



# L'ALBA DEI MATERIALI PROTOCELLULARI

**Le protocellule sono uno strumento vitale per la biologia poiché permettono lo studio di fenomeni biologici complessi in un ambiente semplice e controllato. In questo nuovo campo di ricerca interdisciplinare abbiamo iniziato ad utilizzare la chimica bio-ortogonale di interfaccia per generare adesioni inter-protocellulari ed assemblare protocellule in nuovi materiali che mimano i tessuti viventi.**

Come sono nate le prime forme di vita sulla Terra? Diverse discipline della scienza, prime tra tutte chimica, biologia e biologia sintetica cercano una soluzione a questo interrogativo. Un elemento emerso fin da subito è che la compartimentalizzazione è una caratteristica fondamentale degli organismi viventi. Questa permette la concentrazione di specie chimiche, la protezione delle componenti biologiche e il confinamento del materiale genetico all'interno delle cellule, consentendone il funzionamento fuori dall'equilibrio chimico e la separazione dall'ambiente esterno. Negli anni il campo della biologia sintetica *bottom-up* [1] ha sviluppato diversi tipi di compartimenti sintetici in grado di mimare alcuni comportamenti cellulari di base, come trascrizione e traduzione di informazione genetica, invio di segnali di tipo chimico, metabolismo enzimatico, ecc. Questi compartimenti sintetici sono chiamati *protocellule* e consentono di studiare i fondamenti della vita a partire da principi chimico-fisici fondamentali [2]. Di recente, alcuni gruppi di ricerca hanno iniziato ad esplorare la possibilità di assemblare protocellule in sistemi estesi che mimano i tessuti biologici [3]. Riuscire a costruire da zero tessuti sintetici funzionanti rivoluzionerebbe settori come la medicina rigenerativa e la *soft* robotica. Tuttavia i tessuti sintetici sviluppati inizialmente presentano svantaggi che ne compromettono lo sviluppo tecnologico, tra cui l'instabilità in soluzione acquosa e la fragilità.

Il nostro gruppo recentemente ha portato questa ricerca ad una svolta importante utilizzando la chimica

bio-ortogonale di interfaccia (*interfacial strain-promoted alkyne-azide cycloaddition* - I-SPAAC) per generare adesioni inter-protocellulari di tipo covalente, e quindi molto forti. Questa nuova strategia ha permesso la creazione di materiali biomimetici stabili in acqua e molto resistenti.

Il primo esempio di questa nuova strategia basata sulla chimica organica di interfaccia è stato riportato su *Nature Materials* [4]. L'articolo descrive la forma-

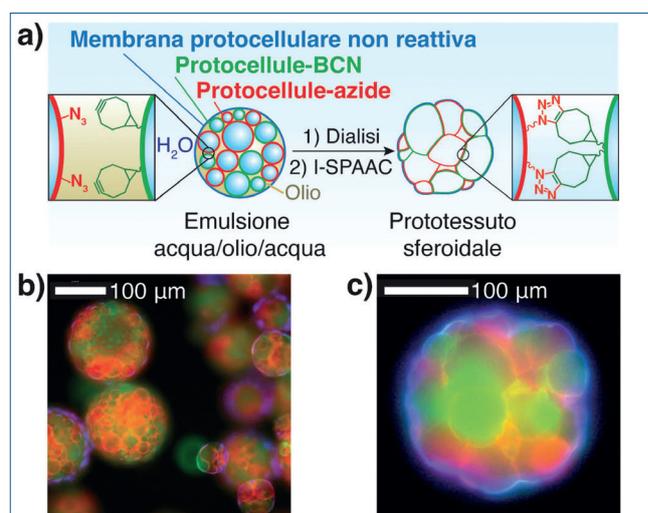


Fig. 1 - Prototessuti sferoidali: a) schema di un'emulsione multipla acqua/olio/acqua prima e dopo la rimozione della fase oleosa e la reazione I-SPAAC tra protocellule con azide e biciclo[6.1.0]nonino (BCN) contenuti all'interno di una membrana protocellulare non reattiva; b,c) micrografie a fluorescenza di un'emulsione multipla (b) e di un prototessuto sferoidale trasferito in acqua (c) strutturati come descritto in (a). Rosso = protocellule-azide; verde = protocellule-BCN; blu = membrana esterna non reattiva. Immagini tratte da [4]

A Pierangelo Gobbo è stato conferito il premio "Giacomo Ciamician" 2021 dalla Divisione di Chimica Organica della SCI.

