

Progetti di tirocinio proposti dalla Dott.ssa Barbara Zambelli

Studi biochimico-strutturali sulle proteine responsabili dell'impatto del nichel sulla salute umana

(numero di posti disponibili 1, inizio attività Marzo 2018)

Il ruolo del nichel come cofattore in enzimi e fattori di patogenicità batterici è ben noto. Tuttavia, nell'uomo il ruolo di questo metallo, microelemento della dieta, è poco chiaro. A oggi, non si conoscono enzimi umani contenenti nichel, e si pensa che il ruolo del nichel per l'uomo sia correlato alla presenza di nichel-enzimi nel microbiota intestinale. Di contro, un eccesso di nichel può effetti negativi per l'uomo, quali l'induzione di carcinogenesi e l'allergia. Il progetto si propone di caratterizzare alcune proteine che legano nichel e che sono responsabili delle conseguenze negative di questo metallo sulla salute umana, per individuare nuovi target farmacologici per la cura e la prevenzione del tumore indotto da nichel o dell'allergia al nichel. Le proteine d'interesse saranno prodotte per via ricombinante, purificate, e la loro struttura secondaria, terziaria e quaternaria sarà valutata con tecniche spettroscopiche e di scattering della luce. L'interazione delle proteine con partner specifici o cofattori sarà studiata con calorimetria.

Studio delle interazioni proteina-proteina nel sistema di attivazione dell'ureasi di *H. pylori*

(numero di posti disponibili 1, inizio attività Marzo 2018, in collaborazione con Elisa Mileo, CNRS, Marsiglia)

Helicobacter pylori è un batterio patogeno che colonizza lo stomaco di gran parte della popolazione umana, associato a patologie gastriche come l'ulcera e il cancro. La sua sopravvivenza nell'ambiente acido dello stomaco dipende dall'attività dell'enzima ureasi. Il nichel, contenuto nel sito attivo, è inserito nell'enzima dall'azione concertata di quattro proteine accessorie. Il progetto di ricerca si propone di studiare l'interazione tra le chaperonine dell'ureasi in soluzione, utilizzando la tecnica dello 'spin labeling' combinata alla spettroscopia EPR (Risonanza Paramagnetica Elettronica), particolarmente adatta a studiare la conformazione proteica e le interazioni proteina-proteina (PPI) in un sistema complesso e dinamico come quello proposto. Gli esperimenti saranno effettuati in vitro e in cellula. I risultati ottenuti miglioreranno la comprensione del sistema per sviluppare in seguito molecole terapeutiche, che inibiscano l'attivazione dell'ureasi di *H. pylori*. La produzione di proteine e le analisi biochimiche e biofisiche saranno effettuate presso l'UniBO, mentre la spettroscopia EPR si svolgerà presso il CNRS di Marsiglia, sotto la supervisione della Dott.ssa Elisa Mileo.

Progetti di tesi presso collaboratori esteri:

Dr. Elisabetta MILEO *Laboratoire de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines* (BIP), Marsiglia (Francia) – 2 posti da Febbraio 2018

In cell EPR: a powerful approach to study proteins dynamics inside cells.

The interior of living cells is extremely concentrated and complex; in living cells, proteins function in an environment wherein they specifically interact with other proteins, nucleic acids, ligands and cofactors, and are subjected to an extreme "macromolecular crowding". It is now appreciated that the biophysical properties of proteins inside cells are modulated by the "supercrowded", heterogeneous cytoplasm.

In our laboratory we develop an innovative approach based on Site-Directed Spin Labeling (SDSL) combined with Electron Paramagnetic Resonance (EPR) spectroscopy to investigate and understand proteins structural dynamics at the **molecular level inside cells**.

The first step of the project will be the development of a protocol to deliver nitroxide-labeled proteins inside bacterial cells. Once the delivery of labelled protein inside cells optimized, in order to gain more insights on the influence of the cellular context on intermolecular binding events, the student will focus on the delivery of the protein of interest inside bacterial cell in which the partner protein has been overexpressed.

Dr. Fabio Parmeggiani, University of Bristol, Bristol, UK

1 posto da Settembre 2017

Design and applications of modular protein systems

Proteins perform most of the functions in biological systems, from structural support, to movement, communication and catalysis. One of the goals of protein engineering is to be able to precisely design three-dimensional structures that can host specific functionalities.

The recent developments of computational methods allow design of proteins formed by identical repeating units, which are stable up to 95°C and resistant to chemical denaturants. Our approach to design is to use repeating units as building blocks instead of redesigning proteins from scratch each time, improving speed and reliability, and reducing time and costs. This building block approach allows us to build rigid structures with precise shapes.

We focus on the development of computational and experimental methods for the rapid design of custom structures to be used as protein binders, functional nanomaterials, biosensors, scaffolds for organizing catalytic centres or surface patterns, and could become future diagnostic tools and therapeutics.

Some of the specific goals are:

- design of asymmetric structures and shape control
- integration of functional domains by docking and interface design
- size control and protein assembly
- design of hetero-oligomers from homo-oligomers for multiple functionalization

Our work relies on computational protein design, using mainly the Rosetta modelling software, molecular biology and protein biochemistry. Designed proteins are expressed and purified in bacteria and structurally characterized by small angle X-ray scattering and potentially X-ray crystallography.