony collapse: stress factors and remedial actions**

Honey bees are highly sensitive to environmental stress agents, which are often able to impair the delicate biological balance governing the complex social structures in which they live. This may lead to eventual colony collapse, which has a highly negative ecological and economic impact. We have contributed to the definition of a stress model accounting for this complex phenomenon, describing how some pathogens and xenobiotics are involved in its induction by negatively affecting the honey bee immune response. This is a solid background information on which to develop further studies aiming to define the role and importance of other stress factors. The emerging scenario of the complex interactions underlying colony collapse allows to define possible remedial actions based on the use of pharmacological/biotechnological tools and on the management of bee nutrition to enhance their immunocompetence.

### **PICCIALLI**

#### **Quadruple helix DNA structures**

G-rich oligonucleotides, able to form DNA G-quadruplex secondary structures, are emerging as an interesting class of molecules with promising biological and pharmacological properties. G-quadruplexes are widely dispersed in eukaryotic genomes, and are abundant in regions of biological significance, for example, at telomeres, in the promoters of many important oncogenes. Furthermore several G-quadruplex scaffolds have the ability to recognize and bind several proteins thus modulating their activity. For example, a G-quadruplex scaffold recognizes the viral (HIV) protein gp-120, the protein thrombin and other proteins. The research on this topic will be addressed to the structural

alcune proteine biologicamente importanti (ad es. trombina, l'integrasi e la proteina gp-120 del virus HIV-1 ed altre). In particolare la ricerca in questo settore è indirizzata alla progettazione strutturale e alla sintesi di oligonucleotidi modificati formanti ottimali G-quadruplex per il riconoscimento ed il "binding" con la proteina virale (HIV) gp-120. La ricerca è tesa a produrre nuove molecole aventi struttura G-quadruplex capaci di modulare proteggere le cellule dall'infezione virale da virus HIV. In questo settore, la ricerca del gruppo del prof. Piccialli ha già prodotto nuove strutture G-quadruplex con elevata attività antivirale. Un ulteriore interesse verso le strutture G-quadruplex del DNA nasce dal fatto che possono essere utilizzate come unità base per la costruzione di strutture supramolecolari di varia utilizzazione nelle nanotecnologie. Una struttura G-quadruplex, che può essere formata da uno, due o quattro "G-rich oligonucleotides" secondo precise e definite regole di assemblaggio. Un complesso G-quadruplex, può poi multimerizzare mediante 5'- or 3'- "stacking" producendo strutture supramolecolari altamente ordinate formate da più unità di G-quadruplex. In questo campo la ricerca del gruppo del prof. Piccialli è volta alla definizione degli oligonucleotidi che formino le strutture G-quadruplex con migliori capacità alla mutimerizzazione controllata.

#### **Sintesi di Oligonucleotidi analoghi a struttura peptidonucleica (PNA) per il controllo dell'espressione genica**

Gli Acidi Peptido-Nucleici (PNA) sono dei mimici del DNA che hanno importanti applicazioni come regolatori esogeni dell'espressione genica. Nei PNA lo scheletro zucchero-fosfato è sostituito da una struttura pseudopeptidica formata da unità di N-(2-amminoetil)-glicina. Queste molecole hanno una maggiore affinità per sequenze complementari di DNA o RNA. Moltissimi lavori hanno indicato i PNA come efficienti e selettivi inibitori dell'espressione genica mediante diversi meccanismi: antigene (bersaglio DNA genomico), antisense (bersaglio mRNA) ed anti miRNA ed altri. La ricerca del gruppo del prof Piccialli

studies and to the synthesis of new modified G-quadruplex having antiviral activity. In this field the research of the group of prof. Piccialli has already produced interesting results in terms of new G-quadruplex molecules having high antiviral properties. Additional interest in G-quadruplex structures arises from the fact that they can be used as building blocks to create supramolecular structures and have a potential use in nanotechnology. As a matter of fact, the overall quadruplex scaffold can exhibit several morphologies through intramolecular or intermolecular organization of G-rich oligonucleotide strands, which can form higher-order assemblies by multimerization between G-quadruplex units. One of the identified structural moieties required for supramolecular assembly of G-quadruplexes is the presence of a stretch of guanines or other bases at the 5' or 3' termini of suitable oligonucleotides. These kind of G-quadruplex, having "adhesive" 5' or 3' ends is a research topic of the Piccialli research group. Interesting results have been already obtained on the controlled multimerization process.

