



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

Bologna, 21 novembre 2024

Alla Direttrice, Prof.ssa Barbara Monti
Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie
Sede.

Oggetto: richiesta istituzione Borsa di studio per attività di ricerca post-laurea.

Il sottoscritto Giovanni Perini, in qualità di Responsabile Scientifico, propone l'istituzione di una Borsa di ricerca della durata di n. 10 mesi, per una attività sul tema "Caratterizzazione funzionale del complesso proteico E2F3a/MYCN in cellule di Neuroblastoma Umano".

L'oggetto dell'attività di ricerca, da svolgersi presso il Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, è riportato in allegato 1.

Il finanziamento della borsa di ricerca, per un importo complessivo di € 12.000, graverà sui fondi AIRC (parte non rendicontabile)

Requisiti di ammissione

-Laurea in Biotecnologie Molecolari, Biotecnologie Mediche, Biotecnologie Farmaceutiche, Biologia Molecolare e Cellulare o con profili affini

Criteri di selezione:

Il punteggio complessivo non potrà essere superiore a 100 punti e sarà attribuito secondo il seguente schema:

a) Curriculum vitae e titoli di merito dei candidati, fino a un massimo di 30 punti, come segue:

- Voto di laurea Magistrale
- Periodi di studio e/o ricerca all'estero
- Premi di studio e/o ricerca
- Corsi di formazione
- Altre Lauree o titoli di studio
- Pubblicazioni su riviste con Impact Factor.
- Partecipazione a congressi (poster o comunicazioni orali).

b) Colloquio, fino a un massimo di 70 punti.

Si propone la seguente Commissione giudicatrice:

- Prof. Giovanni Perini
- Prof. Francesco Chemello
- Prof. Nicola Facchinello

Supplenti

- Prof. Giorgio Milazzo
- Prof.ssa Elena Bacchelli

Firma

F.to digitalmente*

*Documento sottoscritto con firma digitale ai sensi del D. Lgs. 7 marzo 2005, n. 82 e del D.P.C.M. 22 febbraio 2013 e ss.mm.ii.

PROF. GIOVANNI PERINI

Via Francesco Selmi 3 | 40126 Bologna | Italia | Tel. + 39 051 2094167 | giovanni.perini@unibo.it



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

All. 1

Titolo: Caratterizzazione funzionale del complesso proteico E2F3a/MYCN in cellule di Neuroblastoma Umano

Introduzione.

Il neuroblastoma metastatico è un tumore particolarmente aggressivo che deriva dalla cresta neurale e che si presenta tipicamente come una grande massa addominale lungo la colonna vertebrale o nella porzione midollare della ghiandola surrenale [1,2]. E' altresì caratterizzato dall'amplificazione dell'oncogene MYCN presente in circa il 50% dei casi ad alto rischio [3]. La sovra-espressione specifica di MYCN nella cresta neurale è sufficiente a guidare l'insorgenza e la progressione del tumore in vertebrati come il topo e lo zebrafish [4, 5]. In particolare, l'amplificazione di MYCN rappresenta al momento il fattore prognostico più importante e tristemente negativo per la diagnosi del neuroblastoma. Come ormai noto da una letteratura scientifica molto ricca, i fattori MYC (c-MYC e MYCN) sono potenti fattori di trascrizione che, formando etero-dimeri con la proteina partner MAX, promuovono la trascrizione legandosi a specifiche sequenze di DNA dette E-Box presenti nei promotori genici. [6, 7].

Una recente analisi, svolta su 11000 tumori di varia origine e natura e che rappresentano 33 diverse neoplasie adulte, ha mostrato che l'amplificazione di oncogeni della famiglia MYC (MYC, MYCN o L-MYC) è presente nel 28% di tutti i tumori [1]. L'amplificazione dei geni MYC(N) nella cellula tumorale implica la sovra-espressione delle rispettive proteine, modificando inevitabilmente la distribuzione del complesso MYC(N)/MAX sul DNA genomico. Inoltre, molti studi, tra cui anche alcuni condotti nel nostro laboratorio dimostrano che MYCN esercita la sua attività globale, interagendo fisicamente con una pletera di altri fattori trascrizionali e regolatori della cromatina influenzando così uno o più livelli del processo trascrizionale (inizio, allungamento, attivazione o repressione/silenziamento).

Tra questi interlocutori, E2F3 ha attirato la nostra attenzione in quanto pensiamo esso possa stabilire un asse funzionale con MYCN per stabilire almeno in parte il programma oncogenico. Tre principali informazioni rafforzano la nostra ipotesi. Innanzitutto, E2F3 è un potente marcatore di esito clinico in diverse coorti di pazienti con neuroblastoma con un profilo molto simile a quello di MYCN. In secondo luogo, diversi i risultati preliminari del nostro laboratorio indicano che E2F3 è richiesto per l'espressione di MYCN. Terzo, l'impiego di tecniche di mappatura in vivo di interazioni proteina-proteina (proximity biotinylation) ci dicono che E2F3 è un diretto interattore di MYC(N). E2F3 è un fattore trascrizionale appartenente alla famiglia E2F ed è coinvolto nella progressione del ciclo cellulare.

