



<p style="text-align: center;"><b>Dottorato di Ricerca in Scienze delle Produzioni Vegetali e Animali</b> <b>PhD Programme in Plant and Animal Science</b> <b>Codice del Corso di dottorato/PhD code: DOT1335834</b> <b>Coordinatore/Coordinator: Prof. Roberta BERNINI</b></p>
<p style="text-align: center;"><b>Piano di attività/Activity plan</b></p>
<p><b>Data/Date</b> 14/12/2023</p>
<p><b>Ciclo/Cycle</b> XXXIX Ciclo</p>
<p><b>Dottorando/PhD student</b> Matteo Nava</p>
<p><b>Posizione/Position</b> <input checked="" type="checkbox"/> Con borsa di studio/With scholarship <input type="checkbox"/> Senza borsa di studio/Without scholarship <input type="checkbox"/> Riservata a dipendenti di enti di ricerca/Reserved for research center employees <input type="checkbox"/> Dottorato industriale/Industrial PhD <input type="checkbox"/> Altra tipologia/Other typology</p>
<p><b>Tutor/Supervisor</b> Prof. Luca Santi <b>Affiliazione/Affiliation</b> Università degli Studi della Tuscia</p>
<p><b>Co-Tutor</b> Dott. Gianfranco Diretto, Dott.ssa Olivia Demurtas <b>Affiliazione/Affiliation</b> Centro di Ricerca ENEA - Casaccia</p>
<p><b>Sede prevalente dell'attività di ricerca/ Main place of research</b> Centro di Ricerca ENEA - Casaccia</p>
<p><b>Titolo dell'attività di ricerca/Research title</b> Approcci omici per lo studio di vie biosintetiche di nuovi apocarotenoidi in specie vegetali</p>
<p><b>Breve descrizione dell'attività di ricerca/Short description of the research activity</b> Gli apocarotenoidi rappresentano una classe di composti bioattivi derivati dai carotenoidi, con ruoli chiave nella biologia delle piante e potenzialmente rilevanti per la salute umana e con potenziali utilizzi nell'industria alimentare e cosmetica. Dati sperimentali hanno determinato la presenza e la struttura chimica di nuovi apocarotenoidi identificati nell'endosperma del seme della specie <i>Ditaxis heterantha</i>, chiamati ditaxina ed eterantina, e negli estratti radicali di distinte specie del genere <i>Cochlospermum</i>, come Vitixantina e Cochloxantina. Lo studio di nuovi apocarotenoidi prevederà quindi, in prima istanza, una caratterizzazione "untargeted" del metaboloma di queste specie vegetali scarsamente indagate mediante HPLC accoppiata a spettrometria di massa (HPLC-MS). Lo studio dei geni coinvolti nella biosintesi di questi nuovi apocarotenoidi avrà inizio con l'analisi di RNA-seq: una volta identificati tali potenziali geni di interesse, si procederà con la predizione della loro struttura proteica secondaria e terziaria <i>in silico</i>, seguita dall'isolamento, clonaggio ed espressione nei sistemi batterici e/o nelle cellule di lievito. Si procederà quindi all'analisi dell'attività enzimatica che verrà testata a seguito di espressione eterologa mediante saggi di attività <i>in vitro</i> ed <i>in vivo</i> utilizzando ceppi di <i>E.coli</i>/lieviti in grado di produrre distinti carotenoidi come substrati per la reazione. Le analisi dei prodotti metabolici verranno condotte mediante HPLC accoppiata a spettrometria di massa (HPLC-MS). Verrà poi valutata l'ingegnerizzazione di sistemi vegetali eterologhi dei geni candidati mediante espressione transiente o stabile in piante di <i>Nicotiana benthamiana</i> e <i>Solanum lycopersicum</i> con l'obiettivo di investigare il fenotipo risultante e ottenere una comprensione completa della funzione del prodotto genico dei geni proposti per la biosintesi degli apocarotenoidi presi in analisi. In aggiunta, si esaminerà l'applicazione delle tecnologie RNAi (per trasformazioni transitorie) e della tecnologia CRISPR/Cas9 (per trasformazioni stabili) con l'intento di inibire e/o sovraesprimere i geni candidati nella via biosintetica degli apocarotenoidi di interesse.</p>



Inoltre, verrà analizzata la localizzazione subcellulare degli enzimi mediante trasformazione transiente (agroinfiltrazione o mediante vettori virali) in foglie di *Nicotiana benthamiana* e analisi al microscopio confocale. Inoltre, l'utilizzo della tecnica dell'Immunogold Electron Microscopy (IEM) permetterà di confermare i risultati precedentemente ottenuti e verificare la localizzazione e distribuzione delle proteine di interesse a livello ultrastrutturale. Questo progetto di dottorato ha inoltre lo scopo di produrre nuove fonti a più basso costo e di maggiore diffusione di tali molecole, mediante la generazione di piante ingegnerizzate, sia con approcci di trasformazione transiente che stabile. Questo studio contribuirà al nostro sapere sulle interazioni molecolari all'interno delle cellule vegetali e potrebbe fornire informazioni importanti per futuri sviluppi in biotecnologie vegetali e nella produzione di metaboliti di interesse.

**Attività formative/Training activities**

Primo Anno/First year: partecipazione a seminari, convegni e webinar e attività programmate dal Collegio dei Docenti

Secondo Anno/Second year: partecipazione a seminari, convegni e webinar e attività programmate dal Collegio dei Docenti

Terzo Anno/Third year: partecipazione a seminari, convegni e webinar e attività programmate dal Collegio dei Docenti

**Firma (Tutor)/Signature (Supervisor)**

**Firma del Dottorando/Signature (PhD student)**