#### **Synthesis of Oligonucleotides with peptidonucleic structure (NAP) for the control of gene expression**

The Peptido nucleic Acid (PNA) is a mimic of DNA having important applications in gene regulator process. In PNA the phosphatedeoxyribose backbone is replaced by uncharged N-(2-aminoethyl)-glycine (or others) linkages. These molecules are able to recognize with high affinity complementary structures of DNA or RNA. In the last few years PNAs have emerged as promising tool for gene therapeutic drugs design. PNAs were used to selectively inhibit gene expression at the transcriptional level (anti-gene strategy) or at the translational level (antisense strategy). But very recently another interesting application has emerged: it has been demonstrated that PNA based ASOs (antisense

è rivolta alla progettazione e alla sintesi di opportune sequenze di PNA contenenti modifiche strutturali e coniugazioni tese al miglioramento della penetrazione cellulare ed al riconoscimento del acido nucleico bersaglio

#### **PICCOLI**

##### **Irraggiamento con laser UV di cellule umane vitali per indurre *crosslinking* e identificare complessi funzionali di proteine di interesse biotecnologico.**

In collaborazione con un gruppo di ricercatori del Dipartimento di Fisica, il gruppo della Prof. Piccoli ha sviluppato una metodologia per indurre *crosslinking* proteina-proteina irraggiando cellule vitali con raggi laser UV. Questo è un approccio completamente innovativo per “fissare” complessi, stabili o transienti, proteina-proteina generati in un contesto fisiologico. A seguito dell’irraggiamento di cellule vitali con laser UV ultracorti, è possibile isolare e identificare partner specifici di proteine di interesse biotecnologico.

##### **Interazione di proteine con membrane biomimetiche.**

Modelli sperimentali volti allo studio delle interazioni di specifiche biomolecole con membrane cellulari hanno acquisito interesse non solo per studi meccanicistici, ma anche come strumenti per l’identificazione di specifici bersagli da utilizzare come sensori di interesse biotecnologico. Utilizzeremo membrane modello, quali le *Giant Unilamellar vesicles* (GUVs), per mimare le interazioni di biomolecole con le cellule, traendo vantaggio dall’impiego di una metodologia innovativa, *Raman Tweezers*, derivata dalla combinazione della spettroscopia Raman e della metodologia delle pinzette ottiche (*optical tweezers*) recentemente sviluppata. Gli esperimenti, effettuati in collaborazione con un gruppo di ricercatori del Dipartimento di Fisica, forniranno informazioni sia sulla struttura di singole membrane modello a contatto con le proteine in esame sia sulle variazioni conformazionali indotte nelle molecole proteiche dall’interazione con le membrane. Tra queste,

oligonucleotides) are more effective ASOs of miRNA than DNA ASOs. The research in this field is addressed to the project and to the synthesis of suitable PNA containing structural modifications inducing better cellular uptake and recognition properties towards the nucleic acid target molecules.

#### **PICCOLI**

##### **UV-laser irradiation of human living cells to crosslink and identify functional complexes of biotechnologically relevant proteins.**

In collaboration with a group of researchers at the Department of Physics, the group of Prof. Piccoli has developed a methodology to induce protein-protein crosslinking by irradiating living viable cells with UV-laser. This is a fully innovative approach to “fix” protein-protein complexes, transient or stable, formed in a physiological context. Upon irradiation of living cells with ultra-short UV-laser it will be possible to isolate and identify specific partners of biotechnologically relevant proteins.

