



Richiesta per borsa di studio da attivare ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021

Il sottoscritto Cesare Gargioli qualifica rtd-b afferente al Dipartimento di Biologia

Interno 4815 email cesare.gargioli@uniroma2.it

CHIEDE

l'attivazione di una borsa di studio di dottorato ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021. A tal fine comunica quanto segue:

La borsa sarà attivata sul seguente corso di dottorato accreditato per il XXXVII ciclo:

Biologia Cellulare e Molecolare

Area per la quale si presenta la richiesta (selezionare solo una delle due):

Innovazione

Green

Tipologia di cofinanziamento (pari ad euro 8000 una tantum):

Nome dell'Ente finanziatore pubblico o privato: BrunoCell S.r.l.

Persona di Riferimento: Giulia Fioravanti Telefono 0461285290

Email info@brunocell.com

Fondi di ricerca dipartimentali

Progetto di Ricerca (massimo 10.000 battute complessive spazi inclusi) che comprenda

Descrizione del Progetto:

Il progetto proposto si focalizzerà sulla biostampa 3D per la produzione di carne colturale in ambito alimentare. Ad oggi, la proliferazione e il differenziamento delle cellule biostampate in costrutti spessi non sono pienamente garantiti, rendendo il processo non totalmente efficiente. L'obiettivo è l'aumento delle dimensioni di costrutti biostampati per la generazione di carne colturale, sfruttando modificazioni genetiche su cellule di muscolo e grasso suino per l'immortalizzazione e la stimolazione del differenziamento miogenico e adipocitario. Il successo della proposta sarà raggiunto tramite la ben consolidata esperienza del gruppo di ricerca proponente sulla biologia cellulare, la biostampa 3D e la generazione di muscolo artificiale che porterà a risultati che saranno valorizzati dalla commercializzazione di nuovi prodotti e servizi nell'Agrifood Tech rispettando le priorità della Green Economy. Gli obiettivi del progetto saranno raggiunti grazie anche alla collaborazione con l' srl BrunoCell è impegnata nel settore per produrre un'alternativa eco-sostenibile alla carne da allevamenti animali.



Obiettivi formativi:

La ricerca proposta permetterà di sviluppare conoscenze in un ambito che ha un forte potenziale di sviluppo industriale (il settore Agrifood Tech per applicazioni allineate alle priorità della Green Economy) ed al contempo rappresenta un contesto di ricerca di frontiera (il settore dell'Ingegneria Tissutale). Questo offrirà lo sviluppo di nuove attività di istruzione post-laurea e programmi di formazione specialistica (e.g., dottorato) dove i laureati possano formarsi per soddisfare le esigenze di un mercato di lavoro dinamico e flessibile in un contesto di sviluppo scientifico e industriale che richiederà un elevato numero di competenze nel prossimo futuro (le start-up Agrifood Tech rappresentano il 10% delle start-up in Italia).

Il progetto è caratterizzato da un'elevata capacità di innovazione nel triangolo "Education, Research, Innovation":

- Education and Research: le interazioni tra ricerca e istruzione si riflettono, ad esempio, nella mobilità settoriale dei ricercatori arruolati che svilupperanno infatti una serie di competenze (sia hard che soft skills) che li renderà altamente competitivi in un settore espansivo, quale quello delle aziende Agrifood Tech.

- Research and Innovation: il sistema di ottimizzazione del processo di produzione della carne biostampata avrà un ovvio impatto sul trasferimento di conoscenze tra il mondo accademico e industriale. I risultati potranno essere valorizzati attraverso la commercializzazione di nuove biostampanti e del sistema di produzione della carne culturale attraverso attività di consulenza ad aziende Agrifood Tech.

- Education and Innovation: la collaborazione tra istruzione e innovazione si rispecchia nel fatto che le attività saranno focalizzate sull'analisi di specifici casi studio di un processo produttivo. La priorità delle attività di ricerca sarà quella di ottimizzare e ridurre gli sprechi, promuovendo la formazione di una mentalità imprenditoriale e lo sviluppo di un chiaro schema di gestione delle risorse.

Attività previste:

La biostampa 3D è una tecnica di ingegneria tissutale: una stampante 3D biologica deposita cellule immerse in una matrice di supporto rappresentata da una combinazione di biomateriali, principalmente hydrogel a base polimerica, che insieme vengono definiti come bioinchiostro. Le cellule vengono stimulate ad organizzarsi grazie al confinamento nelle fibre di stampa, favorendone la fusione e la maturazione in fibre muscolari che sono il costituente base della carne. La produzione di tessuto necessita della "costruzione" di più strati caratterizzati dalla replica strutturale della matrice extra cellulare (ECM) garantita dal bioinchiostro e dalla formazione di fibre muscolari grazie all'attività differenziativa della componente cellulare, andando così a



