

CURRICULUM VITAE



INFORMAZIONI PERSONALI

Nome **GIARDINA PAOLA**
Indirizzo **VIA S. ORSOLA 12 , 80135, Napoli, Italia**
Telefono **081 674319**
Fax **081 674313**
E-mail **giardina@unina.it**

Nazionalità italiana
Data di nascita 03/08/1956

ESPERIENZA LAVORATIVA

Aprile 2019 Professore ordinario (settore scientifico disciplinare BIO/10) presso la Facoltà di Scienze MM. FF. NN. dell'Università "Federico II" di Napoli

2018-2021 Coordinatore del progetto europeo FLAshMoB Functional Amyloid chimera for Marine Biosensing, nell'ambito di MarTERA ERA NET Cofund

2017-2018 Responsabile scientifico del Progetto "Immobilization of ENzymes on hydrophobin-functionalized NANomaterials" Project acronym: IENA, nell'ambito del Programma per il finanziamento della ricerca di Ateneo

2015 Abilitazione I Fascia 05/E1 - BIOCHIMICA GENERALE E BIOCHIMICA CLINICA, Bando 2013

2013 a tutt'oggi Membro del Collegio docenti del dottorato in Biotecnologie dal 2013 (XXIX ciclo) al 2019 (XXXV ciclo)

2005 a tutt'oggi Professore associato (settore scientifico-disciplinare BIO/10) presso la Facoltà di Scienze MM. FF. NN. dell'Università "Federico II" di Napoli, titolare dei corsi di "Struttura e funzione delle proteine e degli acidi nucleici" (Modulo A) e "Metodologie biochimiche" (corso di laurea magistrale in Scienze Chimiche)

Giugno-luglio 2006 Visiting researcher presso l'Università di Helsinki (Finlandia)

2004-2009 docente titolare del corso di "Laboratorio di purificazione e caratterizzazione delle proteine" del corso di laurea in Chimica, Università Federico II, Napoli

2004-2008 Responsabile scientifico del WP2 dell'European Union funded IP-SME project "SUSTAINABLE BIOPROCESSED FOR THE EUROPEAN COLOUR INDUSTRIES" (SOPHIED, NMP2-CT-2004-505899)

2003-2012 Membro del Collegio docenti del dottorato in Scienze Biotecnologiche dal 2003 (XIX ciclo) al 2012 (XXVIII ciclo)

2003-2005 Responsabile dell'Unità U.O. 5.2 del Centro Regionale di Competenza BioTekNet nell'ambito del Dipartimento tematico "Enzimologia industriale, bioreattori e bioprocessi".

2001-2004 Professore associato non confermato (raggruppamento BIO/10) presso la Facoltà di Scienze MM. FF. NN. dell'Università "Federico II" di Napoli, titolare del corso "Laboratorio di Chimica Biologica" (corso di laurea in Chimica)

1995-2000 Professore supplente del corso "Laboratorio di Chimica Biologica" (corso di laurea in Chimica) presso la Facoltà di Scienze dell'Università "Federico II" di Napoli

1999-2000 Professore supplente del corso di "Chimica bioanalitica" (corso di laurea in Biotecnologie) dell'Università Federico II di Napoli

1999-2000 Responsabile scientifico di Unità di ricerca nell'ambito del Programma di Ricerca Scientifica di Rilevante Interesse Nazionale dal titolo "Analisi molecolare della parete cellulare nel fungo

	ectomicorrizico <i>Tuber borchii</i> Vittad.: identificazione, caratterizzazione e funzione di componenti polisaccaridici e proteici”
dicembre 1999	Incarico d'insegnamento “Environmental Biotechnology” presso l'Università Pubblica di Navarra, Spagna, nell'ambito del progetto Socrates/Erasmus 1999/2000
Maggio-giugno 1997	Visiting researcher presso l'University of Westminster, Londra
novembre 1993	Ricercatore confermato (gruppo E05A) presso la Facoltà di Scienze dell'Università “Federico II” di Napoli
novembre 1990	Ricercatore (gruppo E05A) presso la Facoltà di Scienze dell'Università “Federico II” di Napoli
ottobre 1990	Funzionario tecnico presso il Dipartimento di Chimica Organica e Biologica dell'Università “Federico II” di Napoli
1981-82	Contratto di collaborazione libero professionale presso il III Servizio Analisi della II Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università di Napoli

