



PROGRAMMA FORMATIVO PER UNA BORSA DI STUDIO PER GIOVANI LAUREATI

TITOLO:

Studio di enzimi vegetali inattivanti i ribosomi (RIP) a scopo farmacologico: valutazione della resistenza della saporina ai processi di derivatizzazione chimica e identificazione di nuove molecole ad attività RIP

TUTOR:

Professoressa Letizia Polito; Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche; Università di Bologna

BREVE SINTESI DEL PIANO SPERIMENTALE:

INTRODUZIONE

Le proteine inattivanti i ribosomi (Ribosome-Inactivating Proteins, RIP) sono una classe di proteine vegetali conosciute da oltre un secolo. Fin dalla loro scoperta, queste proteine hanno suscitato un notevole interesse scientifico per l'importanza che assumono nella salute umana, sia dal punto di vista patogenetico che terapeutico. L'interesse per le RIP è ulteriormente aumentato negli ultimi anni, perché possono essere coniugate chimicamente ad anticorpi o altri carrier (fattori di crescita, ormoni, citochine, etc.), specifici per le cellule bersaglio del carrier, cellule che si intende distruggere in quanto responsabili di uno stato patologico.

Tra tutte le RIP, la saporina rappresenta un valido candidato per la realizzazione di coniugati a scopo farmacologico in quanto non solo è resistente alla denaturazione, alla proteolisi e a ripetuti cicli di congelamento-scongelo, ma mantiene anche la propria attività enzimatica dopo le modificazioni richieste per la derivatizzazione e la coniugazione. La derivatizzazione è un processo chimico che tramite l'utilizzo di reagenti eterobifunzionali permette di inserire nella struttura della tossina e del carrier scelto gruppi tiolici (-SH) reattivi. L'abbondanza di immunotossine o coniugati contenenti saporina-S6, ottenuti per via chimica, mostra che essa conserva le sue proprietà enzimatiche e citotossiche dopo i processi di derivatizzazione e coniugazione. È stato anche osservato che la saporina-S6 innesca percorsi multipli di morte cellulare, rendendo molto difficile la selezione di mutanti RIP-resistenti. Nonostante questo, in letteratura non si trovano informazioni dettagliate sulla resistenza della saporina-S6 ai processi di derivatizzazione con diversi agenti eterobifunzionali e in diverse condizioni sperimentali.

OBIETTIVI

Questo progetto si propone come obiettivo principale approfondire le conoscenze sulla resistenza della saporina alla modificazione chimica per la realizzazione futura di coniugati a scopo farmacologico. Nello specifico, sarà analizzato il processo di derivatizzazione della RIP, confrontando l'effetto sulla saporina di diversi reagenti eterobifunzionali a varie concentrazioni, valutando il numero di gruppi funzionali inseriti e l'eventuale alterazione dell'attività enzimatica e citotossica della saporina.

Ulteriore obiettivo sarà inoltre investigare la presenza di attività RIP in piante in cui non è stata ancora descritta, allo scopo di identificare nuove molecole ad attività enzimatica RIP meglio tollerate dall'individuo, da utilizzare sempre a scopo farmacologico. In caso positivo, si procederà con la purificazione e caratterizzazione di queste nuove RIP.



Il/La borsista verrà formato/a all'acquisizione delle competenze necessarie per il raggiungimento degli obiettivi prefissati.

METODOLOGIE

Il progetto si basa sull'uso delle seguenti metodologie:

- Modificazione chimica delle proteine, mediante inserzione di agenti eterobifunzionali.
- Valutazione dell'attività enzimatica delle RIP in vitro in sistemi cell-free.
- Valutazione dell'attività biologica delle RIP in sistemi cellulari.
- Estrazione e purificazione di proteine da fonti vegetali, mediante tecniche cromatografiche.
- Caratterizzazione chimico-fisica delle proteine.