##### **Protein interactions with biomimetic membranes.**

Experimental models aimed at studying the interactions of specific biomolecules with cell membranes gained interest not only for mechanistic studies, but also as suitable tools to identify specific targets to be used as sensors of biotechnological interest. We will use *Giant Unilamellar Vesicles* (GUVs) as membrane models to mimic biomolecules interactions with cells, taking advantage of an innovative methodology, the *Raman Tweezers*, derived by the combination of Raman spectroscopy and the recently developed “optical tweezers” methodology. The experiments, performed in collaboration with a group of researchers of the Department of Physics, will provide information either on the structure of membranes interacting with proteins under test and on proteins conformational changes induced by their interaction with membranes. This approach will be applied to a variety of membrane interacting proteins. Among these, we will study proteins associated to a disease, such as variants of apolipoprotein A-I (ApoA-I), responsible for hereditary

saranno studiate proteine associate a patologie, quali le varianti dell'apolipoproteina A-I (ApoA-I), responsabili dell'insorgenza di amiloidosi ereditarie sistemiche, patologie conformazionali caratterizzate dall'aggregazione di molecole proteiche in depositi amiloidi. Sebbene le basi molecolari della patologia siano ancora in larga parte sconosciute, è noto che le membrane cellulari giocano un ruolo chiave nel processo di fibrillogenesi; ciò sta ad indicare che l'approccio biofisico da noi proposto può rispondere ad un quesito fondamentale. Sarà, inoltre, valutata la possibilità di impiego delle GUVs quali strumenti per veicolare farmaci o molecole bioattive verso specifici bersagli o tessuti.

## **PORTA**

### **Le transglutaminasi quali strumento biotecnologico**

L'enzima transglutaminasi (TGasi; EC 2.3.2.13) appartiene ad una famiglia di enzimi capaci di catalizzare la formazione di legami isopeptidici tra il gruppo gamma-carbossamidico di un residuo di glutammina ed il gruppo epsilon-amminico di un residuo di lisina, entrambi endoproteici, dando origine ad omo- ed eteropolimeri proteici lineari o ramificati. Pertanto le TGasi, ed in particolare quella di origine microbica -che presenta particolari caratteristiche di resistenza, di non dipendenza da cationi e di attività in un ampio raggio di valori di pH- possono essere utilizzate in vitro quale efficace strumento biotecnologico per modificare la struttura e la funzione di vari peptidi e proteine in grado di agire da substrati donatori e/o accettori di acili. Nei nostri laboratori vengono condotti studi di purificazione ed immobilizzazione delle TGasi e viene indagata la loro capacità di modificare proteine di origine animale e vegetale, allo scopo di poter modulare le loro attività biologiche e le proprietà di "bioplastiche" contenenti proteine o miscele di proteine e polisaccaridi.

### **Produzione e caratterizzazione di films edibili idrocolloidali**

I films edibili idrocolloidali sono pellicole costituite da biopolimeri naturali (polisaccaridi, proteine e loro

systemic amyloidoses, which are conformational diseases based on protein-protein aggregation in amyloid deposits. Although the molecular bases of these diseases are still largely unknown, it is clear that cell membranes play a key role in the fibrillogenesis pathway; therefore, the biophysical approach we propose meets a central issue. Furthermore, experiments will be performed to verify GUVs potential use as effective carriers to deliver drugs or bioactive molecules to specific targets or tissues.

## **PORTA**

### **Transglutaminase as biotechnological tool**

Transglutaminases (TGases; 2.3.2.13) are a family of enzymes able to catalyze the formation of isopeptide bonds between endoprotein gamma-carboxamide groups of glutamine residues and epsilon-amino groups of lysine residues, giving rise to linear or branched protein homo- and heteropolymers. Therefore TGases, and in particular the microbial molecular form of the enzyme exhibiting peculiar characteristics (resistance, not cation-dependency, wide range of optimal pH), can be utilized as an effective tool in vitro to modify the structure and function of both peptides and proteins able to act as acyl donor and/or acceptor substrates for the enzyme. We carry out purification and immobilization studies of the enzyme and researches devoted to find out new TGase substrates either from animal and plant tissue to modify their biological activities or derived from industrial by-products for their possible utilization, with or without polysaccharides, as "tailored" components of new bioplastics.

