

LM Biotecnologie Molecolari

Tirocinio e tesi

Tirocinio:

Dove?

- @UniFi
- Erasmus+ **TRAINEESHIP**
- Esterni (su convenzione)

Quanto?

- 12 CFU Tirocinio curriculare
- 6 CFU Tirocinio aggiuntivo
(in alternativa a corso a scelta libera)
il tirocinio aggiuntivo non dovrebbe riguardare gli stessi argomenti di quello curriculare

Tutor aziendale = persona che effettivamente segue lo studente.

Tutor Universitario = nel nostro CdS è il Presidente di Corso di laurea.

Nel caso di tirocini svolti presso istituzioni esterne ad UniFi, il tutor universitario deve essere un docente del CdS competente nelle tematiche del tirocinio.

Prova finale

Prova finale: scrittura e discussione	6
Prova finale: lavoro sperimentale	18

Calcolo CFU per attività pratiche

(sia prova finale che tirocinio)

1 cfu di attività pratica = 25 ore di lavoro.

Non più di 35 ore/settimana

CFU a disposizione dei nostri studenti per le attività pratiche:

12 CFU di tirocinio curriculare

6 CFU di tirocinio aggiuntivo (opzionale)

18 CFU parte sperimentale della prova finale.

Il lavoro sperimentale di tesi e tirocinio **non** sono obbligatoriamente sugli stessi temi.

Il tirocinio aggiuntivo non dovrebbe riguardare gli stessi argomenti di quello curriculare.

Per Erasmus+ Traineeship e per i tirocini in azienda il CdS assume una posizione più "morbida".

Assumendo che in un semestre all'estero (o in azienda) sia fatto di 24 settimane, si arriva a un totale dell'ordine di 30-36 CFU, da certificare a cura dell'ente ospitante.



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

Scuola di Scienze
Matematiche, Fisiche e Naturali

corso di laurea magistrale

Biotecnologie molecolari

Argomenti di tirocinio/tesi

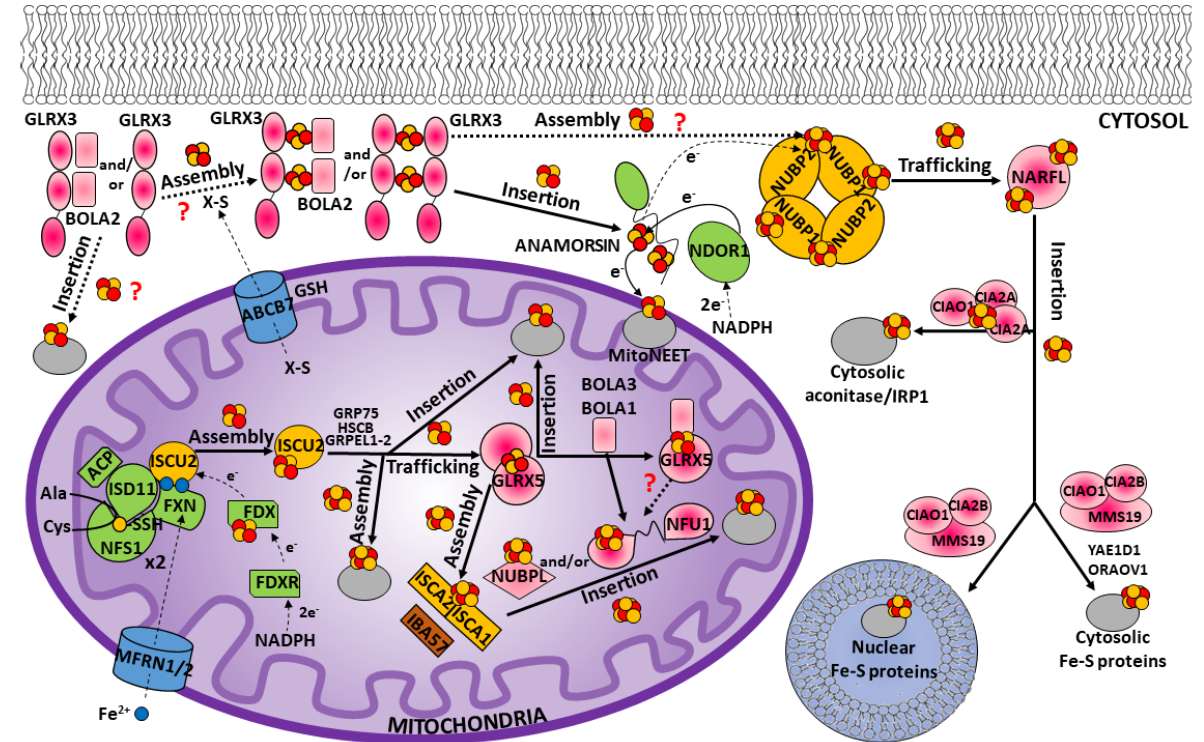
CdS Biotecnologie Molecolari

Università degli Studi di Firenze

Produzione e caratterizzazione di proteine coinvolte nelle biogenesi dei clusters Fe/S

I cluster Fe-S sono cofattori essenziali presenti in quasi tutti gli organismi viventi. Negli eucarioti, le proteine con cluster Fe-S sono presenti nel mitocondrio, nel citosol e nel nucleo. La sintesi dei cluster Fe-S e il loro inserimento nelle apo-proteine coinvolge un complesso network di proteine mitocondriali e citosoliche. Il malfunzionamento di alcune delle proteine coinvolte nella biogenesi dei cluster Fe-S è la causa di gravi malattie mitocondriali. Il progetto riguarda lo studio di alcune proteine citosoliche umane coinvolte nella biogenesi dei cluster Fe-S. Le proteine clonate, espresse e purificate tramite tecniche di DNA ricombinante saranno studiate tramite varie tecniche quali, cromatografia ad esclusione molecolare, UV-VIS, dicroismo circolare e EPR. Lo studio dell'interazione tra proteine leganti i cluster Fe-S permetterà di comprendere a livello molecolare come avviene il trasferimento del cluster alla proteina target. Inoltre la spettroscopia NMR e la cristallografia a raggi X potranno essere utilizzate per caratterizzare strutturalmente a livello atomico sia le singole proteine di interesse che i suoi complessi proteici

Scopo del presente argomento di tirocinio/tesi è la caratterizzazione biofisica, strutturale e dinamica di proteine umane coinvolte nella biogenesi dei cluster Fe/S e loro complessi mediante un approccio integrato.