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

marzo 1984	Diploma della Scuola di Perfezionamento in “Strutturistica Molecolare”, orientamento biostrutturale, presso l'Università degli Studi “Federico II” di Napoli
1982-90	Assegno di formazione professionale del C.N.R., presso il Dipartimento di Chimica Organica e Biologica dell'Università “Federico II” di Napoli (U.O. Prof. V. Buonocore, P.F. I.P.R.A.)
1980-81	Laureata interna presso il Laboratorio del Prof. G. Sannia -Istituto di Chimica Organica e Biologica dell'Università “Federico II” di Napoli
marzo 1980	Abilitazione all'esercizio della professione di Chimico
13 dicembre 1979	Laurea in Chimica (indirizzo Organico-Biologico), con la votazione di 110/110 e lode, presso l'Università “Federico II” di Napoli, discutendo una tesi sperimentale dal titolo "Preparazione di anfotoli basici", relatore il Prof. G. Marino

-E' stata socia della Società Italiana di Biochimica (SIB) e della Società Italiana di Microbiologia Generale e Biotecnologie Microbiche (SIMGBM)

-Ha partecipato a numerosi convegni nazionali ed internazionali presentando comunicazioni e tenendo relazioni.

ATTIVITÀ DIDATTICA

Paola Giardina dal 1981 ha partecipato, quale cultore della materia, alle Commissioni d'esame dei corsi di Chimica Biologica, Biologia Molecolare e Chimica Analitica Clinica per i Corsi di Laurea in Chimica e Chimica Industriale. Dal 1987, inoltre, ha partecipato anche alle Commissioni d'esame del corso di Biochimica Applicata per i corsi di Laurea in Chimica e Chimica Industriale.

Dal 1982 al 1994 ha organizzato, in collaborazione con i docenti titolari dei corsi, le esercitazioni sperimentali seguendo numerosi studenti. Ha inoltre partecipato ai suddetti corsi ed esercitazioni tenendo seminari didattici per gli studenti.

Nel 1994, anno in cui è stato istituito il nuovo ordinamento per gli studenti di Chimica con l'indirizzo di Chimica Biologica, ha messo a punto e organizzato le esercitazioni per il corso di “Laboratorio di Chimica Biologica”. Frutto di tale lavoro è stata la realizzazione di un opuscolo per gli studenti di guida alle esercitazioni.

Dall'anno accademico 1995/96 ha avuto l'incarico d'insegnamento per il corso “Laboratorio di Chimica Biologica” del corso di laurea in Chimica della Facoltà di Scienze dell'Università “Federico II” di Napoli. Nell'anno accademico 1999/2000 ha avuto anche l'incarico d'insegnamento per il corso “Chimica Bioanalitica” del corso di laurea in Biotecnologie, indirizzo industriale, della Facoltà di Scienze dell'Università “Federico II” di Napoli.

Nel dicembre 1999 ha tenuto il corso “Environmental Biotechnology” presso l'Università Pubblica di Navarra, Spagna, nell'ambito del progetto Socrates/Erasmus 1999/2000.

Nel 2004-2009 è stata docente titolare del corso di “Laboratorio di purificazione e caratterizzazione delle proteine” del corso di laurea in Chimica, Università Federico II, Napoli

Dal 2005 a tutt'oggi è docente-titolare del corso di “Struttura e funzione delle proteine e degli acidi nucleici” (Modulo A, 5 CFU) e dal 2009 del corso di Metodologie biomolecolari (6CFU) del corso di laurea magistrale in Scienze Chimiche, Università Federico II, Napoli.

