



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

All. 1 – Piano delle attività

- Progetto di ricerca correlato all’incarico di ricerca:

La fotosintesi e la respirazione sono processi strettamente collegati nel metabolismo vegetale, ma i meccanismi di comunicazione tra mitocondri e cloroplasti sono ancora poco chiari. Il progetto PRIN 2022 SCORRIMENTO dal titolo “Investigation of the essential role of mitochondrial respiration in plants metabolism – InMeta” studia queste interazioni nel muschio *Physcomitrium patens*, che permette di analizzare mutanti mitocondriali altrimenti letali. Analizzando l’impatto dei difetti respiratori su fotosintesi ed energia cellulare, il progetto mira a chiarire il dialogo mitocondrio-cloroplasto e a migliorare la produttività agricola.

- Descrizione delle attività di assistenza alla ricerca che saranno affidate al titolare dell’incarico:

Il titolare dell’incarico svolgerà attività di assistenza alla ricerca volte allo studio dell’impatto delle alterazioni della respirazione mitocondriale (OXPHOS) sui processi di fissazione del carbonio e sul metabolismo dell’amido in *Physcomitrium patens*. L’attività comprenderà l’analisi della capacità di fissazione della CO₂ in piante WT e mutanti respiratori mediante lo studio dell’attività di enzimi chiave del ciclo di Calvin-Benson, tra cui fosforibulokinasi e GAPDH, in diversi momenti del fotoperiodo. Tali analisi includeranno la valutazione della regolazione redox mediata dai sistemi tioredossinici attraverso saggi enzimatici e analisi di gel shift accoppiate a western blot. In continuità con lo studio del ciclo di Calvin-Benson, il titolare analizzerà *in vivo* il metabolismo dell’amido nei mutanti respiratori, valutando i processi di sintesi e degradazione mediante saggi enzimatici su diversi substrati. L’attività comprenderà inoltre il clonaggio, l’espressione, la purificazione e la caratterizzazione di enzimi del metabolismo dell’amido espressi in modo ricombinante.

- Piano delle attività:

1. *In vivo*: analisi degli enzimi del ciclo di Calvin-Benson e del metabolismo dell’amido in mutanti respiratori

- Campionamento di *Physcomitrium patens* WT e mutanti OXPHOS in diversi momenti della giornata,
- Valutazione dell’attività di alcuni enzimi chiave del ciclo di Calvin-Benson (ad es. PRK e GAPDH).
- Studio della regolazione redox tioredossina-dipendente mediante saggi enzimatici e analisi di gel shift accoppiate a western blot.
- Valutazione dei processi di sintesi e degradazione dell’amido tramite saggi enzimatici su diversi substrati.



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

- Integrazione dei dati sul metabolismo dell'amido con l'attività del ciclo di Calvin-Benson per valutare il coordinamento metabolico.

2. *In vitro*: produzione e caratterizzazione di enzimi ricombinanti

- Clonaggio dei geni che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo dell'amido.
 - Espressione eterologa e purificazione degli enzimi ricombinanti.
 - Caratterizzazione biochimica degli enzimi ricombinanti.
- Quantificazione figurativa delle attività annue, ai fini della rendicontazione dei costi sui progetti di ricerca:

1720 ore annue

X 1500 ore annue (nel solo caso in cui sia previsto da specifiche iniziative di finanziamento, es. FIS, PNRR, ...)



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

- Progetto di ricerca correlato all'incarico di ricerca in inglese:

Photosynthesis and respiration are closely linked processes in plant metabolism, but the mechanisms of communication between mitochondria and chloroplasts are still poorly understood. The PRIN 2022 SCORRIMENTO "Investigation of the essential role of mitochondrial respiration in plants metabolism – InMeta" project studies these interactions in the moss *Physcomitrium patens*, which allows the analysis of otherwise lethal mitochondrial mutants. By examining how respiratory defects affect photosynthesis and cellular energy, the project aims to clarify mitochondria–chloroplast cross-talk and improve crop productivity.

- Descrizione delle attività di assistenza alla ricerca che saranno affidate al titolare dell'incarico in inglese:

The appointee will carry out research support activities aimed at investigating the impact of alterations in mitochondrial respiration (OXPHOS) on carbon fixation processes and starch metabolism in *Physcomitrium patens*. The activity will include the analysis of CO₂ fixation capacity in WT and respiratory mutant plants through the assessment of the activity of key enzymes of the Calvin–Benson cycle, including phosphoribulokinase and GAPDH, at different times of the photoperiod. These analyses will involve the evaluation of redox regulation mediated by thioredoxin systems using enzymatic assays and gel shift analyses coupled with western blotting. In continuity with the study of the Calvin–Benson cycle, the appointee will analyze in vivo starch metabolism in respiratory mutants by assessing both synthesis and degradation processes through enzymatic assays on different substrates. The activity will also include the cloning, expression, purification, and characterization of recombinant enzymes involved in starch metabolism.

- Piano delle attività in inglese:

1. *In Vivo*: analysis of Calvin-Benson cycle enzymes and starch metabolism in respiratory mutants

- Sampling at different times of the day, of *Physcomitrium patens* WT and OXPHOS mutants
- Assessment of the activity of key enzymes of the Calvin-Benson cycle (e.g. PRK and GAPDH)
- Investigation of redox regulation mediated by thioredoxin systems using enzymatic assays and gel shift analyses coupled with western blotting
- Evaluation of both starch synthesis and degradation processes through enzymatic assays using different substrates.
- Integration of starch metabolism data with Calvin-Benson cycle activity to assess metabolic coordination.



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

2. *In vitro*: recombinant enzyme production and characterization

- Cloning of genes encoding enzymes involved in starch metabolism.
- Heterologous expression and purification of recombinant enzymes
- Biochemical characterization of recombinant enzymes