

Biochimica delle proteine, proteomica e spettrometria di massa

Protein biochemistry, proteomics and mass spectrometry

Responsabile scientifico: Prof. Paolo V. Pedone (linea 7, *Coordinatore*), Prof. Antimo Di Maro (Linee 1-3), Prof. Angela Chambery (Linee 4-6)

Componenti strutturati: Sabrina Esposito (RI), Ilaria Baglivo (Tec Sci)

Assegnisti e dottorandi: Rosita Russo, Sara Ragucci, Camilla Rega

DESCRIZIONE DELLA TEMATICA SCIENTIFICA (obiettivi e linee di ricerca)

Le principali attività di ricerca del gruppo riguardano: i) lo studio biochimico delle relazioni struttura-funzione e la caratterizzazione strutturale di proteine e peptidi; ii) l'analisi proteomica ed il profiling molecolare applicati allo studio di sistemi biologici; iii) l'applicazione della spettrometria di massa ESI/Q-TOF e MALDI-TOF per lo sviluppo di metodologie per l'identificazione e la caratterizzazione strutturale di proteine e peptidi.

PRINCIPALI LINEE DI RICERCA

Linea 1. Studio biochimico di proteine ed enzimi di origine vegetale (Responsabile: Antimo Di Maro; Partecipanti: Sara Ragucci).

La linea di ricerca è focalizzata allo studio delle relazioni struttura-funzione di enzimi di origine vegetale e sul loro possibile utilizzo in campo bio-medico e agro-alimentare (i.e. proteine inattivanti i ribosomi (RIPs), ribotossine, perossidasi). In particolare, le proteine inattivanti i ribosomi (RIP) sono rRNA N- β -glicosidasi isolate principalmente da piante, capaci di idrolizzare il legame N- β -glicosidico di una specifica adenosina nella subunità maggiore degli rRNA dei ribosomi eucariotici, bloccando così la sintesi proteica. Le RIP sono ad oggi utilizzate nella preparazione di immunotossine e bio-coniugati da utilizzare nel trattamento dei tumori.

Linea 2. Determinazione della struttura primaria di proteine/peptidi e delle modifiche post-traduzionali (Responsabile: Antimo Di Maro; Partecipanti: Angela Chambery, Rosita Russo, Sara Ragucci).

La conoscenza della struttura primaria di peptidi e proteine è di fondamentale importanza per la comprensione dei processi biologici in cui esse sono coinvolte, nonché del meccanismo d'azione attraverso cui agiscono. La linea di ricerca è finalizzata alla messa a punto di metodologie per la rapida determinazione della struttura primaria di proteine e lo studio delle modifiche post-traduzionali applicando approcci biochimici tradizionali e metodi innovative basati sulla spettrometria di massa.

Linea 3. Struttura e funzione di proteine di interesse biologico (Responsabile: Antimo Di Maro; Partecipanti: Angela Chambery, Rosita Russo, Sara Ragucci).

Nell'ambito di tale tematica sono state determinate le strutture primarie di diverse mioglobine da vertebrati con metodiche tradizionali (degradazione di Edman) ed innovative (*de novo* sequencing mediante spettrometria di massa in tandem). Nell'ambito di tale linea di ricerca sono inoltre studiate le caratteristiche funzionali delle mioglobine in termini di velocità di ossidazione, al fine di correlare le differenze nelle sequenze amminoacidiche alle proprietà funzionali delle diverse emoproteine.

Linea 4. Caratterizzazione proteomica di sistemi biologici (Responsabile: Angela Chambery; Partecipanti: Camilla Rega, Rosita Russo).

DISTABIF RESEARCH GROUPS

La linea di ricerca è focalizzata alla caratterizzazione proteomica di sistemi cellulari procariotici ed eucariotici mediante tecniche avanzate di spettrometria di massa. Lo scopo di tali studi è quello di identificare, quantificare e caratterizzare un elevato numero di proteine in sistemi biologici complessi e dinamici (i.e. cellule, tessuti e organismi). Le applicazioni della proteomica sono molteplici e in diversi settori delle scienze biochimiche e biomolecolari, principalmente finalizzate a studiare le proteine implicate nei processi biologici, con un notevole impatto in ambito medico, con l'intento di chiarire le basi molecolari responsabili di eventuali meccanismi patologici.

Linea 5. Caratterizzazione proteomica di "secretomi" cellulari (Responsabile: Angela Chambery; Partecipanti: Camilla Rega, Rosita Russo).