E' tutor degli studenti del secondo anno della Laurea Magistrale in Scienze Chimiche.

Ha seguito ed assistito numerosi studenti interni e dottorandi nel corso della preparazione della tesi di laurea sperimentale o di dottorato, in qualità di correlatore e relatore.

Fa parte delle seguenti commissioni per la didattica:

dal 2012 a tutt'oggi: Membro della commissione Pratiche Studenti del Consiglio di Corso di Studio di Chimica, Università Federico II, Napoli

dal 2012 a tutt'oggi: Membro della commissione Tutorato per la Laurea magistrale di Scienze Chimiche, Università Federico II, Napoli

dal 2017 a tutt'oggi: Membro della commissione permanente di Laurea in Chimica e Scienze Chimiche, Università Federico II, Napoli

dal 2017 a tutt'oggi: Membro del Gruppo del Riesame del corso di laurea magistrale in Scienze Chimiche Università Federico II, Napoli

Docente tutor delle seguenti Tesi di dottorato in Biotecnologie:

-*PLEUROTUS OSTREATUS* HYDROPHOBINS: SURFACE ACTIVE PROTEINS- Annunziata Armenante, XXI ciclo

-HYDROPHOBINS FROM *PLEUROTUS OSTREATUS*: SELF-ASSEMBLING PROTEINS FOR NANOBIOLOGICAL APPLICATIONS -Sara Longobardi, XXIV ciclo

-HYDROPHOBINS FROM *PLEUROTUS OSTREATUS* IN BIOTECHNOLOGICAL INDUSTRIES- Alfredo Maria Gravagnuolo XXVII ciclo

-BIOCONJUGATION OF ENZYMES AND PROTEINS ON MULTIFUNCTIONAL AND NANOSTRUCTURED SOLID SUPPORTS FOR BIOMOLECULAR INTERACTIONS MONITORING-Jane Politi, XXVIII ciclo

-MARINE FUNGI AS SOURCE OF PROTEIN BIOSURFACTANTS -Paola Cicatiello XXIX ciclo

-FUNGAL SELF-ASSEMBLING PROTEIN LAYERS: NEW BIOTECH-TOOLS FOR BIO/NON-BIO HYBRID DEVICES-Ilaria Sorrentino XXI ciclo

ATTIVITA' SCIENTIFICA

L'attività di ricerca di Paola Giardina è incentrata sullo studio di proteine fungine e loro applicazioni.

1-Enzimi ossidativi isolati dal fungo basidiomicete *Pleurotus ostreatus*: ottimizzazione della produzione nativa e ricombinante, caratterizzazione delle proprietà cinetiche e strutturali, e loro applicazioni

I funghi basidiomiceti del tipo "white-rot" sono, tra i microorganismi noti, i più attivi nella degradazione della lignina. Gli enzimi da essi secreti, coinvolti in questo processo, sono stati studiati con crescente attenzione negli ultimi anni in quanto, essendo questi in grado di svolgere la loro attività catalitica su un largo spettro di substrati, sono ipotizzabili diverse applicazioni biotecnologiche sia dei funghi che degli enzimi ligninolitici isolati. Questi ultimi possono essere classificati in due gruppi: fenolo ossidasi e perossidasi. Alla prima classe appartiene la laccasi, alla seconda appartengono la ligninasi (lignina perossidasi) e la perossidasi manganese dipendente (Mn perossidasi).

Il fungo basidiomicete "white-rot" *Pleurotus ostreatus* è un attivo lignino-degradatore ed appartiene alla sub-classe di funghi che secernono laccasi e manganese perossidasi, ma non lignina perossidasi. Questo fungo, come la maggior parte delle specie fungine, produce più di un enzima ad attività fenolo ossidasi.