PROF. GIOVANNI PERINI

Via Francesco Selmi 3 | 40126 Bologna | Italia | Tel. + 39 051 2094167 | giovanni.perini@unibo.it



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

Come per la maggior parte dei fattori E2F, la funzione E2F3 è controllata dalla proteina retinoblastoma (pRB) e da Chinasi Ciclino-dipendenti (CDKs) che hanno lo scopo di regolare la trascrizione dei geni del ciclo cellulare. E' interessante notare che in circa il 10% percento dei casi di Retinoblastoma, tumore pediatrico della retina, noto per essere causato da mutazioni in RB1, MYCN è amplificato in un contesto in cui RB1 non è mutato. Anche nei neuroblastomi con MYCN amplificato RB1 è selvatico nel 97% dei casi analizzati.

Qui, presentiamo l'ipotesi che, nel neuroblastoma, l'oncoproteina MYCN possa interagire fisicamente con E2F3 superando lo stretto controllo esercitato da RB1 sull'attività di E2F3 [10]. Questo nuovo complesso proteico sembra originarsi in presenza di alti livelli di MYCN e indipendentemente dallo stato di RB1 della cellula tumorale. Inoltre, il complesso sembra riconoscere selettivamente un insieme specifico di geni la cui alterata espressione favorisce la promozione dell'inizio e/o progressione del tumore.

Sulla base di questi risultati preliminari, desideriamo ricostruire le dinamiche della formazione del complesso MYCN/E2F3 e in particolare come quest'ultimo impatta sulla biologia dei tumori che presentano l'amplificazione di MYCN, con la prospettiva di identificare nuovi bersagli terapeutici per lo sviluppo di più efficaci protocolli di cura.

Piano esecutivo e di Formazione

Per rispondere alle domande di cui sopra, il/la borsista si occuperà di un obiettivo principale. ovvero definire i determinanti molecolari richiesti per la formazione del complesso MYCN/E2F3 in neuroblastoma.

A tale scopo il/la borsista utilizzerà tecnologie molecolari all'avanguardia che contemplano: a) la purificazione di complessi proteici attraverso cromatografia per affinità, co-immunoprecipitazione e GST-pull down; b) Utilizzo della tecnica di "Proximity Biotinylation per la mappatura in vivo di interazioni proteina-proteina [8,9]. Il/la borsista avrà la possibilità di interagire con ricercatori senior del laboratorio che hanno ampia esperienza con le metodologie sopra descritte e si avvarrà anche di una recente e importante collaborazione con il gruppo della Prof.ssa Linda Penn dell'Università di Toronto che ha pionieristicamente messo a punto le tecniche di mappatura in vivo delle interazioni tra proteine in cellule di mammifero.

L'attività, la crescita professionale e la produttività del/la borsista saranno monitorate nel contesto di incontri programmati dal gruppo di ricerca a scadenze fisse, in cui il/la borsista presenterà i dati del proprio lavoro descrivendone le eventuali difficoltà incontrate, le modalità sperimentali con cui tali difficoltà sono state superate e i progressi nell'attività svolta.

PROF. GIOVANNI PERINI

Via Francesco Selmi 3 | 40126 Bologna | Italia | Tel. + 39 051 2094167 | giovanni.perini@unibo.it



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

Bibliografia relativa al progetto

- [1] Schaub FX, Dhankani V, Berger AC, et al. Pan-cancer Alterations of the MYC. *Oncogene and Its Proximal Network across the Cancer Genome Atlas. Cell Syst.* 2018; 6(3):282-300.
- [2] Kalkat M, De Melo J, Hickman KA, et al. MYC Deregulation in Primary Human Cancers. *Genes (Basel).* 2017; 8(6).
- [3] Schwab M MYCN in neuronal tumours. *Cancer Lett.* 2004; 204(2):179-87.
- [4] Weiss WA, Aldape K, Mohapatra G, et al. Targeted expression of MYCN causes neuroblastoma in transgenic mice. *EMBO J.* 1997; 16(11):2985-95.
- [5] Zhu S, Look TA. Neuroblastoma and Its Zebrafish Model. *Adv Exp Med Biol.* 2016; 916:451-78.
- [6] Zimmerman MW, Liu Y, He S, et al. MYC Drives a Subset of High-Risk Pediatric Neuroblastomas and Is Activated through Mechanisms Including Enhancer Hijacking and Focal Enhancer Amplification. *Cancer Discov.* 2018;8(3):320-35.
- [7] Nie Z, Hu G, Wei G, et al. c- Myc is a universal amplifier of expressed genes in lymphocytes and embryonic stem cells. *Cell.* 2012;151(1):68-79.
- [8] Rajbhandari P, Lopez G, Capdevila C, et al. Cross-Cohort Analysis Identifies a TEAD4-MYCN Positive Feedback Loop as the Core Regulatory Element of High-Risk Neuroblastoma. *A. Cancer Discov.* 2018 May;8(5):582-599.
- [9] Kalkat M, Resetca D, Lourenco et al.. MYC Protein Interactome Profiling Reveals Functionally Distinct Regions that Cooperate to Drive Tumorigenesis *Mol Cell.* 2018 Dec 6;72(5):836-848.e7.
- [10] Chen HZ, Tsai SY, Leone G. Emerging roles of E2Fs in cancer: an exit from cell cycle control. *Nat Rev Cancer.* 2009 Nov;9(11):785-9



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

PROF. GIOVANNI PERINI

Via Francesco Selmi 3 | 40126 Bologna | Italia | Tel. + 39 051 2094167 | giovanni.perini@unibo.it