La linea di ricerca è focalizzata alla caratterizzazione biochimica dei secretomi cellulari (i.e. l'insieme delle proteine secrete dalla cellula) mediante approcci combinati basati sulla spettrometria di massa e sulla tecnologia *high-throughput* degli *antibody arrays* immunologici in sospensione (Luminex/xMAP). Tali studi forniscono utili informazioni per la comprensione dei meccanismi molecolari che, a livello extracellulare, attivano e coordinano le cascate del segnale a livello intracellulare, con l'obiettivo di decifrare il linguaggio molecolare tra cellule e tessuti in condizioni fisiologiche e patologiche. La caratterizzazione dei secretomi di cellule, tessuti e fluidi biologici costituisce una delle principali sfide dell'approccio proteomico finalizzato allo sviluppo di strategie terapeutiche innovative.

Linea 6. Sviluppo di strategie basate sulla spettrometria di massa per applicazioni nel settore biomedico (Responsabile: Angela Chambery; Partecipanti: Camilla Rega, Rosita Russo).

La linea di ricerca è focalizzata allo sviluppo di strategie basate sulla spettrometria di massa per applicazioni nel settore biomedico ed agro-alimentare. In particolare, la tematica di ricerca prevede lo sviluppo di metodologie per analisi quantitative e qualitative di bioterapeutici utilizzati in campo clinico (e.g. anticorpi terapeutici monoclonali e fattori della coagulazione).

Linea 7. Caratterizzazione funzionale di fattori trascrizionali eucariotici e procariotici (Responsabile: Paolo V. Pedone; Partecipanti: Sabrina Esposito, Ilaria Baglivo, Angela Chambery).

L'obiettivo di questa linea di ricerca è la comprensione dei meccanismi biochimici che sono alla base della regolazione dell'espressione genica con particolare attenzione allo studio dell'interazione delle proteine con gli acidi nucleici e dell'interazione dei fattori trascrizionali. Negli ultimi anni in particolare i ricercatori coinvolti si sono interessati della caratterizzazione funzionale di domini zinc finger identificati sia in proteine eucariotiche che procariotiche e della definizione degli elementi strutturali essenziali per l'interazione di tali domini con il DNA.

PROGETTI

PROGETTI EUROPEI E COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

COLLABORAZIONI SCIENTIFICHE INTERNAZIONALI

- Prof. Guido Franzoso, Department of Medicine, Imperial College London, London, UK
- Prof. Wolfgang Osswald, Technische Universität München, Freising, Germany
- Prof. Alberto Marra, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, Montpellier, France
- Dr. Johannes P.C. Vissers and James I. Langridge, Waters Corporation, Mass Spectrometry Technologies Center, Manchester, United Kingdom
- Prof. José Miguel Ferreras Rodríguez, Università di Valladolid, Spain
- Gary Felsenfeld, NIDDK-NIH, Bethesda, MD, USA
- Roy Martin Roop, Department of Microbiology and Immunology, Brody School of Medicine, East Carolina University, Greenville, NC, USA

PROGETTI E COLLABORAZIONI NAZIONALI

DISTABIF RESEARCH GROUPS

Anni 2016-2018: Progetto finanziato dal Ministero Sviluppo Economico (MISE), DM 1 GIUGNO 2016 "Horizon 2020–PON 2014/2020 dal titolo "Sviluppo di nuove piattaforme molecolari/cellulari per l'identificazione e lo sviluppo di principi attivi innovativi, sostenibili e di origine naturale per applicazione cosmetica" Capofila: Arterra Biosciences srl (Responsabile consulenza DiSTABiF: Chambery)

Anni 2013-2017: Progetto finanziato nell'ambito del Programma Operativo Nazionale PON03PE_00060_2 dal titolo "Progettazione, sviluppo e produzione di cibi funzionali e/o arricchiti" MIUR Protocollo: 0002205 del 27/06/2014 (Partecipanti: Di Maro/Chambery)

Anno 2015: Convenzione per attività di ricerca sull'analisi proteomica di Fattore IX plasma-derivato commissionata da Kedrion S.p.A. (Responsabile scientifico: Chambery)

Anni 2013-2014: Contratto per attività di ricerca sulla caratterizzazione biochimica di Fattore IX ricombinante, commissionata da IBB-CNR su progetto Programma Operativo Nazionale PON01_01426 - Protocollo DISTABIF: 258, TIT 3, CL19 del 7/02/2013 (Responsabile scientifico: Chambery)

Anni 2011-2015: Progetto CARINA: sicurezza, sostenibilità e competitività delle produzioni agroalimentari della Campania - Reti di Eccellenza tra Università-Enti-Imprese POR CAMPANIA FSE 2007/2013 (Partecipanti: Di Maro/Chambery)

Anni 2013-2015: Progetto Campus POR Campania FESR 2007-2013 – Asse 2 – O.O. 2.2 dal titolo: "Introduzione e valorizzazione di alimenti salutistici e razionalizzazione produttiva nelle filiere tradizionali della Regione Campania" (Partecipante: Di Maro).