L'attività di ricerca focalizzata sulle laccasi, è stata affrontata da molteplici punti di vista. Da un lato, lo studio delle relazioni struttura/funzione di questa classe di enzimi (P11, P12, P16, P18, P19, P23, P25, P33, P40) l'analisi dei geni per essi codificanti (P15, P16, P19, P42) e la loro regolazione trascrizionale (P20, P26, P55, P61); dall'altro, l'applicazione di questi enzimi in molteplici settori, *in primis* nel biorisanamento dei reflui industriali (P17, P24, P29, P30, P31, P38, P39, P43, P44, P59). Le potenzialità di questi enzimi sono state sfruttate grazie allo sviluppo di un sistema per la loro espressione ricombinante (P28, P36, P42, P53). Le moderne metodiche di ingegneria proteica sono state utilizzate per la progettazione di varianti enzimatiche con proprietà *ad hoc*, definite in base allo specifico settore di applicazione (P35, P46, P47, P50, P51). Sono stati inoltre sviluppati efficaci processi di immobilizzazione delle laccasi su diversi supporti ed i biosistemi enzimatici immobilizzati sono stati applicati in diversi processi (P84) e la loro efficacia verificata in bioreattore (P13, P29, P38). Le competenze acquisite nel campo degli enzimi ossidativi fungini hanno permesso la stesura di diverse reviews (P7, P8, P9, P49, P56, P65, P88).

E' stato verificato che, in condizioni di scarsità di nutrienti, *P. ostreatus* secreta un altro enzima ossidativo, l'alcool arilico (veratrilico) ossidasi (VAO) (P10). L'indagine sperimentale ha consentito di formulare una ipotesi sul ruolo funzionale della VAO (P14), indicando che VAO svolge un importante ruolo nella biodegradazione *in vitro* di modelli di lignina quando è accoppiata ad un enzima ossidativo, come la laccasi, capace di promuovere il processo di degradazione della complessa matrice polimerica.

Inoltre sono stati studiati altri enzimi prodotti dallo stesso fungo. E' stato intrapreso lo studio delle condizioni in cui *P. ostreatus* secreta Mn perossidasi (P21), è stata individuata un'altra attività perossidasi attribuita all'enzima dye decolorizing peroxidase (P32), sono state studiate le proteasi extracellulari secrete da *P. ostreatus* (P22, P27), dimostrando la relazione tra le attività laccasica e proteasica nel brodo di coltura del fungo.

2-Idrofobine: proteine fungine auto-assemblanti capaci di formare biofilm anfipatici

Le idrofobine sono proteine a basso peso molecolare (7-10 kDa) di origine fungina, importanti nella crescita e nello sviluppo dei funghi, in quanto coinvolte nella formazione di strutture aeree, quali ife, spore e corpi fruttiferi e nell'adesione a superfici idrofobiche. Sono caratterizzate dalla presenza di un elevato numero di residui idrofobici e, anche se presentano scarsa identità di sequenza, mostrano un *pattern* caratteristico di otto cisteine formanti quattro ponti disolfurici. Caratteristica peculiare delle idrofobine è quella di auto-

assemblare a livello di interfacce idrofiliche-idrofobiche formando film anfipatici, in grado di rendere idrofilica una superficie idrofobica e viceversa. In base alla stabilità del biofilm formato le idrofobine vengono distinte in due classi: le idrofobine di classe I formano biofilm molto stabili che possono essere solubilizzati solo con agenti quali l'acido trifluoroacetico puro, mentre quelle di classe II formano film meno stabili, che possono essere solubilizzati anche in soluzioni acquose come SDS al 2%. Le idrofobine di classe I formano aggregati altamente ordinati simili alle fibrille amiloidi, ossia ricchi di strutture β ed in grado di legare Tioflavina T. Quindi nelle idrofobine di classe I la formazione di fibrille è accompagnata da cambi conformazionali, ma non sono ancora del tutto chiariti i fattori scatenanti questi cambi e le sequenze che giocano un ruolo chiave nell'aggregazione. I meccanismi di aggregazione delle idrofobine possono essere considerati modelli per la delucidazione dei meccanismi di formazione delle amiloidi.

