COGNOME E NOME DOCENTE: PORCELLI Anna Maria

INSEGNAMENTO: Biochimica cellulare e strutturale

SEDE DEL LAVORO SPERIMENTALE: Dip di Farmacia e Biotecnologie, Via Selmi 3, Bologna

PERIODO: da marzo 2018

NUMERO POSTI DISPONIBILI: 1

REQUISITI RICHIESTI ALLO STUDENTE: in debito di 1 esame, flessibilità di orario, entusiasmo, voglia d'imparare. Sono previste due settimane di prova pratica in laboratorio.

EVENTUALI CONTATTI CON ALTRI LABORATORI ED ENTI DI RICERCA ITALIANI ED ESTERI PER LO SVOLGIMENTO DELLA TESI/TIROCINIO: Contattare il Docente via e-mail.

DISPONIBILITA' A SVOLGERE ATTIVITA' DI SUPERVISIONE PER TESI/TIROCINI SVOLTI PRESSO ALTRI LABORATORI O ENTI DI RICERCA O AZIENDE: SI

ARGOMENTO 1: Mutazioni del DNA mitocondriale e cancro

Il contributo delle mutazioni del DNA mitocondriale (mtDNA) e delle alterazioni funzionali della fosforilazione ossidativa ad esse associate nella progressione tumorale è ancora dibattuto, dato che tali mutazioni possono sia stimolare che inibire il potenziale tumorigenico delle cellule tumorali. Recenti studi effettuati dal nostro gruppo di ricerca hanno dimostrato che le alcune mutazioni nel mtDNA ed in particolare quelle che causano il disassemblaggio del complesso I della catena respiratoria (CI) inibiscono la crescita tumorale sia in vitro che in modelli animali. E' stato inoltre dimostrato che in questi tumori esiste una stretta correlazione tra la mancanza del CI e la degradazione del fattore indotto da ipossia (HIF1 α), il quale regola i processi di adattamento metabolico ed ipossico necessari per la progressione verso la malignità. I livelli di HIF1 α sono modulati a livello post-trascrizionale dalle prolin-idrossilasi (PHDs) la cui attività dipende dalla pO₂ e dai livelli di α -chetoglutarato (α KG) e succinato (SA), intermedi del ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA). In normossia le PHDs idrossilano HIF1 α e lo indirizzano al proteasoma, inducendone la degradazione. Invece, in ipossia le PHDs non sono attive e permettono la stabilizzazione di HIF1 α e la sua attività trascrizionale. Recentemente, abbiamo dimostrato che il disassemblaggio del CI induce un accumulo di NADH e di α KG permettendo la destabilizzazione cronica di HIF1 α anche in condizioni di normossia (pseudonormossia) inibendo la crescita tumorale sia in vitro che in vivo. Tuttavia, è stato riportato che in un modello di cancro della mammella l'aumento del consumo di NADH riduce il potenziale tumorigenico e la formazione di metastasi mediante inibizione del pathway regolato da Akt/mTORC1 ed induzione dell'autofagia. È dunque evidente come il ruolo dell'omeostasi del NADH e del TCA nella regolazione della progressione tumorale sia ancora da definire. Inoltre, risulta chiaro come il CI possa rappresentare un potenziale target terapeutico nel cancro, in particolare per quei tumori dipendenti dalla fosforilazione ossidativa. L'obiettivo di questo progetto di ricerca è quello di chiarire i meccanismi molecolari che correlano l'induzione della pseudonormossia con l'arresto della crescita tumorale in assenza del CI. In particolare, si analizzerà come i livelli di NADH, diversamente regolati dalle mutazioni nel genoma mitocondriale, regolino l'adattamento ipossico e metabolico, l'autofagia e, in ultima istanza, la progressione tumorale. Inoltre, questo progetto si propone di dimostrare che l'induzione della pseudonormossia altera il potenziale tumorigenico sia in vitro che in vivo in diversi modelli tumorali. A tale scopo verranno utilizzati composti che inducono (i) un completo disassemblaggio del CI, (ii) un aumento dei livelli di NADH, (iii) l'attivazione delle PHDs mediante accumulo di α KG.

ARGOMENTO 2: Riprogrammazione metabolica in cellule tumorali

Per favorire la continua proliferazione e adattarsi a condizioni ambientali avverse, le cellule tumorali devono riprogrammare il loro metabolismo. In particolare, la regolazione delle reazioni anaplerotiche del ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA) sostiene la plasticità metabolica richiesta dalle cellule tumorali. Ad esempio, le cellule tumorali con difetti della catena respiratoria preferiscono la carbossilazione riduttiva della glutammina come principale fonte di carbonio per la biosintesi. Inoltre, il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato che la mancanza di complesso respiratorio I (CI) induce un grave difetto bioenergetico che altera profondamente lo stato metabolico delle cellule tumorali e che può concorrere all'incapacità di queste cellule di adattarsi alla scarsità di nutrienti e ossigeno, inibendo così progressione tumorale. Per comprendere la risposta metabolica delle cellule tumorali alla mancanza del CI, abbiamo generato una serie di cloni di osteosarcoma 143B e di colon carcinoma HCT116 mancanti della subunità NDUFS3 del CI attraverso tecnologie di gene editing. Le cellule NDUFS3-KO hanno evidenziato grave difetto bioenergetico che ne impedisce la crescita in condizioni di stress metabolico e ne stimola il metabolismo glicolitico. In questi modelli si andranno ad analizzare i livelli dei metaboliti del TCA, la carbossilazione della glutammina e il metabolismo lipidico.

ARGOMENTO 3: Ruolo del Complesso I della catena respiratoria nella regolazione del bilancio tra biogenesi e degradazione dei mitocondri

La dinamica del network mitocondriale è strettamente dipendente dal bilancio tra i meccanismi di biogenesi, fissione/fusione e degradazione (mitofagia) di questi organelli. Questi processi sono strettamente controllati da un punto di vista molecolare coinvolgendo varie proteine capaci di regolare una sorta di “segnalazione” del mitocondrio al nucleo. Come e se il Complesso I partecipa alla regolazione della biogenesi e degradazione di questi organelli e come questi due processi possono contribuire alla regolazione della tumorigenesi *in vitro* ed *in vivo* non è ancora chiaro. In questo contesto, utilizzando modelli cellulari tumorali mancanti del Complesso I, il processo di mitofagia e biogenesi mitocondriale verrà analizzato.

Articoli pubblicati dal laboratorio

1. Porcelli AM, et al. A unique combination of rare mitochondrial ribosomal RNA variants affects the kinetics of complex I assembly. *Int J Biochem Cell Biol.* 2016; 2. Lee J, et al. Dysregulation of Parkin-mediated mitophagy in thyroid Hürthle cell tumors. *Carcinogenesis.* 2015; 3. Vatrinet R, et al. Targeting respiratory complex I to prevent the Warburg effect. *Int J Biochem Cell Biol.* 2015; 4. Iommarini L, et al. Different mtDNA mutations modify tumor progression in dependence of the degree of respiratory complex I impairment. *Hum Mol Genet.* 2014; 5. Calabrese C, et al. Respiratory complex I is essential to induce a Warburg profile in mitochondria-defective tumor cells. *Cancer Metab.* 2013; 6. Gasparre G, et al. A mutation threshold distinguishes the antitumorigenic effects of the mitochondrial gene MTND1, an oncojanus function. *Cancer Res.* 2011.