

Progetto di Ricerca e Piano delle Attività

Studio di reazioni enzimatiche e di processi biologici tramite risonanza magnetica nucleare risolta nel tempo

Il progetto di ricerca dell'assegnista si inserirà nel quadro delle attività previste nell'ambito del progetto PRIN 2022 “*Time-resolved magnetic resonance to investigate dynamic events in biological systems and biotransformations*” finanziato dall'Unione Europea - NextGenerationEU (codice proposta 2022WANFH5, CUP J53D23007660001), che si propone di sviluppare nuovi metodi di spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR) per rendere più efficiente l'analisi in tempo reale di reazioni chimiche/enzimatiche e di processi biologici come biotrasformazioni e interazioni proteina-legante in cellula. Il presente progetto si concentra sulla messa a punto e ottimizzazione di un sistema in flusso (bioreattore NMR) che consenta di analizzare in tempo reale cellule di origine umana e di mantenerle in vita durante l'analisi. Il bioreattore NMR verrà utilizzato per studiare i processi metabolici cellulari in funzione di agenti esterni, e per monitorare interazioni tra molecole attive e proteine target espresse all'interno delle cellule. La parte sperimentale del progetto verrà svolta presso il Consorzio Interuniversitario di Risonanze Magnetiche di Metallo Proteine (CIRMMP), di cui l'Università di Bologna fa parte, che ha sede nel Campus di Sesto Fiorentino dell'Università di Firenze.

Piano delle attività

- 1) Implementazione e ottimizzazione di procedure di immobilizzazione delle cellule all'interno di idrogel e/o di matrici extracellulari, e misura della vitalità cellulare post-immobilizzazione.
- 2) Setup e ottimizzazione dei parametri sperimentali del bioreattore NMR.
- 3) Acquisizione di dataset NMR risolti nel tempo su campioni di cellule trattate con miscele di metaboliti / molecole attive verso un target intracellulare.
- 4) Analisi dei dati tramite metodi di analisi multivariata (sviluppati dall'Unità di Firenze del PRIN).

Research Project and Activity Plan

Monitoring enzymatic reactions and biological processes by time-resolved nuclear magnetic resonance

The research project will be part of the activities planned within the PRIN 2022 project “*Time-resolved magnetic resonance to investigate dynamic events in biological systems and biotransformations*” funded by the European Union – NextGenerationEU (grant no. 2022WANFH5, CUP J53D23007660001), which aims at developing novel nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy methods to improve time-resolved analysis of chemical/enzymatic reactions and biological processes such as biotransformations and protein-ligand interactions occurring in cells. This project will focus on the set up and optimization of a flow system (NMR bioreactor) that allows real-time analysis of human-derived cells maintaining their viability during the analysis. The NMR bioreactor will be applied to the analysis of cellular metabolic processes as a function of external agents, and to monitor interactions between active compounds and intracellularly expressed target proteins. The experimental part of the project will be carried out at the Interuniversity Consortium for Magnetic Resonance of Metallo Proteins (CIRMMP), to which the University of Bologna is part, located in the Sesto Fiorentino Campus of the University of Florence.

Activity Plan

- 1) Implementation and optimization of cell immobilization protocols within hydrogels and/or extracellular matrices, and cell viability assessment after immobilization.
- 2) Set up and optimization of the NMR bioreactor experimental parameters.
- 3) Acquisition of time-resolved NMR datasets on samples of human cells treated with mixtures of metabolites / active compounds towards an intracellular target.
- 4) Data analysis with multivariate methods (developed by the PRIN Florence Unit).