Grazie alle loro caratteristiche peculiari le idrofobine trovano applicazione in svariati campi (**P54, P80**): come biotensioattivi o emulsionanti nelle biotecnologie alimentari e nell'industria cosmetica; come coating di dispositivi medici, quali cateteri e vene artificiali; nell'immobilizzazione di proteine; nella creazione di biosensori, come componenti per *lab-on-chip*; nel *drug delivery*.

L'idrofobina di classe I Vmh2 è stata purificata dal brodo di coltura del fungo *Pleurotus ostreatus*, ed è stata verificata la sua capacità di formare film stabili su superfici solide (**P34, P37, P60, P67**). La proteina solubilizzata in acqua mostra la presenza di glicani formanti complessi con essa, che ne aiutano la solubilizzazione (**P52**). Se il campione viene disciolto in etanolo al 60% la frazione glucidica precipita lasciando la proteina libera in soluzione, che però risulta essere non più solubile in acqua. Quindi l'interazione con i glicani permette la solubilizzazione di Vmh2 in acqua. È stato analizzato il comportamento di Vmh2 in soluzione al variare di alcuni parametri, quali solventi, pH, temperatura, presenza di sali o di glucani. Vmh2 in etanolo al 60% assume una conformazione con un significativo contributo di α -elica, mostrando inoltre una elevata stabilità in soluzione. Aumentando il pH (≥ 6) o in presenza di Ca^{2+} si osserva un cambio di struttura secondaria e rapida aggregazione della proteina in uno stato con maggior contributo di β -sheet, seguita da precipitazione (**P58**). Vmh2 si solubilizza in tamponi acquosi a $\text{pH} \geq 7$, ma in queste condizioni ha un'alta propensione all'aggregazione, che aumenta al diminuire del pH, ed aumentando la concentrazione proteica (**P73**).

È stato messo a punto un sistema di espressione ricombinante di Vmh2, sia in *Escherichia coli*, che in *Pichia pastoris* (**P58, P76**). Al fine di elucidare i meccanismi molecolari che portano alla formazione di fibrille di Vmh2, cinque mutanti sito specifici della proteina sono stati progettati ed espressi nel lievito *P. pastoris*. Sulla base dei risultati ottenuti, si è costruito un affidabile modello tridimensionale della proteina, ipotizzando il meccanismo di formazione delle fibrille (**P82**).

Sono stati formati film di Vmh2 su superfici di silicio cristallino e su silicio poroso, valutando la capacità del film di modificare la bagnabilità di superfici, (**P45, P48**). È stato dimostrato che la proteina può formare film monostrato (di circa 3 nm) o multistrato, in base alle condizioni di deposizione e di lavaggio. Il film monostrato risulta essere altamente stabile da un punto di vista chimico, essendo resistente a trattamenti basici e a detergenti (**P34**).

Immagini del film ottenute mediante, microscopia a forza atomica (AFM), SEM, TEM, cryo TEM hanno mostrato la presenza di aggregati e strutture fibrillari (**P41, P57, P67, P73**).

Il film formato da questa proteina è stato utilizzato tra l'altro per lo sviluppo di biosensori (**P60, P62, P71, P72, P86, P87**), di lab-on chip per proteomica (**P63, P64, P70, P83**), per l'esfoliazione, la funzionalizzazione e la stabilizzazione di nanomateriali (nanoparticelle d'oro) e materiali 2D (grafene e dicalcogenuri di metalli di transizione) (**P66, P68, P69, P72, P77, P81, P84**). Recentemente è stata anche dimostrata la capacità di questi film di inibire la formazione di biofilm di *Staphylococcus epidermidis* (**P79**). Le proprietà autoassemblanti ed adesive delle idrofobine sono state combinate a quelle di proteine target mediante fusione genica, per lo sviluppo di biosensori (**P75, P76**).

Sono state anche purificate e caratterizzate idrofobine secrete da funghi marini (**P74**). Le capacità di queste proteine di modificare superfici idrofobiche ed idrofiliche è stata analizzata, dimostrando anche in questi casi, tramite AFM, la formazione di fibrille (**P78**).