Referente: Dr.ssa Francesca Cantini (CERM, Dipartimento di Chimica), cantini@cerm.unifi.it
È disponibile da subito 1 posizione, tempistiche da concordare con lo studente



Microscopia di super-risoluzione in batteri e cellule eucariote

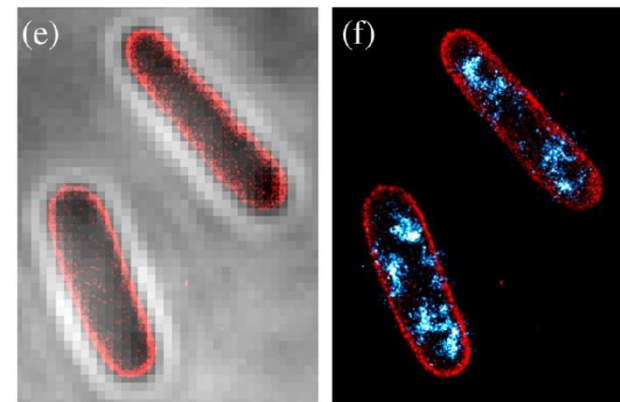
Le tecniche di super-risoluzione sono tecniche avanzate di microscopia ottica a fluorescenza che consentono di ottenere immagini con risoluzione ben al di sotto del limite di diffrazione della luce. Tali tecniche negli ultimi anni si sono rivelate fondamentali per l'osservazione di strutture cellulari di dimensioni anche di pochi nanometri e per lo studio delle interazioni tra proteine che avvengono su scale spaziali nanometriche.

Scopo del presente argomento di tirocinio/tesi è l'applicazione delle tecniche di microscopia di super-risoluzione allo studio di alcuni temi di impatto quali:

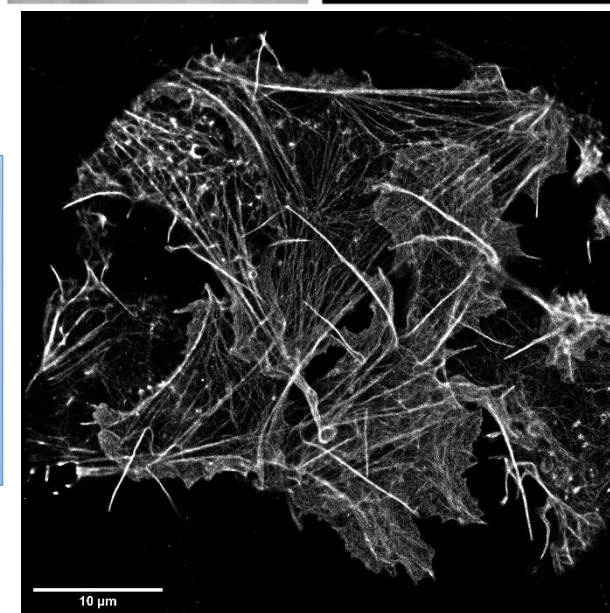
i) Lo studio dei meccanismi molecolari alla base dell'aumentata resistenza agli antibiotici di batteri organizzati in biofilm

ii) lo studio dell'organizzazione del citoscheletro di actina in prossimità di canali di membrana meccanosensibili in cellule di mammifero e gli effetti di tale organizzazione sulla mobilità delle cellule

iii) lo studio della localizzazione di proteine segnale coinvolte in processi cellulari fondamentali, come ad esempio ERK5, e la loro interazione con il DNA nel nucleo delle cellule.



Referente: Dr. Marco Capitanio
(Dipartimento di Fisica e Astronomia), capitanio@lens.unifi.it
È disponibile da subito 1 posizione, tempistiche da concordare con lo studente

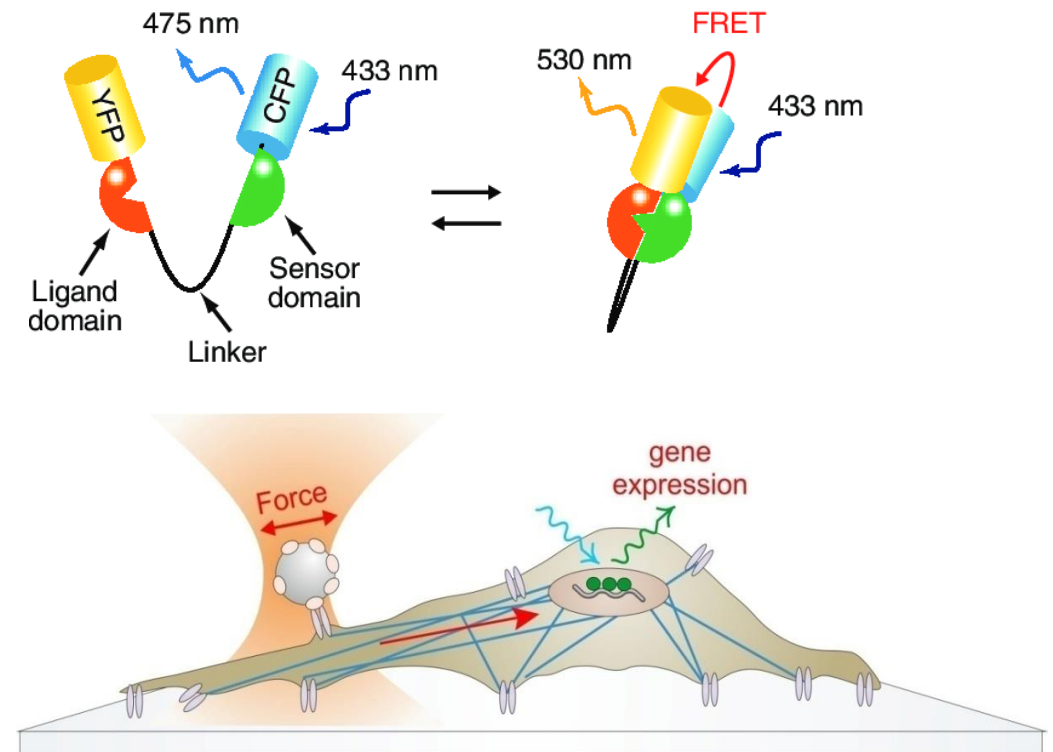


Studio dei meccanismi molecolari della meccanotrasduzione dalla singola molecola alle cellule viventi

Nelle cellule viventi, la presenza di uno stimolo meccanico è in grado di indurre una risposta immediata, sia essa associata alla generazione di correnti ioniche o all'attivazione di pathway di segnalazione intracellulare. Tale stimolazione, se protratta, può portare all'attivazione di specifici geni e quindi, su tempi lunghi, alla manifestazione di caratteri fenotipici alterati.

I dettagli molecolari del processo di meccanotrasduzione in cellule viventi sarà studiato mediante l'utilizzo di un sistema che consente la stimolazione di recettori di membrana cellulare tramite optical tweezers e real time imaging su un ampio intervallo di scale temporali e di sensibilità.

Da un punto di vista molecolare, la tensione intracellulare di specifiche proteine target sarà inoltre misurata mediante l'utilizzo di sensori di forza basati sulla FRET. Questi ultimi sono stati già precedentemente sviluppati per proteine meccanosensitive quali la spettina e altre proteine che legano l'actina. Con tali sensori sarà possibile stimare le forze locali a livello di strutture specializzate quali le focal adhesions e così anche valutare la riorganizzazione cellulare in seguito ad uno stimolo di forza esterno.



