

Dottorato

Titolo

Definizione di allergeni alimentari da fonti proteiche non convenzionali e di nuovi processi per la valutazione e la riduzione del loro potenziale tossico

Proponente tutor

Prof. Pasquale Ferranti (co-tutor Dr. Gianfranco Mamone, CNR)

Obiettivi del progetto di ricerca nel triennio e collaborazioni interdisciplinari
(max 2000 caratteri spazi inclusi)

Le fonti proteiche alimentari stanno cambiando rapidamente e continueranno a cambiare drasticamente anche nei prossimi anni. La produzione alimentare globale dovrà adattarsi ai bisogni di una popolazione stimata in nove miliardi di individui nel 2030. Dall'utilizzo di nuove fonti proteiche (nuovi legumi, cereali, pseudocereali, ma anche alghe o insetti), quindi, emergono importanti implicazioni relative alla sicurezza alimentare e alla sostenibilità ambientale. L'introduzione di nuove colture e la globalizzazione del comparto alimentare stanno già esponendo il consumatore a nuovi reali o potenziali allergeni. Oltre alla disponibilità di nuove matrici/ingredienti, lo sviluppo di processi di trasformazione innovativi può generare neoallergeni ed epitopi tossici la cui definizione è di cruciale importanza per la sicurezza alimentare.

L'attività di ricerca prenderà in esame matrici a base di cereali minori e pseudocereali e altri 'novel crops' allo scopo di produrre ingredienti (proteici) da impiegare nella formulazione di alimenti ipoallergenici. Una volta caratterizzate le matrici proteiche mediante analisi de novo, le sequenze proteiche saranno incrociate con le sequenze di allergeni/epitopi noti su database specifici (quali allergome.com) per ottenere una previsione *in silico* del rischio allergenico. Considerato lo scarso valore predittivo del potenziale allergenico basato sull'omologia di sequenza, si procederà quindi alla caratterizzazione molecolare degli allergeni nelle nuove matrici proteiche, incluso l'effetto dei trattamenti tecnologici necessari alla loro produzione e quelli che la digestione gastrointestinale può esercitare sul loro potenziale allergenico.

Dal punto di vista sperimentale, l'attività prevederà: i) l'analisi delle matrici proteiche mediante elettroforesi mono- e bi-dimensionale e spettrometria di massa; ii) valutazione della stabilità delle matrici proteiche alle proteasi mediante simulazione della digestione gastrointestinale, e mediante spettrometria di massa gel-free (shotgun proteomics). Il disegno sperimentale proposto permetterà la ricerca specifica di neoepitopi. Le informazioni ottenute consentiranno inoltre di sviluppare protocolli analitici cellulari per la valutazione della sicurezza dei 'novel foods' nei confronti dei soggetti allergici o a rischio di sviluppare reazioni avverse.

Colaborazioni interdisciplinari: Il progetto di ricerca prevede la stretta interazione tra tecnologi alimentari (Ferranti), chimici degli alimenti (Mamone) e nutrizionisti.

Elementi di innovazione e/o originalità del progetto rispetto allo stato dell'arte
(max 2000 caratteri spazi inclusi)

Questo progetto si pone all'interfaccia tra la ricerca di base ed applicata nel campo del monitoraggio e della sicurezza dei prodotti alimentari, con particolare riguardo alle nuove fonti proteiche. Giova ricordare a riguardo che non esiste ancora una metodica ufficiale per la determinazione di allergeni in alimenti, tantomeno in matrici proteiche

non convenzionali, il che è proprio l'obiettivo della COST Action 1042 ImpARAS (Improving Allergy Risk Assessment Strategy for New Food Proteins), a cui il gruppo proponente partecipa fino dal 2014.

Questo progetto di dottorato punta a creare modelli di previsione finalizzati a: (1) valutare il potenziale allergenico di nuove matrici proteiche non convenzionali, su base strutturale; (2) mettere a punto metodiche per monitorare la presenza di epitopi allergenici in matrici anche sottoposte a trattamenti tecnologici.

A tal fine, la componente proteica e peptidica verrà analizzata mediante analisi proteomica basata sulla combinazione di metodiche separative ad alta risoluzione con la spettrometria di massa onde valutare sia le proteine allergeniche che la formazione eventuale di neoepitopi, potenzialmente anche più tossici delle proteine di partenza. La tecnica permette di mettere a punto metodiche 'multiplexed' per la determinazione contemporanea di svariate decine di diversi epitopi nei prodotti. Una volta validati, i dati saranno impiegati per fornire indicazioni per la realizzazione di kit immunoenzimatici per la determinazione rapida, affidabile ed economica di allergeni nei prodotti. Questi dati serviranno inoltre sia a fornire indicazione per il monitoraggio dei prodotti già disponibili che per l'ottimizzazione dei nuovi processi produttivi concepiti per realizzare alimenti a ridotto potenziale allergenico.