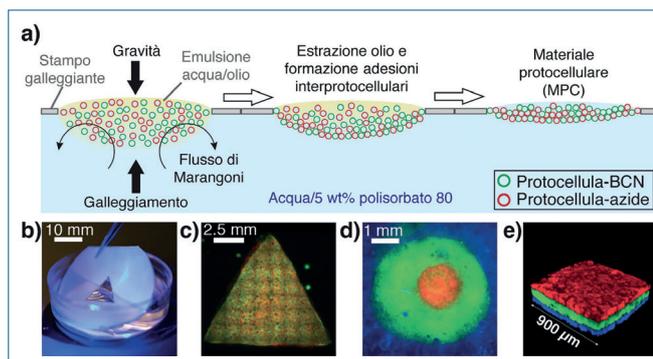


Fig. 2 - Materiali protocellulari (MPC): a) tecnica per la fabbricazione di MPC: i MPC sono costituiti da una popolazione binaria di protocellule-BCN e -azide in olio. L'estrazione dell'olio dall'emulsione nello stampo porta le protocellule a contatto innescando la reazione I-SPAAC; b) fotografia di uno stampo in PTFE contenente un MPC a forma di triangolo. Il menisco d'acqua che attraversa lo stampo evidenzia la presenza del MPC trasparente; c) micrografia a fluorescenza del MPC in (b). Rosso = protocellule-azide; verde = protocellule-BCN. d) Micrografia a fluorescenza di un MPC con pattern 2D formato da tre popolazioni miste di protocellule-azide e -BCN. Le tre diverse popolazioni binarie di protocellule sono marcate con tag fluorescenti diversi (rosso, verde e blu); e) ricostruzione 3D di un MPC stratificato a 3 livelli generato dall'aggiunta successiva di emulsioni di protocellule nello stesso stampo in PTFE. Tutti gli strati sono composti da una popolazione binaria di protocellule-azide e -BCN e sono marcati come in (d). Immagini tratte da [6]

zione di piccoli prototessuti sferoidali composti da una popolazione binaria di protocellule funzionalizzate con azidi o cicloalchini (Fig. 1). La formazione di legami covalenti tramite I-SPAAC non solo evita la disgregazione delle unità protocellulari, ma è anche alla base delle proprietà avanzate del tessuto sintetico. Infatti, l'assemblaggio covalente di più popolazioni di protocellule specializzate permette la programmazione chimica del materiale, che può quindi eseguire ampie contrazioni, comunicare chimicamente ed eseguire trasduzione mecano-chimica. In un lavoro successivo è stata poi dimostrata la possibilità di assemblare prototessuti sferoidali con tecniche di microfluidica, consentendo così una precisa programmazione delle funzionalità sia fisiche che metaboliche del tessuto sintetico [5].

Infine, su *Advanced Materials* abbiamo dimostrato per la prima volta la possibilità di assemblare milioni di protocellule bio-ortogonali in veri e propri *materiali protocellulari* (MPC) di qualche centimetro di dimensione e caratterizzati da architetture 3D complesse (Fig. 2) [6]. I MPC sono stabili in acqua per mesi e sono in grado di comunicare sia internamente (comunicazione tra protocellula e protocellula) che con l'ambiente esterno. Siamo poi riusciti a generare i primi *array* bidimensionali di MPC che hanno permesso la rilevazione spaziotemporale di

molecole in condizioni fuori dall'equilibrio chimico. Lo sviluppo di tessuti sintetici in grado di emulare i comportamenti dei tessuti viventi (ad es. comunicazione chimica, contrattilità, fototropismo, simbiosi, omeostasi ecc.) a partire da molecole e (nano)materiali funzionali è allo stesso tempo sia una sfida che una grande opportunità per la comunità chimica. La fabbricazione di tessuti sintetici con proprietà biomimetiche sempre più avanzate non solo ci aiuterà a comprendere le basi chimico-fisiche dei comportamenti emergenti dei tessuti viventi, ma troverà anche importanti applicazioni in ingegneria dei tessuti, farmacocinetica, meccanobiologia, terapia personalizzata, sviluppo di micro-bioreattori e *soft robotica*. In un futuro prossimo, potrebbe essere possibile innestare tessuti sintetici su organi per fornire terapie mirate, oppure utilizzarli come organoidi per replicare ambienti cellulari ed effettuare lo screening di farmaci riducendo così la sperimentazione animale. Ma non solo. Questi tessuti potrebbero anche essere programmati chimicamente per utilizzare la luce solare per produrre idrogeno, oppure essere impiegati per assemblare la prossima generazione di *soft bots* o micro-attuatori alimentati da sostanze chimiche.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] a) C. Xu *et al.*, *Mater. Today*, 2016, **19**(9), 516; b) H. Jia *et al.*, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2019, **60**, 179; c) B.C. Buddingh *et al.*, *Acc. Chem. Res.*, 2017, **50**(4), 769; d) M. Li *et al.*, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2014, **22**, 1.
- [2] a) J.W. Szostak *et al.*, *Nature*, 2001, **409**, 387; b) O.D. Toparlak *et al.*, *Exp. Biol. Med.*, 2019, **244**, 304.
- [3] P. Gobbo, *Biochem. Soc. Trans.*, 2020, BST20200310.
- [4] P. Gobbo *et al.*, *Nat. Mater.*, 2018, **17**, 1145.
- [5] K. Ramsay *et al.*, *Lab Chip*, 2021, **21**, 4574.
- [6] A. Galanti *et al.*, *Adv. Mater.*, 2021, **33**(24).

### The Dawn of Protocellular Materials

Protocells are a vital tool to biology because they allow for the investigation of complex biological phenomena in a simple and controlled environment. Within this new and interdisciplinary research field, we used interfacial bio-orthogonal chemistry to assemble protocell units into novel materials that mimic living tissues.