Anni 2011-2015: Progetto TEMASAV: Tecnologie e Monitoraggio Ambientale per la Sostenibilità delle Aree Vaste - Reti di Eccellenza tra Università-Enti-Imprese POR CAMPANIA FSE 2007/2013 (Responsabile SUN: Pedone)

Anni 2011-2015: Progetto FIRB MERIT dal titolo "Basi molecolari nelle sindromi degenerative correlate con l'invecchiamento" Codice RBNE08HWLZ_014 (Responsabile scientifico: Pedone)

Anni 2015-2018: Progetto finanziato Legge Regionale 5/2002 Ann. 2007 dal titolo "Caratterizzazione funzionale e strutturale dell'interazione dei domini zinc finger procariotici con il DNA" (Responsabile scientifico: Pedone)

Anni 2013-2015: Progetto finanziato nell'ambito del POR Campania FESR 2007/2013, bando per la realizzazione della rete delle biotecnologie in Campania – obiettivo operativo 2.1 del p.o. dal titolo "BIP – BIO industrial processes" (Partecipanti: Pedone)

Anni 2013-2017: Progetto finanziato nell'ambito del PON03PE_00060_7 dal titolo "Sviluppo preclinico di nuove terapie e di strategie innovative per la produzione di molecole ad azione farmacologica" (Partecipanti: Pedone)

PUBBLICAZIONI

Numero totale delle pubblicazioni nel triennio 2014-2016 relative all'attività del gruppo su riviste scientifiche con IF: 50 (**Anno 2017:** 11)

Pubblicazioni rappresentative triennio:

1. Miceli M, Dell'Aversana C, Russo R, Rega C, Cupelli L, Ruvo M, Altucci L, Chambery A. Secretome profiling of cytokines and growth factors reveals that neuro-glial differentiation is associated with the down-

DISTABIF RESEARCH GROUPS

regulation of Chemokine Ligand 2 (MCP-1/CCL2) in amniotic fluid derived-mesenchymal progenitor cells. *Proteomics*. 2016;16: 674-688.

2. Iglesias R, Citores L, Ragucci S, Russo R, Di Maro A, Ferreras JM. Biological and antipathogenic activities of ribosome-inactivating proteins from *Phytolacca dioica* L. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 2016;1860: 1256-1264.

3. Ferreras JM, Ragucci S, Citores L, Iglesias R, Pedone PV, Di Maro A. Insight into the phylogenetic relationship and structural features of vertebrate myoglobin family. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;93: 1041-1050.

4. Anvar Z, Cammisa M, Riso V, Baglivo I, Kukreja H, Sparago A, Girardot M, Lad S, De Feis I, Cerrato F, Angelini C, Feil R, Pedone PV, Grimaldi G, Riccio A. ZFP57 recognizes multiple and closely spaced sequence motif variants to maintain repressive epigenetic marks in mouse embryonic stem cells. *Nucleic Acids Res*. 2016;44: 1118-32.

5. Russo R, Rega C, Chambery A. Rapid detection of water buffalo ricotta adulteration or contamination by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2016;30: 497-503.

6. Malgieri G, Palmieri M, Russo L, Fattorusso R, Pedone PV, Isernia C. The prokaryotic zinc-finger: structure, function and comparison with the eukaryotic counterpart. *FEBS J*. 2015;282: 4480-96.

7. Colucci-D'Amato L, Cicatiello AE, Reccia MG, Volpicelli F, Severino V, Russo R, Sandomenico A, Doti N, D'Esposito V, Formisano P, Chambery A. A targeted secretome profiling by multiplexed immunoassay revealed that secreted chemokine ligand 2 (MCP-1/CCL2) affects neural differentiation in mesencephalic neural progenitor cells. *Proteomics*. 2015;15: 714-724.

8. Di Giuseppe AMA, Caso JV, Severino V, Ragucci S, Chambery A, Russo R, Fattorusso R, Ferreras JM, Russo L, Di Maro A. Insight into the structural and functional features of myoglobin from *Hystrix cristata* L. and *Rangifer tarandus* L. *Rsc Advances*. 2015a;5: 26388-26401.

9. Di Giuseppe AMA, Giarretta N, Lippert M, Severino V, Di Maro A. An improved UPLC method for the detection of undeclared horse meat addition by using myoglobin as molecular marker. *Food Chemistry*. 2015b;169: 241-245.

10. Pizzo E, Zanfardino A, Di Giuseppe AMA, Bosso A, Landi N, Ragucci S, Varcamonti M, Notomista E, Di Maro A. A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating protein of *Phytolacca dioica* L.: A new function of RIPs for plant defence? *FEBS Letters*. 2015;589: 2812-2818.