In prospettiva, tali informazioni potranno rientrare negli schemi di produzione in grado di operare in automazione ed in remoto, contribuendo alla creazione di banche dati per il monitoraggio dei processi produttivi e della distribuzione dei prodotti stessi, aumentando la tracciabilità e la sicurezza legata al loro consumo.

Disponibilità fondi (finanziamenti a sostegno delle attività di ricerca previste)

- PRIN 2015 Prof. P. Ferranti (presso ISA-CNR Avellino) 39.000 euro scadenza 31-12-2019.
- Interomics, Dr. Mamone, scadenza 31/12/2018.

Collaborazioni con istituzioni straniere

(max 500 caratteri spazi inclusi)

Sono previste collaborazioni con gruppi di ricerca con i quali già sussistono interazioni su questo specifico tema, in particolare con il Manchester Academic Health Science Centre (Università di Manchester, UK, Prof Clare Mills), dove il dottorando potrà effettuare il suo periodo di soggiorno all'estero e con il CIAL-CSIC di Madrid (dr. Isidra Recio) con cui è già in atto lo studio di allergeni in legumi e cereali minori e con cui verranno compiuti gli esperimenti di digestione gastrointestinale e di immunoreattività.

Title

Definition of food allergens from non-conventional protein sources and of new processes for assessment and reduction of their toxic potential

Proposing tutor

Prof. Pasquale Ferranti (co-tutor Dr. Gianfranco Mamone, CNR)

Project objectives

Food protein sources are changing rapidly and will continue to change drastically in the next years. Global food production will have to adapt to the needs of a population estimated at nine billion people in 2030. Therefore, important safety and sustainability issues will emerge from the use of new protein sources (new legumes, cereals, pseudocereals, but also algae or insects). The introduction of new crops and the globalization of the food sector are already exposing the consumer to new potential allergens. In addition to the availability of new matrices/ingredients, the development of innovative technological processes can generate toxic neoallergens and epitopes whose definition is of crucial importance for food safety.

The research activity within this project will examine matrices based on minor cereals, pseudo-cereal and other 'novel crops' in order to produce (protein based) ingredients to be used in the formulation of hypoallergenic foods. Once the protein matrices have been characterized by de novo analysis, the protein sequences will be compared with the known allergen/epitope sequences on specific databases (such as allergome.com) to obtain an *in silico* prediction of the allergenic risk. However, given the low predictive value of the allergenic potential based on the sequence homology, we will proceed to the molecular characterization of the allergens in the new protein matrices, including the effect of the technological treatments necessary for their production and those that the gastrointestinal digestion can exert on their potential allergenic.

From the experimental point of view, the activity will include: i) the analysis of the protein matrices by mono- and bi-dimensional electrophoresis and mass spectrometry; ii) evaluation of the stability of protein matrices to proteases through simulation of gastrointestinal digestion by gel-free mass spectrometry (shotgun proteomics). The proposed experimental design will allow the specific identification of allergy neoepitopes. The information obtained will also allow the development of cellular analytical protocols for the assessment of the safety of novel foods for allergic subjects and for those at risk of developing adverse reactions.

Interdisciplinary collaborations: The research project involves the close interaction between food technologists (Ferranti), food chemists (Mamone) and nutritionists.

Innovation and progress beyond the state of the art

This project is at the interface between basic and applied research in the field of monitoring of food safety, with particular regard to new protein sources. It should be remembered in this regard that at present there is no official method for allergens determination in foods, a particularly urgent issue in unconventional protein matrices. This is precisely the goal of the COST Action 1042 ImpARAS (Improving Allergy

Risk Assessment Strategy for New Food Proteins), to which the proposing group has been participating since 2014.

This doctoral project aims to create predictive models aimed at: (1) evaluating the allergenic potential of new unconventional protein matrices on a structural basis; (2) developing methods to monitor the presence of allergenic epitopes in these matrices, also subjected to technological treatments.

To this aim, the protein and peptide component will be analyzed by proteomic analysis based on the combination of high resolution separative methods with mass spectrometry to evaluate both the allergenic proteins and the possible formation of neoepitopes, potentially even more toxic than the starting proteins. The technique allows the development of multiplexed methods for the simultaneous determination of multiple different epitopes in the products. Once validated, the data will be used to provide indications for the implementation of immunoenzymatic kits for the rapid, reliable and cheap determination of allergens in products. These data will also serve to provide indications for monitoring the products already available and for the optimization of new production processes designed to produce foods with reduced allergenic potential.

In perspective, this information can be integrated in food production processes able to operate in automation and remotely, contributing to the creation of databases for monitoring processing and the distribution of products, increasing traceability and safety issues linked to their consumption.

Collaborations with foreign Institutions

Collaborations are foreseen with research groups with whom interactions already exist on this specific topic, in particular with the Manchester Academic Health Science Center (University of Manchester, UK, Prof Clare Mills), where the student will be able to carry out his/her working period abroad, and with the CIAL-CSIC of Madrid (Dr. Isidra Recio) where collaborative study of allergens in legumes and minor cereals is already underway, and where the experiments of gastrointestinal digestion and immunoreactivity will be performed.