### **Production and characterization of hydrocolloid edible films**

Hydrocolloid edible films are constituted by natural biopolymers (polysaccharides, protein and their

derivati) con caratteristiche di resistenza meccanica e permeabilità al vapore acqueo ed ai gas, soprattutto O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>. Per la possibilità di essere ingeriti con gli alimenti, ed essendo quasi sempre biodegradabili, tali film rappresentano possibili candidati a sostituire le plastiche tradizionali in numerosi prodotti industriali e, di conseguenza, a contrastare l'inquinamento ambientale dovuto all'uso finora spropositato dei materiali plastici. Il nostro gruppo di ricerca è impegnato da anni nella identificazione di proteine e polisaccaridi a basso costo, in quanto derivanti da prodotti alimentari di scarto (rifiuti dell'industria agroalimentare e casearia), da utilizzare nella produzione di film edibili per possibili applicazioni in campo alimentare. I diversi film da noi prodotti vengono anche caratterizzati morfologicamente, per la loro resistenza meccanica e per la loro capacità di agire da barriera al vapore acqueo e ai gas.

## **RAO**

### **Interazioni pianta-insetto e ottenimento di piante resistenti**

Lo studio delle difese dirette ed indirette delle piante contro gli insetti erbivori e i funghi fitopatogeni consente di individuare le reti geniche che controllano gli eventi molecolari alla base dell'induzione e della regolazione delle risposte di difesa. L'attività di ricerca in tale ambito si concentra sull'analisi delle variazioni metaboliche indotte nella pianta attaccata per comprendere i meccanismi molecolari di difesa e quindi ottenere piante resistenti da valutare sia in termini di efficacia che di impatto ecologico e tossicologico.

### **Studio di segnali di difesa delle piante per la formulazione di nuovi bio-pesticidi**

Alcune vie di trasduzione dei segnali "difesa" delle piante Solanacee sono modulate da piccoli peptidi segnali che controllano le difese locali e sistemiche attivate da agenti di stress biotico e abiotico. L'attività di ricerca in tale ambito si concentra sullo studio funzionale di questi peptidi finalizzato allo sviluppo di nuove molecole ad attività bioinsetticida.

derivatives) with peculiar characteristics of mechanical resistance and permeability to water vapor, oxygen and carbon dioxide. Being edible, and often biodegradable, these films may be possible candidates to substitute plastics from petroleum origin in a variety of products and, consequently, to counteract the pollution determined from the extreme use of the traditional plastics in the last fifty years. We use unexpensive raw materials originating from agro- and dairy-industrial wastes to produce edible films for a possible application of the latter in food packaging. The obtained films are also characterized both morphologically and for their mechanical and barrier properties before to investigate their specific application as coatings of specific foods.

## **RAO**

### **Plant-insect interactions and production of resistant plants**

The study of the direct and indirect plant defenses active against infestations of insect herbivores and phytopatogenic fungi can identify gene networks that control the molecular events that direct the induction and the regulation of defense responses. The research activity in this area focuses on the analysis of metabolic changes that occur in the attacked plant to understand the molecular defence mechanisms and then obtain resistant plants to be evaluated in terms of efficacy, toxicity and ecological impact.

### **Study of plant defense signals for the formulation of new bio-pesticides**

Some signal transduction "defense" pathways of the Solanaceae plants are modulated by small peptide signals that control local and systemic defenses activated by agents of biotic and abiotic stresses. The research activity in this area focuses on the functional study of these peptides for the development of new molecules with biopesticide activity.



### **Studio della diversità molecolare di colture agrarie per la difesa di filiere agroalimentari *Made in Italy***

Lo studio della diversità molecolare a livello di DNA di cultivar tradizionali e moderne rappresenta un importante tema della moderna agricoltura. Lo sfruttamento di tale diversità ha diverse applicazioni tra le quali la definizione di nuove strategie per la protezione di varietà e prodotti alimentari tipici. L'attività di ricerca in tale ambito è rivolta all'analisi *fingerprinting* di acid nucleici per l'autenticazione genetica di materie prime di origine vegetale in filiere agroalimentari rilevanti per il *Made in Italy*.

### **ROSSI**

#### **Veicolazione di farmaci e mezzi di contrasto verso *target* di interesse biotecnologico.**

Negli ultimi anni la veicolazione *target* specifica verso cellule tumorali di chemioterapici e mezzi di contrasto ha assunto un ruolo rilevante nella terapia e diagnostica oncologica. Pertanto numerosi brevetti di interesse per l'industria farmaceutica sono stati depositati recentemente. In questo contesto nel laboratorio di sintesi peptidica del gruppo cui afferisce la Prof. ssa Rossi si conducono studi per la preparazione di nanoaggregati funzionalizzati con peptidi per il riconoscimento di recettori sovraespressi in forme tumorali e caricati con farmaci di nuovo interesse combinando metodologie della sintesi chimica e chimico fisiche per la caratterizzazione strutturale e per la formulazione di nuovi aggregati supramolecolari.

