B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION


Estrazione


Identificazione


Simulazione di digestione

Sistemi cellulari


Modelli in vivo ethic-free


Studi di intervento

Caratterizziamo e Valorizziamo la Prevenzione

Ministero dell'Università e della Ricerca

Italiadomani
PIANO NAZIONALE DI RIPRESA E RESILIENZA

onfoods

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO BICOCCA

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

IL TEAM

B-NutrRI Platform nasce per rispondere alla crescente richiesta di ingredienti naturali bioattivi.
Grazie all'unione delle competenze di professori e ricercatori dell'università di Milano-Bicocca, **B-NutRI Platform** fornisce alti livelli di conoscenza scientifica, metodi multidisciplinari e strumenti competitivi per identificare le proprietà biologiche di nuovi prodotti, o di prodotti già in commercio, potenziandone il valore biologico e funzionale.



Prof. Massimo Labra



Prof.ssa Paola Fusi



Prof. Simone Guglielmetti



Prof.ssa Elena Regonesi



Prof. Luca Campone



Prof.ssa Paola Palestini



Prof.ssa Alessandra Bulbarelli



Dr. Lorenzo Guzzetti



Prof.ssa Paola Coccetti



Dr.ssa Stefania Pagliari



Dr.ssa Elena Lonati



Prof.ssa Federica Facciotti



Dr.ssa Farida Tripodi



Dr.ssa Matilde Forcella

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

L'obiettivo di **B-NutRI Platform** è aiutare le aziende e gli enti di ricerca nello sviluppo di nuovi ingredienti funzionali, processi green e di economia circolare.

B-NutRI Platform consente di identificare e caratterizzare sia chimicamente che biologicamente estratti naturali, ingredienti e nutraceutici ad alto valore biologico, riducendo tempi e costi di sviluppo.

B-NutRI Platform offre un approccio completo, integrato e modulare che permette di creare progetti personalizzati.

Inoltre, fornisce un approccio centralizzato che permette di avere un supporto chiaro in ogni fase: dalla pianificazione iniziale, all'identificare i protocolli più adatti per l'ottenimento dei dati scientifici.



CONTATTI

barbara.sciandrone@unimib.it

LA MISSION

Ottimizzazione di processi estrattivi eco-sostenibili

•

Caratterizzazione chimica

•

Simulazione di digestione in vitro

•

Validazione pre-clinica con modelli cellulari e animali ethic-free

•

Approcci "omici"

•

Studi di intervento in uomo

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

LE TECNOLOGIE

Ottimizzazione di processi estrattivi eco-sostenibili

- Sviluppo e ottimizzazione di processi estrattivi mediante:
  - Ultrasound assisted extraction
  - Pressurized liquid extraction
  - Supercritical fluid extraction

Caratterizzazione chimica

- Valutazione delle bio-attività tramite saggi spettrofotometrici rapidi:
  - Attività scavenger dei radicali
  - Attività ipoglicemizzante
  - Attività ipolipidemizzante
  - Attività antiossidante
  - Attività neuroprotettiva
- Utilizzo di saggi per la valutazione del contenuto totale di:
  - Polifenoli
  - Proteine
  - Zuccheri
  - Lipidi
  - Fibre
- Analisi qualitative e quantitative, sia mirate (tergeted) che esplorative (untargeted), effettuate tramite tecniche cromatografiche liquide e gas integrate con rivelatori UV, FLD, RID, FID e sistemi di spettrometria di massa ad alta risoluzione (GC-MS, LC-MS).

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

LE TECNOLOGIE

Simulazione di digestione in vitro

Modello di simulazione della digestione gastrointestinale e interazione con il microbiota intestinale *in vitro* (INFOGEST + SMiCS).

Le analisi di specifici analiti di interesse e/o gli studi metabolomici sono disponibili attraverso la piattaforma analitica interna **ASMS** (Advanced Spectroscopy and Mass Spectrometry Facilities).

- Simulazione del processo digestivo umano mediante digestione statica *in vitro* conforme al protocollo INFOGEST, seguita da incubazione in batch in condizioni strettamente anaerobiche con sospensioni fecali umane stabilizzate (SMiCS). Il workflow consente di valutare sia la trasformazione della matrice alimentare, nutraceutica, o di una molecola bioattiva di interesse, sia il loro impatto sul microbiota intestinale umano. I due protocolli possono essere eseguiti anche in modo indipendente e adattati a esigenze specifiche, come ad esempio:
  - Modelli con assunzione simulata di inibitori di pompa protonica
  - Modelli di challenge con patogeni alimentari
  - Modelli di disbiosi patologia-specifici

In seguito al protocollo INFOGEST+SMiCS è possibile condurre:

- Caratterizzazione chimica post-digestione
- Profilazione metatassonomica di batteri (16S rRNA) e funghi (ITS)
- Sequenziamento metagenomico shotgun per la definizione della composizione tassonomica e del potenziale funzionale del microbiota intestinale
- Identificazione e quantificazione di microrganismi specifici, inclusi ceppi esogeni introdotti con il prodotto (ad es. probiotici), tramite qPCR specifica di ceppo e coltivazioni selettive
- Quantificazione degli acidi grassi a catena corta (SCFA) mediante analisi cromatografica

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

LE TECNOLOGIE

Validazione pre-clinica con modelli cellulari e animali ethic-free

Modello transwell mono-, bi- o tri-coltura per simulare la barriera intestinale umana sana o in diversi stadi di infiammazione

Linee cellulari umane utilizzate:

- CaCo2, adenocarcinoma del colon-retto
- HT29, adenocarcinoma del colon-retto
- THP-1, monocitica umana derivata dal sangue periferico di pazienti con leucemia mieloide acuta
- Linfociti T primari
- Cellule dendritiche autologhe
- Linfociti B primari e immortalizzati
- PBMC (Peripheral blood mononuclear cell) linfociti e monociti derivanti dal sangue periferico di individui sani o pazienti

- Screening di molecole attive mediante sistema high-throughput screening Omnilog con valutazione di:
  - tossicità
  - lifespan
  - effetto antiossidante
- Valutazione delle proprietà ipocolesterolemiche:
  - Quantificazione dei livelli proteici della proteina NPC1L1, implicata nel trasporto del colesterolo
- Risposta infiammatoria e immunitaria:
  - Valutazione della produzione e rilascio di citochine IL-8 e IL-6
  - Valutazione dei pathway proteici pro-infiammatori e di stress ossidativo
  - Valutazione del metabolismo dell'acido arachidonico: quantificazione dei livelli proteici di cPLA2 e COX-2 e della produzione di PGE2
- Studio della permeabilità intestinale:
  - Misura della resistenza elettrica transepiteliale (TEER)
  - Quantificazione dei livelli proteici delle proteine di giunzione

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

LE TECNOLOGIE

Validazione pre-clinica con modelli cellulari e animali ethic-free

Modelli cellulari umani monocoltura

Linee cellulari umane utilizzate:

- Linfociti T primari
- Cellule dendritiche autologhe
- Linfociti B primari e immortalizzati
- PBMC (Peripheral blood mononuclear cell) linfociti e monociti derivanti dal sangue periferico di individui sani o pazienti
- CCD 841, mucosa sana di colon
- FHS74, sana di duodeno
- CCD-18Co, mucosa sana di colon
- HepG2, epatocarcinoma
- HT29 carcinoma colorettale BRAF mutato
- SW480, carcinoma colorettale KRAS mutato
- SW620, carcinoma colorettale metastatico KRAS mutato

- Studio delle risposte infiammatorie, tollerogeniche e immunoregolatorie utilizzando cellule del sistema immunitario:
  - Vitalità tramite citofluorimetria a flusso
  - Valutazione dell'espressione di molecole di superficie e di molecole di attivazione/inibizione
  - Livelli di espressione delle citochine

- Effetto su linee cellulari epiteliali umane:
  - Vitalità tramite citofluorimetria a flusso
  - Valutazione dell'espressione di molecole di superficie

- Valutazione stress ossidativo:
  - Quantificazione ROS totali tramite sonda a fluorescenza (H_2DCF-DA)
  - Quantificazione tramite sonde fluorescenti di anione superossido citosolico (DHE) e mitocondriale (mitoSOX)
  - Dosaggio colorimetrico glutatione totale e rapporto GSSG/GSH
  - Dosaggio spettrofotometrico degli enzimi glutatione reduttasi, glutatione S-transferasi e superossido dismutasi

- Valutazione attività mitocondriale:
  - Misurazione potenziale di membrana mitocondriale mediante sonda JC-1 o sonda DiOC6
  - Valutazione funzionalità mitocondriale tramite tecnologia Seahorse (mito stress test)

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

LE TECNOLOGIE

Validazione pre-clinica con modelli cellulari e animali ethic-free

Modelli cellulari umani monocoltura

Linee cellulari umane utilizzate:

- Linfociti T primari
- Cellule dendritiche autologhe
- Linfociti B primari e immortalizzati
- PBMC (Peripheral blood mononuclear cell) linfociti e monociti derivanti dal sangue periferico di individui sani o pazienti
- CCD 841, mucosa sana di colon
- FHS74, sana di duodeno
- CCD-18Co, mucosa sana di colon
- HepG2, epatocarcinoma
- HT29 carcinoma colorettale BRAF mutato
- SW480, carcinoma colorettale KRAS mutato
- SW620, carcinoma colorettale metastatico KRAS mutato

