

Dott. Antonio Trincone, ICB Napoli

Relazione scientifica sui risultati dell'attività svolta dal 7 al 27 ottobre 2013 presso il G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry Far East Division, The Russian Academy of Science, usufruendo di un finanziamento nell'ambito della Short term mobility Band 2013.

L'istituzione ospitante

Il Pacific Institute of Bioorganic Chemistry è un'istituzione di ricerca che appartiene alla Russian Academy of Science (Far East Branch). L'Istituto è stato fondato per condurre ricerca chimica e biochimica sul patrimonio botanico e marino unico della regione di Vladivostok. Lo studio dell'ambiente marino è presto diventato il pilastro principale delle attività presenti che ivi si svolgono. L'istituto conduce ricerche scientifiche in discipline quali bioorganic chemistry, molecular immunology, molecular biology, biotechnology e campi connessi.

L'Istituto di Chimica Biomolecolare del CNR collabora da tempo con tale istituzione e recentemente tali contatti si sono allargati al gruppo dedicato alla Enzyme Chemistry diretto dalla Dr. Zvyagintseva Tatyana Nikolaevna. Tale gruppo si occupa di glicosidasi marine ed in particolare la Dr. Irina Bakunina esperta di alfa-galattosidasi marine per l'inattivazione della specificità del gruppo B degli eritrociti del sangue umano; il Dr. Mikhail Kusaykin e la Dr. Svetlana Ermakova per la struttura e attività biologica di fucoidani marini. Numerosi altri ricercatori e collaboratori si occupano di composti biologicamente attivi da organismi marini.

Attività scientifiche

Il programma scientifico per questa attività aveva come titolo “Recombinant alpha-galactosidases and alpha-N-acetylgalactosaminidases of marine origin: feasibility study for application in synthesis” e ad esso si rimanda per le premesse dell'attività scientifica che si è svolta durante la permanenza a Vladivostok.

In particolare tale attività si è svolta in diversi ambiti qui di seguito descritti:

- Attività sperimentale
- Attività divulgativa
- Attività editoriale

Per quanto riguarda l'attività sperimentale nei primi 4 giorni è stata colta l'opportunità di visitare la Stazione Marina dell'Istituzione ospitante a 240 Km a sud di Vladivostok insieme a 3 ricercatori del

gruppo per la collezione dei crystalline style da *Spisula sachalinensis* per l'isolamento di glicosidasi marine, già prevista in un loro programma di ricerca. L'esperienza dei tecnici e dei ricercatori del Pacific Institute of Bioorganic Chemistry è stata preziosa e pienamente fattiva in uno scambio di idee riguardo l'ulteriore utilizzo, proposto dal sottoscritto, anche di altre parti dell'organismo marino in questione per l'isolamento di attività enzimatiche utili in biocatalisi.

Al ritorno da questa visita l'attività sperimentale è continuata per il resto del soggiorno nei laboratori dell'Istituto. Essa è stata centrata su esperimenti per la determinazione della stereochimica dell'enzima α -N-acetyl galattosaminidasi con la Dr. Irina Bakunina. Sono stati eseguiti spettri di risonanza magnetica nucleare in D₂O su spettrometro Bruker 700 Mhz dello standard dello zucchero N-acetyl galattosamina, liberabile dopo idrolisi enzimatica, e sono stati eseguiti spettri protonici delle reazioni enzimatiche di idrolisi condotte in D₂O e H₂O appurando dopo analisi degli stessi che con molta probabilità il meccanismo di idrolisi seguito è di natura ossido-riduttiva tipico delle glicosil idrolasi appartenenti alla famiglia GH4 (Yip VLY, Varrot A, Davies GJ, Rajan SS, Yang X, Thompson J, Anderson WF, Withers SG. An Unusual Mechanism of Glycoside Hydrolysis Involving Redox and Elimination Steps by a Family 4 β -Glycosidase from *Thermotoga maritima* J Am Chem Soc 2004; 126:8354–8355). Scambi di opinione sull'interpretazione di questi risultati sperimentali sono avvenuti proficuamente con la Dr. Irina Bakunina e con i ricercatori dell'Istituto su eventuali altri esperimenti da impostare successivamente per la conferma di tali osservazioni. Questo aspetto è molto interessante perchè rappresenterebbe per la prima volta che il detecting di tale meccanismo per via spettroscopica semplice è possibile. Le investigazioni possibili sulla capacità di transglicosidazione di questo enzima, così come dell'alfa-galattosidasi da *Pseudoalteromonas* sp. KMM 701 sono state ampiamente discusse.