Referente: Prof. Marco Capitanio (Dipartimento di Fisica e Astronomia), capitanio@lens.unifi.it

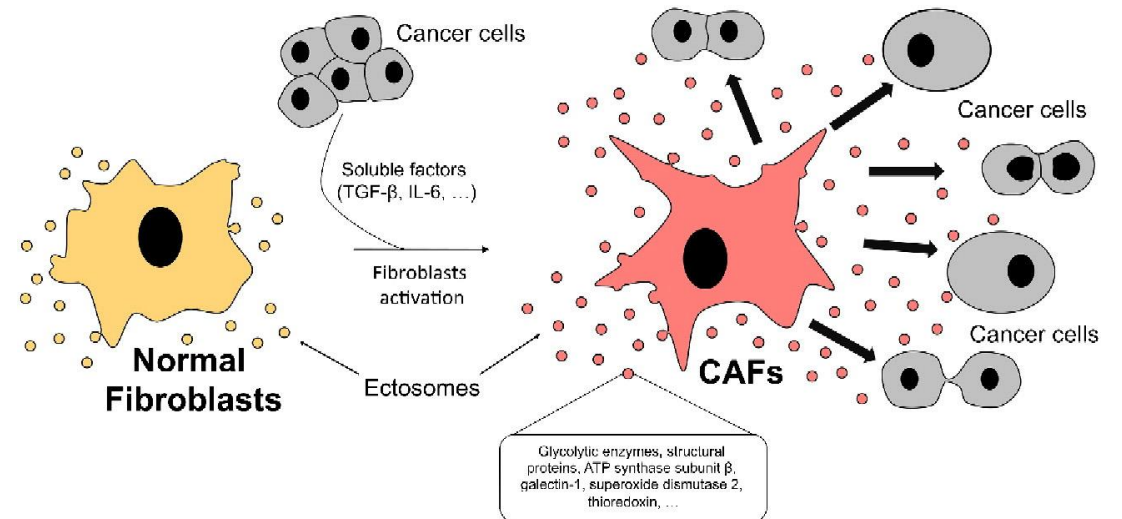
Analisi proteomica di ectosomi rilasciati nel microambiente tumorale

Referente: Prof. Anna Caselli (Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche/ Sez. Biochimica), anna.caselli@unifi.it
Disponibilità 1/2 posizione/i

I tumori solidi sono tessuti complessi costituiti, oltre che dalle cellule tumorali vere e proprie, da molti altri tipi di cellule fra cui prevalgono i fibroblasti che, nel microambiente tumorale, si modificano assumendo un fenotipo cosiddetto “attivato”.

I CAFs (*cancer associated fibroblasts*) sono in grado di favorire la crescita, la progressione e la metastatizzazione del tumore attraverso varie modalità, fra cui:

- rimodellamento della matrice extracellulare
- secrezione di citochine
- produzione di lattato e di ione bicarbonato
- **rilascio «INCREMENTATO E QUALITATIVAMENTE VARIATO» di vescicole extracellulari «cargo»**



Gli ectosomi sono microvescicole con dimensioni di 200-1000 nm, rilasciate dalla maggior parte delle cellule

Gli ectosomi rilasciati dai fibroblasti, ma non quelli rilasciati dalle cellule tumorali, vengono captati ed incorporati dalle cellule limitrofe che così acquisiscono proteine e lipidi di provenienza esogena.

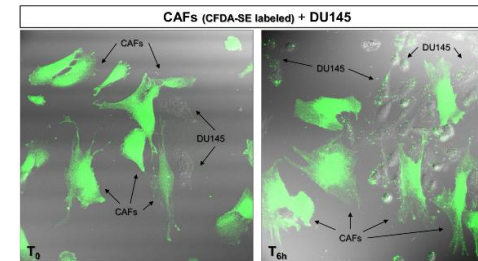


AUMENTANO PROLIFERAZIONE E MIGRAZIONE delle cellule tumorali che hanno acquisito ectosomi provenienti dai CAFs

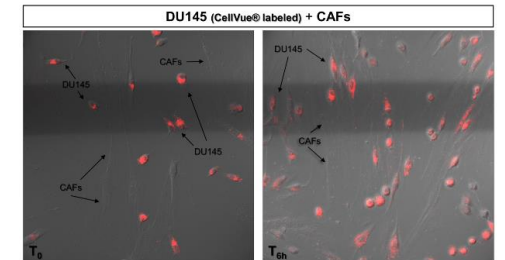
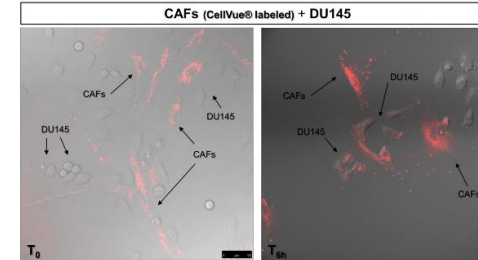
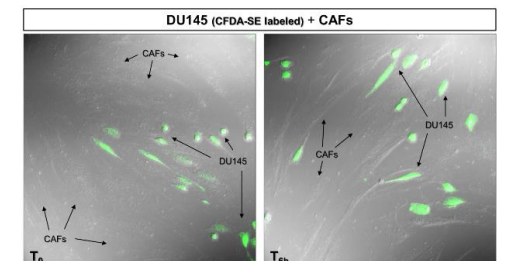
IPOTESI DI LAVORO

- ANALISI PROTEOMICA DIFFERENZIALE DEGLI ECTOSOMI RILASCIATI DAI FIBROBLASTI E DEGLI ECTOSOMI RILASCIATI DALLE CELLULE TUMORALI
- ANALISI PROTEOMICA DIFFERENZIALE DEGLI ECTOSOMI RILASCIATI DAI FIBROBLASTI E DEGLI ECTOSOMI RILASCIATI DAI CAFs

