



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

La sottoscritta Sonia Melino con la qualifica professore associato afferente al Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Interno 4410, email: melinos@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: Biochimica e Biologia Molecolare (Interfacoltà)

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: Azienda Medilife S.p.A.

Persona di Riferimento: Nicola Rosato

Telefono: 3476746769

Email: n.rosato@kbtgroup.it

Fondi di ricerca dipartimentali

Progetto di Ricerca

Produzione di Bio-inchiostri da scarti vegetali non edibili per Bio-Stampa 3D.

Descrizione del Progetto.

La proposta di progetto prevede la realizzazione di nuovi protocolli per la conversione/riprocessamento di materiale di scarto di origine vegetale per la produzione di biomateriali utilizzabili per creare dispositivi 3D cellula-biomateriale per uso biomedicale. I prodotti naturali di origine vegetale da sempre sono stati utilizzati nell'ambito della medicina e della produzione di molecole bioattive per le loro proprietà curative, unitamente alla facile reperibilità e produzione in alte quantità. Con l'era dell'ingegneria tissutale molte nuove applicazioni di prodotti vegetali sono emerse ed il mondo vegetale continua a rappresentare una fonte di nuove idee ed ispirazioni per la produzione di sistemi innovativi di crescita di cellule staminali e produzione di tessuti. I biomateriali rappresentano una componente importante e fondamentale in ingegneria tissutale dato che questi materiali costituiscono l'impalcatura di supporto (*scaffold*) per la formazione dei tessuti, opportunamente ingegnerizzati in relazione alla tipologia del tessuto di interesse. Essi infatti sono in grado di mimare le caratteristiche mecano-fisiche della matrice extracellulare in modo da influenzare attivamente il comportamento delle cellule che vi sono immerse. In particolare il biomateriale deve rispondere a specifici requisiti. I composti naturali di origine vegetale rappresentano, per le loro proprietà di



biocompatibilità, biodegradabilità e capacità di attivazione e trasmissione di fattori in grado di stimolare complesse vie di segnalazione molecolare intracellulari, composti ottimali per la rigenerazione *in vitro* ed *in vivo* dei tessuti. Negli ultimi anni sono stati sviluppati ed ottimizzati diversi *scaffold* a base di composti polimerici di origine vegetali per la crescita in 3D di tessuti. **Lo scopo della tesi di dottorato sarà la realizzazione di scaffold a base di biomateriali con caratteristiche reologiche pseudoplastiche derivanti da scarti vegetali non edibili, convertiti o riprocessati, in grado di fungere da supporto ottimale per le cellule staminali mesenchimali per la loro proliferazione ed il loro differenziamento, con la prospettiva sia di produrre sistemi impiantabili di cellule staminali per il riparo e la rigenerazione dei tessuti, che di mettere le basi per la produzione di nuovi alimenti a base di cellule staminali.** Negli ultimi anni, in seguito allo sviluppo di nuove tecniche di stampa 3D è stato possibile integrare materiali biologici nei processi di stampa, permettendo la creazione di sistemi integrati cellula-biomateriale complessi tridimensionali, utilizzabili per applicazioni bio-mediche per creare sistemi cellulari, tessuti ed eventualmente organi. La complessità del sistema da stampare è determinata dalla necessità di considerare fattori come: il microambiente in cui si lavora, la complessità biochimica della matrice extracellulare (ECM), la natura delle forze biologiche presenti e la necessità di conferire i corretti stimoli biochimici e meccanico-fisici alla cellula per favorire la proliferazione, migrazione e differenziamento. Le principali caratteristiche dello *scaffold* (*supporto*) sono inoltre riassumibili come di seguito riportato. Lo *scaffold* deve essere: compatibile, non tossico e non cancerogeno; tridimensionale con una specifica forma; accurata topografia e bio-funzionalizzazione della superficie e dello scheletro; elevata area superficiale per unità di volume; dimensione ottimizzata dei pori per permettere la penetrazione cellulare e la crescita del tessuto in ogni parte dello scheletro; corretta orientazione delle fibre; elevata porosità e interconnettività tra i pori; tasso di degradazione confrontabile con il tasso di formazione del tessuto, i prodotti di degradazione non devono essere tossici e non devono indurre infiammazioni *in vivo*; proprietà meccaniche equivalenti a quelle del tessuto. Tuttavia, molta ricerca deve essere fatta sia nell'ambito della messa a punto delle condizioni ottimali per consentire una deposizione corretta, controllata e in grado di non danneggiare le cellule staminali nel sistema 3D, che nella produzione di bio-materiali ottimali per la stampa, la crescita ed il differenziamento cellulare. Materiali adatti per il *3D-bioprinting* devono soddisfare diversi criteri essenziali per quanto riguarda, la biocompatibilità, le proprietà bio-mimetiche, la stabilità strutturale, e la "stampabilità", ossia l'abilità del materiale di formare e mantenere una struttura tridimensionale riproducibile con integrità dimensionale e meccanica. È quindi importante studiare e conoscere gli elementi che influenzano la "stampabilità" in quanto essa può avere effetto su alcuni fattori quali: la morfologia e le proprietà meccaniche degli *scaffold* creati con il processo di *3D bioprinting* e di conseguenza può influenzare la risposta cellulare dell'organismo in cui essi vengono inseriti. La ricerca sarà quindi volta non solo alla messa a punto di nuovi protocolli di sintesi di bio-ink di origine vegetale, ma anche allo studio dell'interazione cellula-materiale, fornendo le basi per lo sviluppo di sistemi ecosostenibili ed in grado di riqualificare prodotti di scarto.