Con altri ricercatori del gruppo, in particolare il Dr. Mikhail Kusaykin e la Dr. Svetlana Ermakova sono stati elaborati i modi di condurre esperimenti per appurare la presenza di attività transglicosilanti di una fucoidanasi appena isolata (Silchenko AS, Kusaykin MI, Kurilenko VV, Zakharenko AM, Isakov VV, Zaporozhets TS, Gazha AK, Zvyagintseva TN. Hydrolysis of fucoidan by fucoidanase isolated from the marine bacterium, *Formosa* algae Mar Drugs. 2013 Jul 11;11(7):2413-30. doi: 10.3390/md11072413) dal batterio marino *Formosa* algae strain KMM 3553. Tali esperimenti sono stati anche condotti effettivamente insieme alla Dr. Pesentseva ma i risultati via MALDI-TOF dei prodotti di reazione di idrolisi in presenza e in assenza di acceptors diversi, non sono arrivati in tempo prima della partenza. Essi potranno essere agevolmente discussi per altre vie o anche ripresi nell'ambito di un progetto bilaterale appena presentato dal titolo “Collaborative study of secondary metabolites, polysaccharides and enzymes from marine organisms: structures and biological activities Coordinators: Russia: Prof. Valentin Aronovich Stonik, Academician, D.Sc., Director of PIBOC,

Tel.: +7(423)2311651. Fax: +7(423)2314050. E-mail: stonik@piboc.dvo.ru Italy: Ernesto Mollo, marine biologist of ICB, PhD, Tel: +39 081 867 5312; +39 081 8675176. Факс: +39 081 8041770. E-mail: emollo@icb.cnr.it, di cui il sottoscritto è partecipante.

L'attività divulgativa è stata incentrata sull'accettazione dell'invito da parte del direttore dell'Istituto, Prof. Valentin Aronovich Stonik, a tenere un seminario alla fine del Consiglio Scientifico del Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, relativa al mese di Ottobre, tenuto il giorno 18. Tale seminario, intitolato “*Biocatalysts from Aplysia: sweet spot in carbohydrate synthesis and not only that...*” ha interessato molti componenti del Consiglio Scientifico stesso ed è stato anche tenuto, a parte, nei laboratori della Prof. Dr. Zvyagintseva Tatyana a vari studenti e PhD.

L'attività editoriale è stata basata sulla discussione dei temi inerenti un Research Topic che il sottoscritto e il Dr. Kusaykin e la Dr. Ermakova conducono per la rivista Frontiers in Chemistry (http://www.frontiersin.org/chemical_biology/researchtopics/Marine_biomolecules_1/2008).

L'attività è pienamente inquadrabile nell'attività scientifica dell'editor (A. Trincone) e dei due coeditors (il Dr. Kusaykin e la Dr. Ermakova), da quanto risulta dalla parte finale dell>About di tale topic:

In this Research Topic, we wish to centralize and review contributions, idea and comments related to the issues above. In particular results of enzymatic bioprospecting in gross marine environment will be acknowledged along with research for structural characterization and biological function of biomolecules such as marine polysaccharides and all kind of research related to the complexity of bioprocesses in marine environments. Inter- and multi-disciplinary approach to this field is favoured in this Research Topic and could greatly be facilitated by the web and open access nature as well.

Inoltre con la Dr. Irina Bakunina sono state portate avanti proficuamente, discutendo di persona, alcune argomentazioni riguardanti un articolo review in coauthorship che il sottoscritto sta compilando riguardo le α -galattosidasi. Per questa attività sono state condotte ricerche bibliografiche quotidiane e analisi e discussioni critiche degli articoli da menzionare nel suddetto articolo. Alla fine del soggiorno tali scambi hanno consentito di arrivare ad una forma quasi definitiva dell'articolo; si può anche prevedere la submission di tale prodotto prima della fine dell'anno o inizi dell'anno successivo.

La possibilità offerta dal programma Short term mobility di trascorrere questo breve periodo in un'istituzione scientifica di tale prestigio è stata senza dubbio una fonte di arricchimento del bagaglio scientifico e culturale del sottoscritto; ha inoltre messo le basi per lo sviluppo fattivo del progetto bilaterale sopra citato continuando nel solco di una storica collaborazione tra l'Istituto di Chimica Biomolecolare e il Pacific Institute of Bioorganic Chemistry.

Napoli, 1 Novembre 2013

Antonio Trincone

A handwritten signature in black ink, reading "Antonio Trincone". The signature is fluid and cursive, with the first name "Antonio" written in a larger, more prominent script than the last name "Trincone".