CAFs vs Cancer Cells



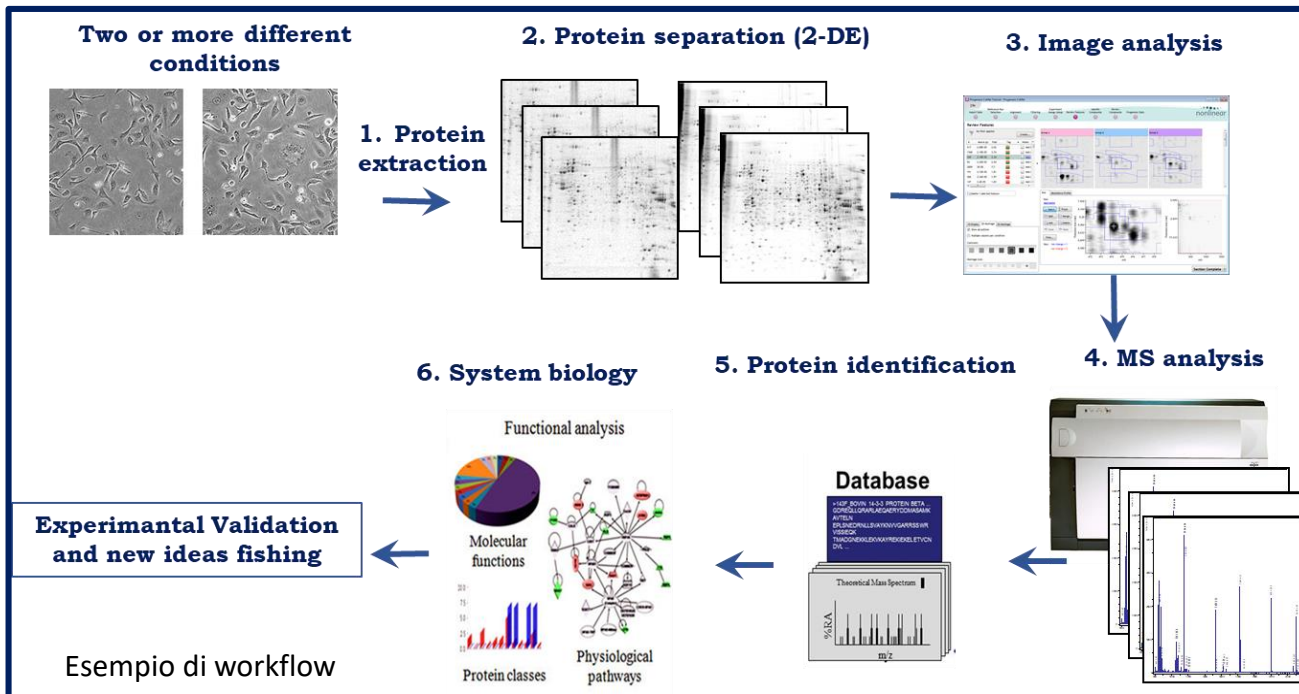
Cancer Cells vs CAFs



Laboratorio di proteomica funzionale e biologia applicata

La nostra ricerca si basa principalmente sull'utilizzo di tecniche di proteomica e redox-proteomica (in particolare elettroforesi bidimensionale e spettrometria di massa) in due contesti principali:

- ❖ Studio dell'attività citotossica e potenzialmente antitumorale di composti dell'oro in linee cellulari di cancro ovarico.
- ❖ Studio delle modificazione di espressione proteica e di ossidazione proteica nel muscolo in condizioni fisiologiche (esercizio fisico) o patologiche (distrofia muscolare).



Referente: Prof. Francesca Magherini
(Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche Mario Serio),
francesca.magherini@unifi.it
Al momento non ci sono posti disponibili

Genomics of plant-microbe interactions

- **Genomic resources for agricultural biotechnologies**
- ✓ Genome manipulation and systems biology of plant-associated bacteria
- ✓ Strain improvement for plant inoculation

Possible collaborations with:

- Department of Biotechnology, University of Gdansk, Poland
- Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, Gif-sur-Ivette, France

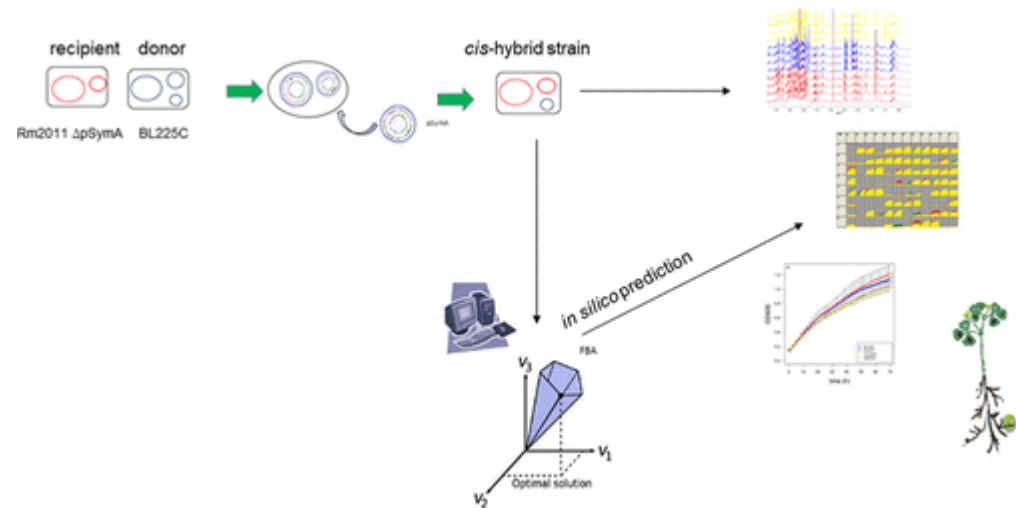
- **References:**

Checucci A. et al. (2018) [Creation and characterization of a genomically hybrid strain in the nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Sinorhizobium meliloti*](#). ACS Synthetic Biology On line Sept. 17, 2018

Fagorzi C. et al. (2018) [Harnessing Rhizobia to Improve Heavy-Metal Phytoremediation by Legumes](#). Genes 9(11), 542

Zoledowska S., et al. (2018) [High genomic variability in the plant pathogenic bacterium *Pectobacterium parmentierideciph*er from de novo assembled complete genomes](#). BMC Genomics 19: 751

- See <http://www.dblage.unifi.it>



Metagenomics and bacterial ecology

- **Structure-function relationships in microbiomes**

- ✓ Airway microbiome in Cystic Fibrosis patients (see [here](#))
- ✓ Microbiota of animals and human gut
- ✓ Plant-associated microbiome
- ✓ Microbiome of sediments (see [here](#))

Possible collaborations with:

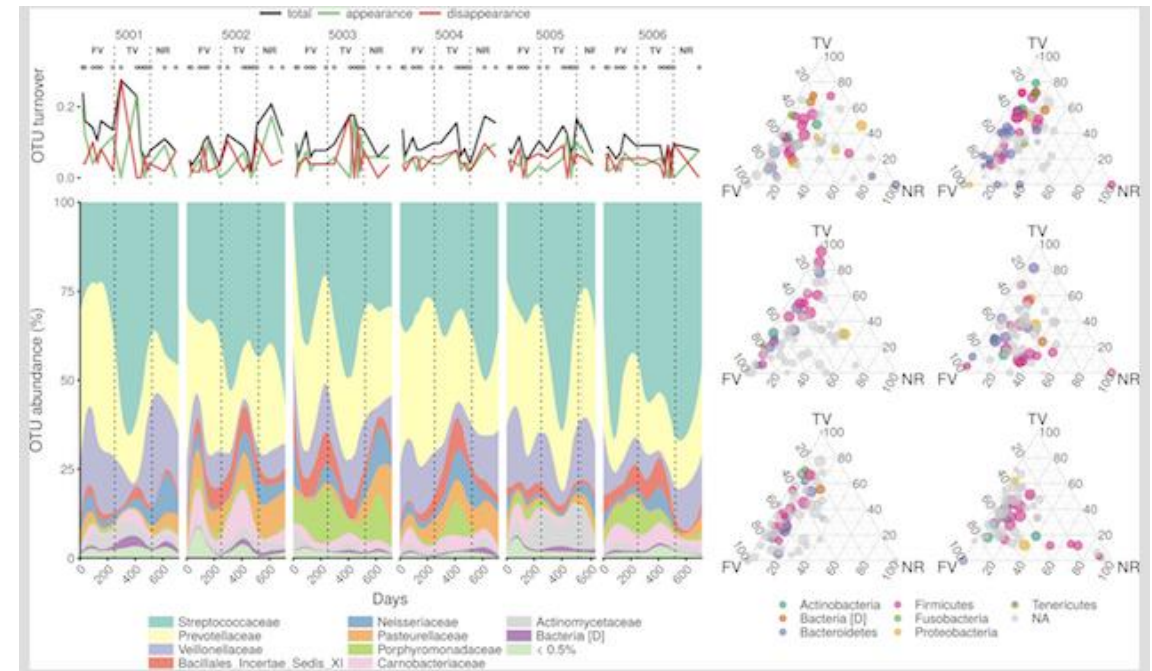
➤ CIBIO, Trento, Italy

- References:

Bacci G. et al. (2018) [Applying predictive models to decipher rhizobacterial modifications in common reed dieback-affected populations](#). *Science of the Total Environment* 642: 708-722

Perrin et al. (2018) [Furnishing spaceship environment: evaluation of bacterial biofilms on different materials used inside International Space Station](#). *Research in Microbiology* May 8, 2018

- See <http://www.dblage.unifi.it> & <https://www.bio.unifi.it/cmpro-v-p-162.html>



Analisi meta-trascrittomica del microambiente tumorale

Il **microambiente tumorale** è un sistema complesso popolato da molti tipi cellulari e molte componenti stromali che impalcano, sostengono e alimentano le cellule cancerose, e posso favorirne la resistenza ai trattamenti farmacologici. Ormai è acclarato che molte delle terapie antitumorali esistenti, prescindendo dal microambiente tumorale, presentano limiti evidenti.

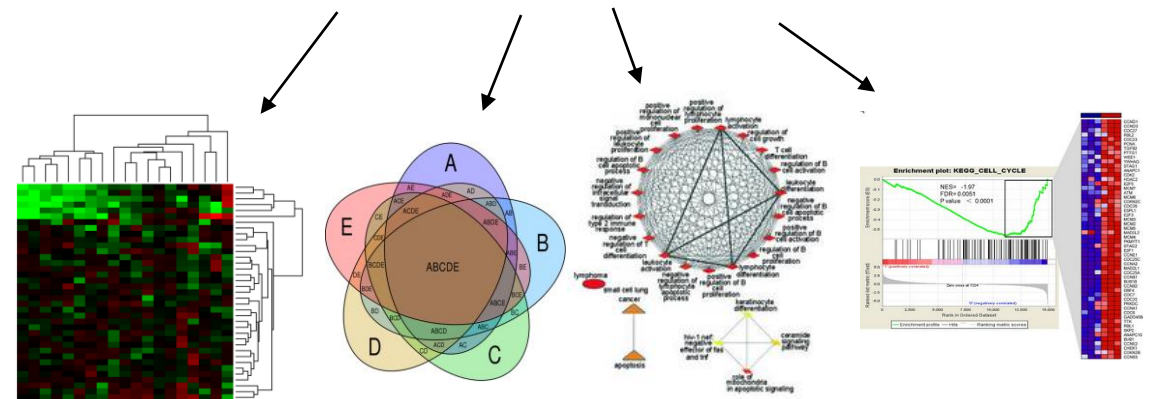
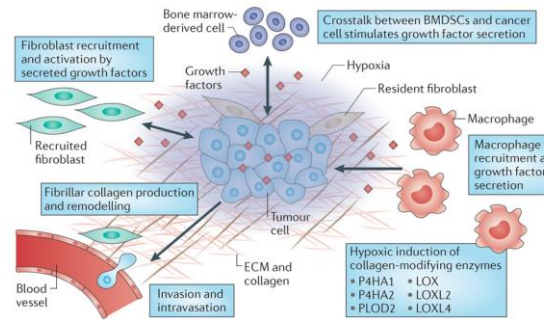
I progetti in questo ambito, portati avanti presso il Dipartimento di Scienze Biomediche, Sperimentali e Cliniche, mirano alla caratterizzazione **mediante tecniche -omiche e integrative** (analisi bioinformatica, systems biology, modellazione metabolica) del microambiente tumorale allo scopo di **capire** in modo sistematico i **meccanismi di cross-talk** esistenti nelle masse tumorali.

Referente:

dr. Matteo Ramazzotti (SBSC), matteo.ramazzotti@unifi.it

<https://www.sbsc.unifi.it/vp-245-gruppo-ramazzotti.html>

Sarà disponibile durante il 2019 1 posizione, con tempistiche e dettagli da concordare con lo studente



Ruolo del DNA ambientale nei fanghi di depurazione

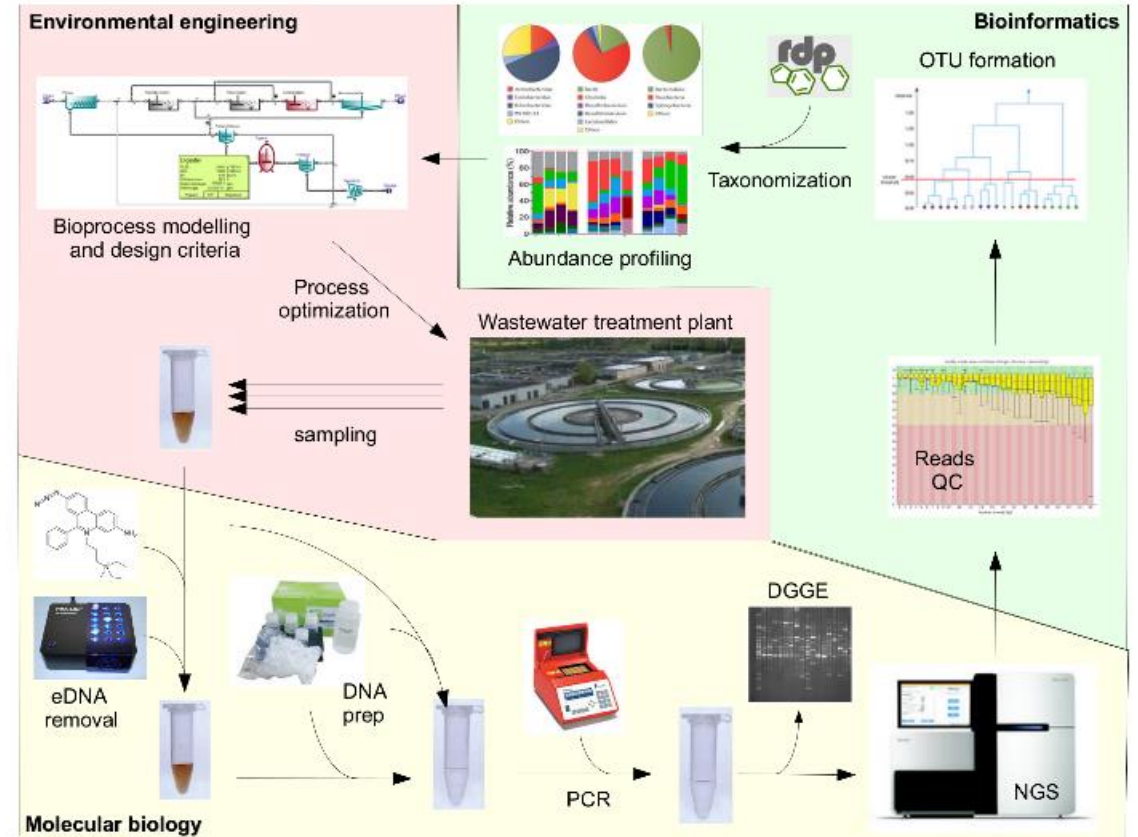
Le **comunità microbiche** operanti nella depurazione delle acque fognarie rappresentano un **affascinante sistema biologico** in cui procarioti e eucarioti interagiscono, sinergizzando e competendo allo stesso tempo. Il **profiling dinamico dell'abbondanza microbica** è oggi possibile mediante tecniche NGS, e molti progetti in questo senso sono già attivi. Uno dei possibili scogli però è rappresentato dall'esistenza nell'ambiente di **DNA libero (eDNA)**, derivante da cellule morte o morenti, che viene **co-estratto** insieme a quello delle cellule attive. Diventa quindi determinante stabilire se, e a quale livello, l'eDNA possa alterare i profili microbici. Il **progetto**, finanziato dall'ateneo di Firenze, **unisce tecniche di biologia molecolare applicata, NGS e strumenti bioinformatici** allo scopo di migliorare i controlli di processo negli impianti di depurazione.