### **SALATINO**

#### **Sviluppo di reattori enzimatici per processi di CCS (Carbon Capture and Storage)**

Il continuo ricorso ai combustibili fossili in sistemi di produzione energetici comporta l'incremento della concentrazione della CO<sub>2</sub> nell'atmosfera con i ben noti danni all'ambiente. La cattura e sequestro dell'anidride carbonica è quindi tra i problemi più pressanti dell'industria energetica. Tra i processi CCS proposti l'interesse negli ultimi anni è rivolto anche ai

### **Study of crop molecular diversity to protect agro-food chains *Made in Italy***

The study of the molecular diversity at DNA level of traditional and modern cultivar represents an important topic of modern agriculture. The exploitation of this diversity has several applications including the definition of new strategies for the protection of varieties and typical foodstuff. The research activity in this area focuses on the analysis of crop nucleic acid fingerprintings for the genetic authentication of vegetable raw material in agro-food chains important for the *Made in Italy* brand.

### **ROSSI**

#### **Drug and contrast agent delivery toward biotechnological target.**

In recent years, delivery to target tumor cells of chemotherapeutics and contrast agents has played a crucial role in cancer diagnostics and therapy. Therefore numerous patents of interest to the pharmaceutical industry have been filled recently. In this context, in the lab of peptide synthesis of the group upon Prof. Rossi, studies are achieved for the preparation of nanoclusters functionalized with peptides in order to recognize receptors overexpressed in tumor forms and loaded with new drugs by combining chemical synthesis methods and physicochemical properties for structural characterization and formulations of novel supramolecular aggregates.

### **SALATINO**

#### **Enzymatic reactors for CCS (Carbon Capture and Storage) processes**

Power systems fuelled by fossil resources are the main sources of carbon dioxide in the environment. According to the environment policy, the CO<sub>2</sub> concentration should be reduced and that released from stationary systems must be captured. Researchers are investigating CCS processes even taking into account the spectrum of features of CO<sub>2</sub>-bearing streams (CO<sub>2</sub> concentration,

sistemi biomimetici: unità di cattura della CO<sub>2</sub> assistiti da anidraasi carbonica. Una soluzione è costituita dalle unità di assorbimento in solventi acquosi in cui l'enzima catalizza la reazione di idratazione della CO<sub>2</sub>. Lo sviluppo industriale di queste unità richiede il ricorso al confinamento dell'enzima nell'unità di assorbimento con tecniche che non penalizzino la cinetica complessiva del processo. Il sistema di confinamento dell'enzima (immobilizzazione, aggregazione, ..) dovrà contemplare non solo aspetti relativi alla cinetica ma anche la possibilità del recupero "agevole" dell'enzima. Lo studio richiede: i) la selezione di forme di anidraasi carbonica attive nelle condizioni di esercizio tipiche delle unità di assorbimento della CO<sub>2</sub> da fumi di combustione; ii) selezione e messa a punto di un sistema di confinamento e caratterizzazione delle cinetiche/attività del sistema enzimatico; iii) sviluppo di un'unità di assorbimento biomimetico; iv) sviluppo di un modello per l'interpretazione dei dati sperimentali.

gas composition, stream rate, temperature, ...). Recent researches have highlighted the potential of the biomimetic approach for CCS processes: capture units based on carbon anhydrase. An example is the absorption of CO<sub>2</sub> into aqueous solutions catalysed by carbon anhydrase. The design/optimisation of these units call for the confinement of the enzyme in the absorption unit having care do not lost activity/efficiency of the enzyme. The PhD activity should be focused on: i) selection of carbonic anhydrase form to be adopted in absorption units fed with exhaust gas streams; ii) selection of an enzyme confinement techniques and characterization of the absorption kinetics and enzyme activity of the confined-enzyme; iii) development of a absorption biomimetic unit; iv) development of a mathematic model to support the data interpretation.