mimare la struttura architettonica del tessuto muscolare scheletrico. La componente cellulare sarà rappresentata da periciti, cellule associate ai piccoli/medi vasi sanguigni con attività angiogenica, recentemente dimostrate un'ottima fonte di cellule staminali, in grado di differenziare in vari tessuti e con ottima efficienza in muscolo scheletrico. L'utilizzo di questa popolazione cellulare presenta tre grandi vantaggi: facilità di isolamento anche da donatori adulti, facilità di mantenimento in coltura e espansione (senza andare incontro a senescenza) e spiccate capacità miogeniche, indispensabili per ottenere un buon tessuto muscolare. I periciti, saranno inoltre modificati tramite ingegneria genetica con Adeno e/o Lentivirus per la telomerasi suina in modo da assicurare una duratura fonte cellulare e un'efficace capacità differenziativa. Inoltre, l'ultima parte della ricerca, coinvolgerà anche una fonte di adipociti ottenuta da cellule staminali di grasso (ASC) che saranno utilizzate per aumentare la complessità della struttura della carne e quindi l'appetibilità. Adipociti e periciti suini sono stati già isolati dal laboratorio presentante e pronti per essere testati e stampati. La stampa 3D dei campioni avverrà in alginato (Alg) e PEG-Fibrinogeno (PF) (composizione 8mg/ml PF + 0,2% Alg). Le cellule di origine suina, saranno stampate utilizzando un sistema di stampa customizzato con il metodo di filatura a umido. L'intero sistema è composto da un ugello coassiale e un motore passo-passo (controllo tramite scheda elettronica Arduino UNO). L'ugello coassiale, avente diametro interno 0,3 mm ed esterno 1,3 mm, è stato realizzato in fotoresina (THERMA DM210) risciacquata in etanolo per la rimozione di residui e rivestita in parilene. La biostampante è stata realizzata assemblando l'ugello coassiale sopra ad una struttura in policarbonato e posizionato centralmente rispetto al tamburo rotante in teflon collegato all'albero del motore passo-passo. Il protocollo standard di cross-linking, utilizzato quando non specificato altrimenti, è: durante la stampa le fibre sono polimerizzate per l'azione dell'Alg in presenza di ioni calcio (0,3M CaCl₂) estruso dalla porzione esterna dell'ago coassiale; in seguito, la struttura tridimensionale è ulteriormente cross-linkata per azione del PF e il fotoiniziatore radicalico (Irgacure) all'interno della struttura dopo esposizione a luce UV (365nm) a bassa penetranza per 5 minuti. Il protocollo di stampa sarà applicato per la biostampa di campioni di carne colturale spessi fino a 3 cm. In combinazione alla porzione muscolare generata dalle cellule miogeniche suine, sarà aggiunta una porzione di tessuto adiposo derivato da progenitori adipocitari di maiale per aumentare la complessità delle fette di carne stampate e soprattutto per migliorarne le proprietà organolettiche della carne culturale.

Attinenza del progetto all'area indicata:

La ricerca ricade nell'area di specializzazione (AdS) della Green Economy, in particolare per quanto riguarda le tematiche di "produzione e consumi eco-sostenibili" e di "sviluppo dell'economia della conoscenza per lo sviluppo e la diffusione di tecnologie, processi, servizi e prodotti green". L'insieme di attività coordinate e pianificate nel progetto mirano a sostituire la produzione di carne da macellazione, non eco-sostenibile in un'economia di scala, con processi sostenibili di biostampa di cellule staminali coltivate, che non richiedono l'allevamento intensivo di animali con conseguente rilascio di metano (gas serra) e depauperamento di risorse naturali. Quindi, questa strategia permette l'abbattimento dell'emissione di gas serra, di deforestazione, del consumo di suolo, acqua e altre risorse alimentari, così come l'eliminazione dell'uso di trattamenti crudeli per gli animali. Il progetto è anche inquadrabile nell'ambito dell'AdS dell'Agrifood Tech, in merito "all'integrazione di contenuti tecnologici avanzati per la realizzazione di soluzioni altamente innovative in ambito agroalimentare".



Risultati attesi:

Il successo del progetto sarà assicurato dall'esperienza del team di ricerca e dell'azienda BrunoCell. I membri afferenti al progetto sono ricercatori d'eccellenza nei campi scientifici in cui la proposta richiede competenze:

- 1) ingegneria tissutale e biostampa di tessuti muscolari in 3D (Cesare Gargioli, Dip. di Biologia Tor Vergata)
- 2) carne culturale (BrunoCell S.r.l.)

I principali punti di forza della proposta sono:

- 1) l'integrazione di competenze e tecnologie all'avanguardia nel campo della biostampa,
- 2) lo sviluppo di procedure metodologiche di sostenibilità per la biostampa con ricadute potenziali su importanti aree di ricerca come l'AgriFood ed il Green New Deal, ma anche l'ingegneria dei tessuti e la medicina rigenerativa.

Quindi dallo svolgimento del progetto ci si attende lo sviluppo di una tecnologia per la produzione di carne colturale, basata sull'immortalizzazione di cellule primarie di muscolo suino, i periciti, e la loro deposizione attraverso tecniche di stampa 3D. In particolare, l'utilizzo di moderne tecnologie di ingegneria genetica per modificare i periciti suini e quindi renderli immortali consentirà di ottenere una fonte inesauribile di cellule animali assicurando la componente cellulare in maniera indipendente dall'animale, quindi più eco-sostenibile dando un'alternativa green agli allevamenti intensivi. Questo allo scopo di rendere industrializzabile il processo di generazione della carne colturale attraverso le colture cellulari e la stampa 3D. Inoltre, in modo da rendere la carne stampata più appetibile, saranno testate varie combinazioni di muscolo e grasso sfruttando le proprietà della biostampa 3D che permette di depositare in maniera assortita e precisa strati di cellule di muscolo e strati di cellule di grasso. Questo ci permetterà di trovare la combinazione ottimale di adipociti e periciti per migliorarne la proprietà organolettiche e quindi il gusto e la consistenza della carne colturale.

Azienda pubblica o privata coinvolta nazionale o straniera in cui si prevede di far svolgere il periodo obbligatorio da 6 a 12 mesi previsto dal Decreto Ministeriale:

BrunoCell S.r.l.

<http://www.brunocell.com>

Piazza Vicenza

Trento, 38122 Trentino-Alto Adige, IT

Firma



TOR VERGATA
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA

Direzione II – Ricerca, Terza Missione, Procedure Elettorali
Divisione I – Ricerca Nazionale
Ripartizione III – Scuola di Dottorato