Referente:

dr. Matteo Ramazzotti (SBSC), matteo.ramazzotti@unifi.it

<https://www.sbsc.unifi.it/vp-245-gruppo-ramazzotti.html>

Sarà disponibile durante il 2019 1 posizione, con tempistiche e dettagli da concordare con lo studente

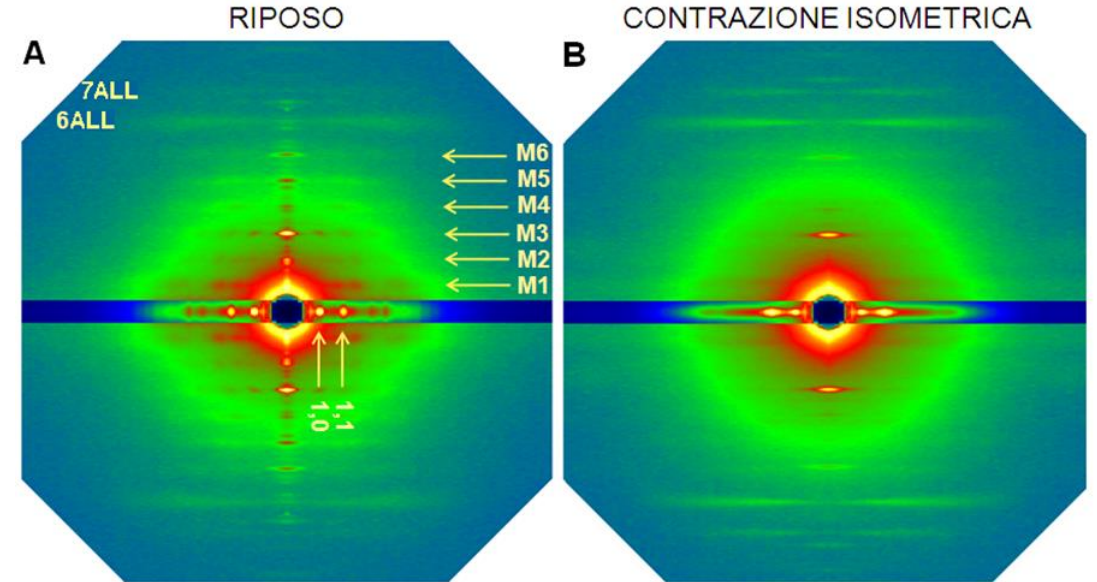


Relazione struttura-funzione nel muscolo scheletrico

La contrazione muscolare avviene per l'azione di due proteine: la miosina di classe II e l'actina, polimerizzate rispettivamente in filamenti spessi e sottili che si sovrappongono nell'unità strutturale del muscolo, il sarcomero, lungo circa $2 \mu\text{m}$. Lo sviluppo di forza e/o l'accorciamento durante la contrazione sono prodotti dall'interazione ciclica tra la porzione globulare della molecola di miosina (la testa o frammento S1), che protrude dal filamento spesso, e i monomeri di actina.

La ripetizione regolare sui filamenti spessi e sottili delle proteine coinvolte nella generazione di forza e nella regolazione della contrazione permette di studiare la loro dinamica strutturale nel sistema nativo, in condizioni fisiologiche, con la diffrazione di raggi X a piccolo angolo in combinazione con tecniche di meccanica con risoluzione a livello del sarcomero.

Scopo del presente argomento di tirocinio/tesi è la descrizione delle basi molecolari della contrazione e delle miopatie connesse a mutazioni nelle proteine contrattili attraverso l'analisi dei diagrammi di diffrazione a raggi X da muscolo striato e lo sviluppo di modelli strutturali per la simulazione dei risultati.



Diagrammi di diffrazione raccolti da singola fibra muscolare intatta di rana (4°C) alla linea di luce ID02, del Sincrotrone Europeo ESRF

Referente: Prof. Massimo Reconditi
(Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica), massimo.reconditi@unifi.it
È disponibile da subito 1 posizione,
tempistiche da concordare con lo studente

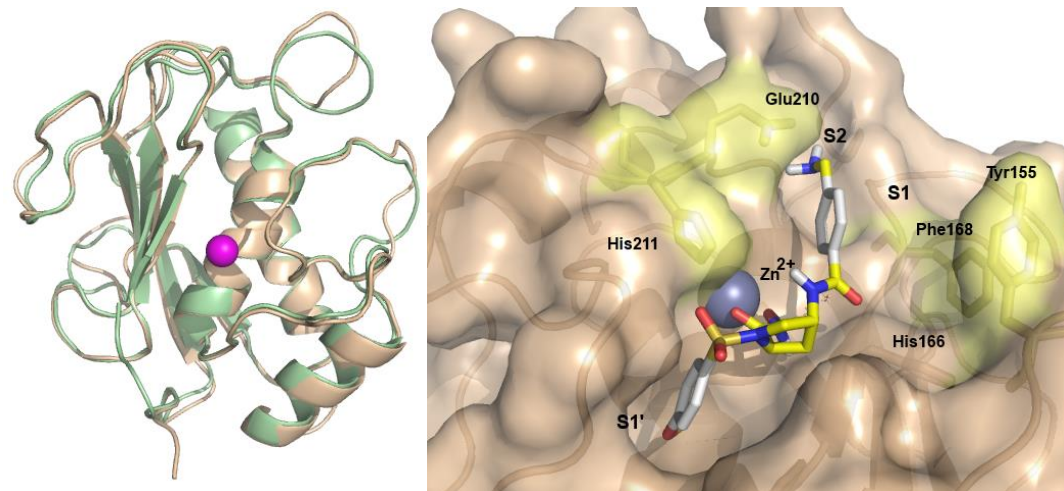


Sviluppo di costrutti molecolari di ligandi per gelatinasi con agenti di contrasto T1 per imaging oncologico con MRI