Attività previste:

Saranno ottimizzati protocolli per la produzione di scaffold polimerici a base di scarti vegetali non edibili, già attualmente messi a punto nel laboratorio di "Biochimica e Biomateriali per il riparo e la rigenerazione dei Tessuti" (B&B₄T) della prof.ssa Sonia Melino (Cancelliere R, Zurlo F, Micheli L, Melino S., 2020 Talanta. 2021 Feb 1;223(Pt 1):121671. doi: 10.1016/j.talanta.2020.121671). Si studieranno nuovi protocolli per la stampabilità dei polimeri e si procederà con le prove di biocompatibilità e citotossicità già in parte iniziate utilizzando scaffold 2D (*lavoro in progress*). Sarà valutata la citocompatibilità e la capacità di incapsulare cellule



(hMSC) in sistemi 3D porosi, si valuterà l'iniziale processo di differenziamento verso la muscolatura striata. Si valuterà la vitalità e la proliferazione cellulare nei sistemi stampati 3D mediante saggi metabolici quantitativi di vitalità cellulare, come il saggio WST-1 (4-[3-(4-iodofenil)-2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disulfonato, ed il saggio Live/Dead che prevede l'incorporazione di fluorofori, FITC(488/515 nm) e Texas Red (570/602 nm), e che consente di valutare qualitativamente la vitalità cellulare mediante microscopia a fluorescenza. Partendo da questi studi con scaffold ottenuti senza l'utilizzo di stampante, successivamente si produrranno sistemi 3D con tecniche di bio-stampa, utilizzando strumentazione che sarà ottimizzata in collaborazione con la Medilife. Dopo la messa a punto di protocolli per la stampa 3D dei biomateriali si passerà a valutare la vitalità delle cellule in tali sistemi. Il differenziamento cellulare e le interconnessioni cellulari saranno valutate sia mediante tecniche di microscopia in campo chiaro, a fluorescenza e confocale, che mediante valutazione dell'espressione genica, mediante tecniche di RT-PCR e western-blotting, valutando l'espressione di proteine caratteristiche del differenziamento.

Obiettivi formativi.

Obiettivo principale del nostro progetto sarà quello di produrre sistemi 3D cellula staminale biomateriale mediante stampa 3D ottimizzando le condizioni di stampa del biomateriale di origine vegetale.

Obiettivi specifici del progetto di dottorato saranno quello di: i) Convertire e/o riprocessare materiale di scarto vegetale non edibile in biomateriale polimerico e plastico con reologia regolabile; ii) Realizzazione di un protocollo idoneo per la stampa 3D di tali polimeri; iii) indagare a fondo le interazioni molecolari tra e biomateriale neo-prodotto e la cellula staminale (hMSC); iv) studiare *in vitro* la capacità dei sistemi 3D cellula-biomateriale prodotti di andare verso un processo di differenziamento cellulare; v) creare un'attiva e produttiva collaborazione tra università ed industria al fine di poter formare ricercatori qualificati in grado di svolgere attività di ricerca traslazionali creando un connubio tra la ricerca di base e la ricerca volta a fini applicativi industriali.

Attinenza del progetto all'area indicata

Questa proposta di progetto si inserisce nell'ambito "green", essendo volta al riciclo ed alla rivalutazione di materiale di scarto vegetale e che potrebbe servire per la realizzazione di imprese associate alla produzione agricola. Tale progetto si inserirebbe perfettamente in un sistema di bioeconomia circolare, dando un contributo alla ricerca di nuove alternative per lo smaltimento/riduzione dei rifiuti e la produzione di biomateriali plastici. Sebbene sia ben collocato in ambito "green" il progetto ha comunque intrinsecamente risvolti innovativi e di avanzamento tecnologico, in quanto prevede la realizzazione di materiali polimerici da scarti vegetali che possano essere utilizzati come bio-ink per la bio-stampa 3D (3D bioprinting).

Risultati attesi

Tra i risultati che si prevedono di ottenere sicuramente vi saranno: i) la messa punto di protocolli di riprocessamento e conversione di scarti vegetali in biomateriali plastici nanostrutturati; ii) la sintesi di bio-inchiostri per stampanti 3D; iii) la produzione sistemi 3D per la crescita di cellule staminali; iv) valutazione della vitalità e proliferazione cellulare nei sistemi cellula-scaffold ottenuti e determinazione dell'espressione di proteine implicate nella trasduzione del segnale mecano-fisico, importanti nella interazione cellula-biomateriale e nel differenziamento cellulare; v) si potrà inoltre creare un'attiva



collaborazione tra università ed industria formando un/una ricercatore/trice qualificato/a in grado di svolgere una ricerca traslazionale e di sviluppare sistemi complessi con fini applicativi industriali.

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: Medilife S.p.A.

Firma