11. Speranza L, Giuliano T, Volpicelli F, De Stefano ME, Lombardi L, Chambery A, Lacivita E, Leopoldo M, Bellenchi GC, di Porzio U, Crispino M, Perrone-Capano C. Activation of 5-HT7 receptor stimulates neurite elongation through mTOR, Cdc42 and actin filaments dynamics. *Front Behav Neurosci*. 2015;9: 62.

12. Squillaro T, Severino V, Alessio N, Farina A, Di Bernardo G, Cipollaro M, Peluso G, Chambery A, Galderisi U. De-regulated expression of the BRG1 chromatin remodeling factor in bone marrow mesenchymal stromal cells induces senescence associated with the silencing of NANOG and changes in the levels of chromatin proteins. *Cell Cycle*. 2015;14: 1315-26.

13. Russo R, Chambery A, Severino V, Parente A, Di Maro A. Structural characterization of dioicin 1 from *Phytolacca dioica* L. gains novel insights into phylogenetic relationships of Phytolaccaceae type 1 RIPs. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;463: 732-8.

DISTABIF RESEARCH GROUPS

14. Piombino P, Genovese A, Esposito S, Moio L, Cutolo PP, Chambery A, Severino V, Moneta E, Smith DP, Owens SM, Gilbert JA, Ercolini D. Saliva from obese individuals suppresses the release of aroma compounds from wine. *PLoS One*. 2014;9: e85611.

15. Baglivo I, Palmieri M, Rivellino A, Netti F, Russo L, Esposito S, Iacovino R, Farina B, Isernia C, Fattorusso R, Pedone PV, Malgieri G. Molecular strategies to replace the structural metal site in the prokaryotic zinc finger domain. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1844: 497-504.

16. Lacek K, Urbanowicz RA, Troise F, De Lorenzo C, Severino V, Di Maro A, Tarr AW, Ferrara F, Ploss A, Temperton N, Ball JK, Nicosia A, Cortese R, Pessi A. Dramatic potentiation of the antiviral activity of HIV antibodies by cholesterol conjugation. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289: 35015-35028.

17. Albino A, De Angelis A, Marco S, Severino V, Chambery A, Di Maro A, Desiderio D, Raimo G, Masullo M, De Vendittis E. The cold-adapted gamma-glutamyl-cysteine ligase from the psychrophile *Pseudoalteromonas haloplanktis*. *Biochimie*. 2014;104: 50-60.

18. Severino V, Farina A, Fleischmann F, Dalio RJ, Di Maro A, Scognamiglio M, Fiorentino A, Parente A, Osswald W, Chambery A. Molecular Profiling of the *Phytophthora plurivora* Secretome: A Step towards Understanding the Cross-Talk between Plant Pathogenic Oomycetes and Their Hosts. *PLoS One*. 2014;9: e112317.

19. Sgambati V, Pizzo E, Mezzacapo MC, Di Giuseppe AMA, Landi N, Poerio E, Di Maro A. Cytotoxic activity of chimeric protein PD-L4UWSCl^{tr} does not appear to be affected by specificity of inhibition mediated by anti-protease WSCI domain. *Biochimie*. 2014;107: 385-390.

20. Tornatore L, Sandomenico A, Raimondo D, Low C, Rocci A, Tralau-Stewart C, Capece D, D'Andrea D, Bua M, Boyle E, van Duin M, Zoppoli P, Jaxa-Chamiec A, Thotakura AK, Dyson J, Walker BA, Leonardi A, Chambery A, Driessen C, Sonneveld P, Morgan G, Palumbo A, Tramontano A, Rahemtulla A, Ruvo M, Franzoso G. Cancer-Selective Targeting of the NF-kappaB Survival Pathway with GADD45beta/MKK7 Inhibitors. *Cancer Cell*. 2014;26: 495-508.

LABORATORI AFFERENTI AL GRUPPO:

- LABORATORIO "PURIFICAZIONE DI PROTEINE"
- BIOCHIMICA, GENETICA E MICROBIOLOGIA
- LABORATORIO "PROTEOMICA"
- LABORATORIO "BIOCHIMICA DELLE PROTEINE E SPETTROMETRIA DI MASSA"

CATEGORIE ISI WEB DI RIFERIMENTO: BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY; BIOCHEMICAL RESEARCH METHODS; FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

CATEGORIE ERC DI RIFERIMENTO: LS1_1 LS1_2 LS2_3 LS2_8

SETTORE SCIENTIFICO-DISCIPLINARE DI RIFERIMENTO: BIO/10