Le terapie mirate all'angiogenesi e metastasi sono oggi utilizzate in molti tumori maligni e, tra i molti bersagli molecolari, le metalloproteinasi della matrice (MMP) stanno ricevendo un rinnovato interesse, non solo per lo sviluppo di nuovi farmaci, ma anche come biomarcatori diagnostici e prognostici. Gli agenti di contrasto T1 sono caratterizzati da molecole contenenti ioni paramagnetici come Gd(III), il quale permette di ridurre notevolmente il tempo di rilassamento T1. Questo è installato su molecole di interesse attraverso complessi con leganti macrociclici, tipicamente DOTA e DTPA, per imaging molecolare MRI.

Scopo del presente argomento di tirocinio/tesi è la sintesi e valutazione dell'attività biologica di costrutti molecolari aventi agenti di contrasto T1 bioconiugati a inibitori selettivi di MMP2 e MMP9.

Il progetto rientra nell'ambito delle attività del Centro Interdipartimentale CISPIM (www.cispim.unifi.it)



Referente: Prof. Andrea Trabocchi
(Dipartimento di Chimica),
andrea.trabocchi@unifi.it
È disponibile da subito 1 posizione,
tempistiche da concordare con lo
studente

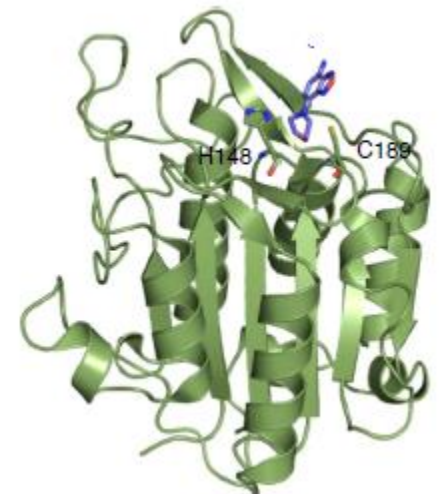
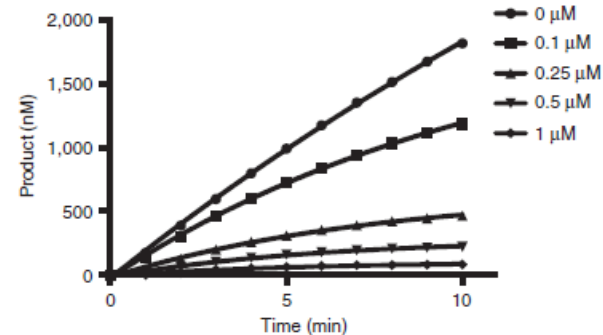
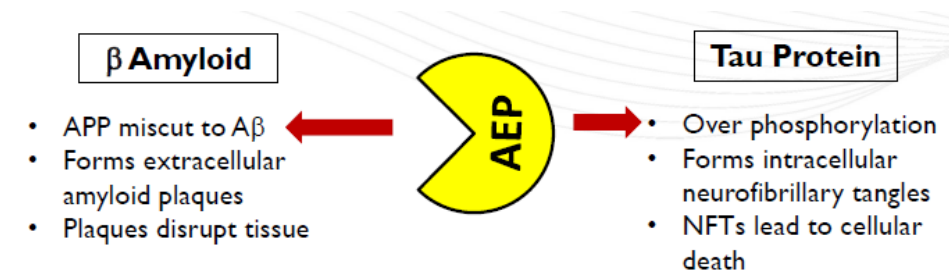


Sviluppo di un metodo fluorimetrico per il dosaggio di nuovi inibitori di delta-secretasi per il trattamento della malattia di Alzheimer

È noto che l'iperproduzione della proteina beta-Amiloide (Ab) ne causa l'accumulo in aggregati formando le placche amiloidi, tipica caratteristica istopatologica della AD. Queste, insieme agli ammassi neurofibrillari determinati dall'iperfosforilazione della proteina Tau (PTau), attivano la neuroinfiammazione alla base della degenerazione neurale e inducono la morte neuronale e il conseguente decadimento cognitivo.

Nel complesso processo di formazione di Ab e PTau vi sono numerosi processi enzimatici coinvolti. Fra questi sta recentemente emergendo la *Asparagina Endo-Peptidasi* (AEP), che partecipa alla attività enzimatica sia della formazione di Ab che di PTau. Questa proteina, detta anche *delta-secretasi*, è una proteasi della cisteina lisosomiale che taglia il legame proteico C-terminale del residuo asparaginico.

Scopo del presente argomento di tirocinio/tesi è lo sviluppo di un saggio fluorimetrico di inibizione di AEP e screening di libreria in-house



Referente: Prof. Andrea Trabocchi
(Dipartimento di Chimica),
andrea.trabocchi@unifi.it
È disponibile da subito 1 posizione,
tempistiche da concordare con lo
studente



Analisi Metabolomica basata sulla Spettroscopia di Risonanza Magnetica: Applicazioni Biomediche

La Metabolomica è la scienza -omica che studia l'insieme dei metaboliti, il metaboloma, presenti in una cellula, in un tessuto, in un organo o nell'intero organismo. I metaboliti rappresentano i prodotti finali di tutti i processi cellulari ed è per questo che il profilo metabolomico può essere considerato come la migliore rappresentazione del fenotipo.

Scopo del presente argomento di tirocinio/tesi è l'analisi metabolomica di campioni biologici (biofluidi come urina e siero, cellule e tessuti) attraverso analisi di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) per la caratterizzazione di patologie (cancro, malattie neurodegenerative) e dei relativi processi biologici coinvolti e per la costruzione di modelli statistici per diagnosi precoce e prognosi .

