

**PROPOSTA PROGETTUALE  
DOTTORATO IN SCIENZA DEL FARMACO  
CICLO XLI\***

**Tutor: prof.ssa Michela Varra**

**Co-tutor: prof. Aldo Galeone**

**TITOLO DEL PROGETTO:** Nuove molecole e aptameri modificati per il targeting di proteine coinvolte in processi patologici

**Descrizione del progetto**

Il presente progetto di dottorato ha come obiettivo la sintesi e la caratterizzazione strutturale di nuove molecole in grado di modulare in modo selettivo l'attività funzionale di proteine coinvolte in processi patologici complessi, come il cancro, le malattie neurodegenerative e l'infiammazione cronica. Tra i target proteici di maggiore interesse verrà analizzato in primo luogo il proteasoma<sup>1-3</sup>, noto per il suo ruolo cruciale nella degradazione proteica e nella regolazione dell'omeostasi cellulare. L'approccio sperimentale sarà esteso anche ad altre proteine di rilevanza clinica<sup>4-6</sup>. Un elemento centrale del progetto sarà lo sviluppo razionale delle nuove molecole, quali derivati di piccole molecole organiche già note per la loro affinità verso specifici bersagli proteici, oppure analoghi di ligandi endogeni – come proteine regolatrici del proteosoma, miRNA, siRNA- opportunamente modificati per aumentarne la resistenza alle proteasi/nucleasi e l'affinità per i target biologici e per modularne la risposta immunitaria. Parallelamente, verranno sintetizzati nuovi fosforammiditi building block da utilizzare quali analoghi nucleosidici nella sintesi in fase solida automatizzata di acidi nucleici, selezionando opportune sequenze di RNA terapeutici e/o DNA-aptameri. Le modifiche introdotte nelle sequenze selezionate avranno lo scopo di favorire la conformazione bioattiva<sup>7,8</sup> nel riconoscimento della proteina bersaglio e di modulare la risposta immunitaria innata associata alla somministrazione di acidi nucleici terapeutici<sup>9,10</sup>, attraverso l'analisi delle correlazioni tra la risposta cellulare e le modifiche introdotte. Tutte le molecole di nuova sintesi saranno sottoposte a un'approfondita caratterizzazione mediante tecniche spettroscopiche (CD, UV, NMR) e spettrometriche (MS, HRMS, MS<sup>n</sup>), utilizzando le strumentazioni avanzate disponibili presso i laboratori dipartimentali di analisi strumentale, tra cui il Laboratorio NMR e il Laboratorio MS. In sintesi, il progetto mira a sviluppare una piattaforma innovativa e versatile per la produzione e la caratterizzazione di regolatori molecolari – siano essi piccole molecole organiche o acidi nucleici modificati – con potenziale applicazione nel trattamento di patologie complesse e nella comprensione dei meccanismi molecolari che le sottendono.

## BIBLIOGRAFIA

1. **CHUAH, J.J.Y., et al.** Minimal mechanistic component of HbYX-dependent proteasome activation that reverses impairment by neurodegenerative-associated oligomers. *Commun Biol* **6**, 725 (2023). <https://doi.org/10.1038/s42003-023-05082-9>
2. **DI DATO, A., et al.** Electrostatic map of proteasome  $\alpha$ -rings encodes the design of allosteric porphyrin-based inhibitors able to affect 20S conformation by cooperative binding. *Sci Rep* **7**, 17098 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17183-6>
3. **PERSICO, M., et al.** Modulation of the 20S Proteasome Activity by Porphyrin Derivatives Is Steered through Their Charge Distribution. *Biomolecules* **12**, 741 (2022). <https://doi.org/10.3390/biom12060741>
4. **BAHIT, M.C., et al.** Thrombin as target for prevention of recurrent events after acute coronary syndromes. *Thromb Res* **235**, 116–121 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2024.02.003>
5. **TONELLO, F., et al.** Nucleolin: a cell portal for viruses, bacteria, and toxins. *Cell Mol Life Sci* **79**, 271 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04300-7>
6. **VAN DEN AVONT, A., et al.** Molecular diagnostics and therapeutics. *Front Mol Biosci* **10**, Article 1217769 (2023). <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1217769>
7. **VIRGILIO, A., et al.** Structural properties and anticoagulant/cytotoxic activities of heterochiral enantiomeric thrombin binding aptamer (TBA) derivatives. *Nucleic Acids Res* **48**, 12556–12565 (2020). <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1109>
8. **VIRGILIO, A., et al.** Improved thrombin binding aptamer analogues containing inversion of polarity sites: structural effects of extra-residues at the ends. *Org Biomol Chem* **14**, 7707–7714 (2016). <https://doi.org/10.1039/c6ob00931j>
9. **NELSON, J., et al.** Impact of mRNA chemistry and manufacturing process on innate immune activation. *Sci Adv* **6**, eaaz6893 (2020). <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz6893>
10. **WU, K., et al.** Variant SARS-CoV-2 mRNA vaccines confer broad neutralization as primary or booster series in mice. *Vaccine* **39**, 7394–7400 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.10.046>

## FONDI

PRIN 2022 “Modulating conformational Equilibria of prion protein and proteasome to tune proteostasis network (RESET)”-