- Valutazione del metabolismo energetico:
  - Valutazione produzione totale di ATP con tecnologia Seahorse (ATP rate assay), discriminando tra la frazione di ATP glicolitico e mitocondriale
  - Profilo energetico con Seahorse
  - Analisi della dipendenza dai nutrienti per la respirazione cellulare tramite Seahorse (mitofuel dependency test)
  - Valutazione dei parametri glicolitici con Seahorse glycostress test e/o dosaggio spettrofotometrico degli enzimi piruvato chinasi (PK) e lattico deidrogenasi (LDH)
- Analisi del ciclo cellulare e apoptosi tramite Citoflex.
- Riduzione del contenuto lipidico:
  - Imaging e quantificazione lipid droplets tramite saggio colorimetrico Oil Red
  - Quantificazione dei lipidi totali tramite saggio colorimetrico
  - Lipidomica di estratti cellulari (MS)
- Valutazione di specifici target e pathway molecolari:
  - espressione genica tramite real-time PCR
  - livelli proteici tramite western blot

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

LE TECNOLOGIE

Validazione pre-clinica con modelli cellulari e animali ethic-free

Modelli cellulari e animale ethic-free di *Caenorhabditis elegans*

Modello cellulare di Parkinson

- SH-SY5Y, con over-espressione della proteina α-synucleina

Ceppi di *C. elegans* utilizzati:

- wild-type
- mutanti nei pathways di invecchiamento
- mutanti nei pathways della perossidazione lipidica
- modelli di neurodegenerazione (amiloidosi da poli-Q, Alzheimer)
- mutanti della trasmissione neuro-muscolare

- Analisi fenotipica qualitativa e quantitativa:
  - Lifespan
  - Test di motilità
  - Quantificazione dei ROS totali tramite sonda a fluorescenza (H_2DCF-DA)
  - Accumulo di lipofuscina tramite imaging confocale
- Analisi cognitive:
  - Memoria associativa
  - Memoria a breve e lungo termine
  - Analisi della trasmissione neuromuscolare tramite utilizzo di inibitori specifici
- Studi di aging:
  - analisi fenotipiche condotte in età avanzata
- DART assay (developmental and reproductive toxicity):
  - Quantificazione della progenie
  - Analisi dello sviluppo della progenie
  - Analisi del periodo di fertilità

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

LE TECNOLOGIE

Validazione pre-clinica con modelli cellulari e animali ethic-free

Modelli cellulari e animale ethic-free di *Caenorhabditis elegans*

Modello cellulare di Parkinson

- SH-SY5Y, con over-espressione della proteina α-synucleina

Ceppi di *C. elegans* utilizzati:

- wild-type
- mutanti nei pathways di invecchiamento
- mutanti nei pathways della perossidazione lipidica
- modelli di neurodegenerazione (amiloidosi da poli-Q, Alzheimer)
- mutanti della trasmissione neuro-muscolare

- Studi sugli effetti ipo-glicemizzanti, ipo-lipidemizzante e lipo-stimolante di nutraceutici:
  - Analisi qualitativa e quantitativa dei lipid droplets tramite saggio colorimetrico Oil Red
  - Quantificazione dei lipidi totali tramite saggio colorimetrico
  - Quantificazione del livelli di glucosio
  - Quantificazione dei livelli di ATP
- Studi di adesione intestinale di probiotici tramite conteggio delle CFU (colony forming unit).
- Valutazione di specifici target e pathway molecolari tramite:
  - Utilizzo di mutanti
  - Real-time PCR

B-NutRI Platform

BICOCCA – NUTRACEUTICAL RESEARCH & INNOVATION

LE TECNOLOGIE

Approcci "omici"

- Analisi -omiche per indagini targeted e untargeted di campioni biologici:
  - Metabolomica
  - Lipidomica
  - Proteomica
- Metatassonomia batterica e funginea
- Sequencing metagenomico con tecnica shotgun

Studi di intervento in uomo

- Studi su popolazioni umane sane o con patologie cliniche in collaborazione con centri ospedalieri (per es., Ospedale San Gerardo di Monza). Nel caso di studi di intervento con popolazioni adulte sane, lo studio sarebbe gestito internamente in ogni passaggio: dall'approvazione attraverso il Comitato Etico dell'Ateneo, fino al reclutamento dei volontari, semplificando e riducendo molto le tempistiche per la realizzazione dello studio.



Finanziato
dall'Unione europea
NextGenerationEU

Ente finanziatore: Progetto finanziato dall'Unione Europea – NextGenerationEU – Piano Nazionale Resistenza e Resilienza (PNRR) – Missione 4 Componente 2 Investimento 1.3 – Avviso N. 341 del 15 marzo 2022 del Ministero dell'Università e della Ricerca.
Award Number: Codice progetto PE00000003, Decreto Direttoriale MUR n. 1550 dell'11 ottobre 2022 di concessione del finanziamento, CUP H43C22000820001, titolo progetto "ON Foods – Research and innovation network on food and nutrition Sustainability, Safety and Security – Working ON Foods".