Referente: Prof. Paola Turano (CERM), paola.turano@unifi.it

È disponibile da subito 1 posizione, tempistiche da concordare con lo studente

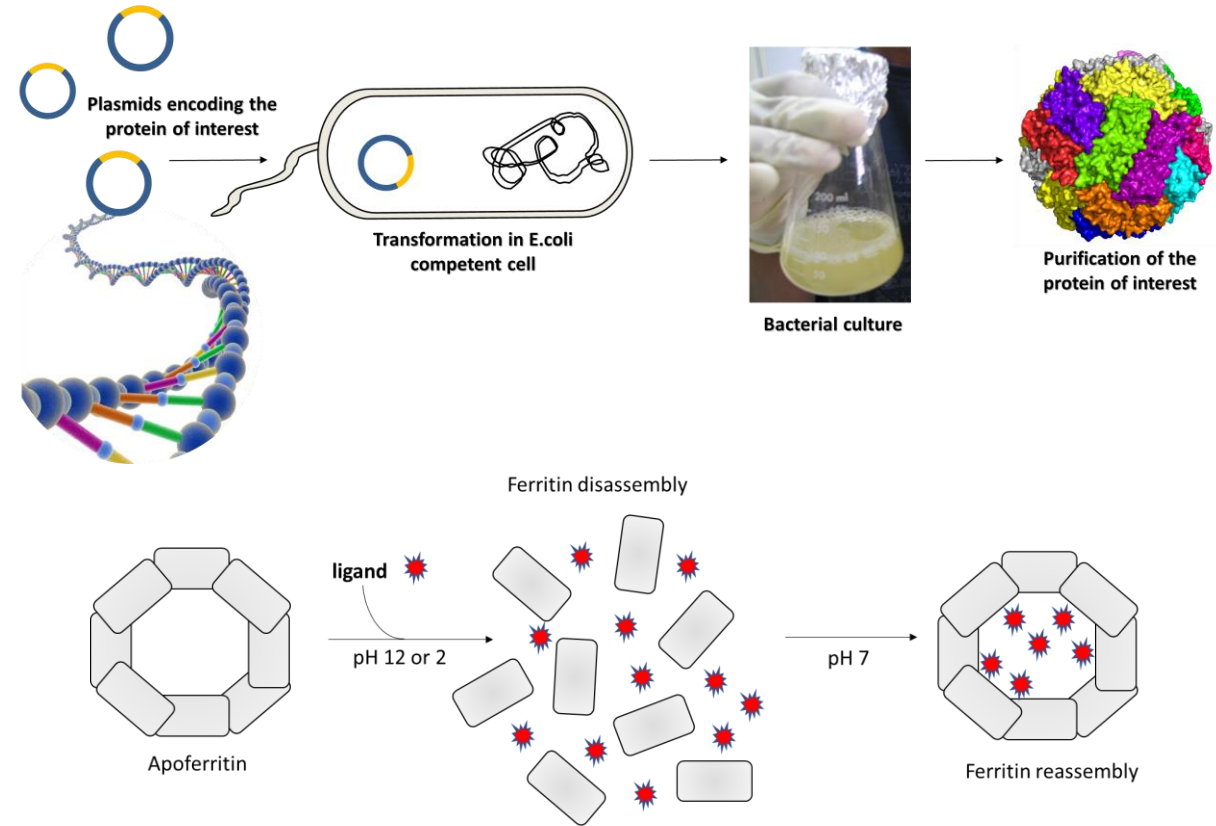


Sviluppo e preparazione di nanocarrier a base di ferritina umana ricombinante per il trasporto di piccole molecole di interesse biomedico

La ferritina è una delle principali proteine protagoniste nel processo di omeostasi del ferro nelle cellule. La sua principale funzione è quella di immagazzinare all'interno della sua cavità migliaia di atomi di ferro in maniera non tossica attraverso la nucleazione di un biominerale di ferridrite. Ogni qual volta la cellula necessita di ferro, esso viene rilasciato attraverso i canali di accesso.

Le sue particolari caratteristiche strutturali - si tratta di un polimero di 24 subunità che si autoassemblano formando una gabbia cava quasi sferica capace di ospitare piccole molecole - insieme alla sua natura endogena e alla possibilità di essere internalizzata dalle cellule per endocitosi mediata da recettore, hanno acceso l'interesse nello sviluppo di nanocarrier a base di ferritina per il trasporto di farmaci e/o agenti di contrasto per la diagnosi ed il trattamento di patologie.

Scopo del presente argomento di tirocinio/tesi è la preparazione e la caratterizzazione di nanocarrier attraverso l'espressione eterologa di ferritina umana in *E. coli* e l'inserimento o incapsulamento di molecole di interesse biomedico (farmaci, sonde per imaging) all'interno della sua cavità.



Referente:

Prof.ssa Paola Turano (CERM), paola.turano@unifi.it

È disponibile da subito 1 posizione, tempistiche da concordare con lo studente

Esterni

Esempi di istituzioni con cui esiste un accordo di collaborazione



Estrazione e la purificazione del DNA genomico da reperti storici del Museo di Storia Naturale

Premessa. Sempre più spesso la ricchezza delle collezioni biologiche dei musei di storia naturale si rivela al mondo della ricerca attraverso il contenuto informativo del DNA dei reperti. Questo permette un'estensione altrimenti impensabile degli studi genetici e filogenetici, sia nello spazio che nel tempo. I reperti, però sono beni culturali e «risorse esauribili» dalle quali non si può immaginare un prelievo illimitato. In relazione all'età, alla storia e al metodo di conservazione si pone, pertanto, il problema di disporre di protocolli estrattivi specifici che garantiscano la miglior resa possibile a partire dal minimo espianto.

Scopo. La tesi o tirocinio consisteranno in uno studio comparativo per lo sviluppo e/o il perfezionamento di protocolli standard per l'estrazione e la purificazione del DNA genomico da campioni eterogenei per età e natura (campioni d'erbario, reperti animali in alcol, ossa, penne etc.), da conservare a tempo illimitato in condizioni controllate (bio-banca) per varie applicazioni.

Collaborazioni. Il progetto di ricerca nasce nell'ambito del protocollo di collaborazione che lo CsaVRI (*Centro Servizi di Ateneo per la Valorizzazione della Ricerca e la gestione dell'Incubatore*) sta per stipulare con lo SMA (Sistema Museale di Ateneo) per la valorizzazione dello straordinario patrimonio storico, culturale e scientifico del Museo di Storia Naturale di Firenze, il più antico del mondo.

Referente: Dott. Lorenzo Cecchi
Museo di Storia Naturale,
Sezione di Botanica «Filippo Parlatore»

l.cecchi@unifi.it





UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

Scuola di Scienze
Matematiche, Fisiche e Naturali

corso di laurea magistrale

Biotecnologie molecolari

GSK Vaccines

GSK è l'unica azienda biotecnologica che ricerca, sviluppa, produce e distribuisce vaccini in Italia.

GSK Vaccines Italia è la società del gruppo GSK in Italia interamente dedicata ai vaccini.

A Siena e nella vicina Rosia, dove sono impegnati circa 2.000 collaboratori di 55 nazionalità diverse, si trovano un centro di ricerca e sviluppo globale - uno dei tre centri mondiali dell'azienda insieme a Rixensart in Belgio e a Rockville negli Stati Uniti - ed uno stabilimento produttivo, che operano nel rispetto dei più alti standard qualitativi.

Le collaborazioni con i principali enti internazionali impegnati nelle campagne per la sensibilizzazione e il potenziamento dell'accesso alle vaccinazioni, e con importanti Università italiane per favorire l'integrazione tra mondo accademico e ricerca privata, fanno del sito GSK di Siena e Rosia un solido punto di riferimento a livello mondiale nella lotta alle malattie infettive.

Referente: Dott.ssa Francesca Micoli

GSK Vaccines, Siena

francesca.x.micoli@gsk.com

