

PIANO ANNUALE 2006

Preliminare

Scienze della Vita

Elenco dei Progetti:

Meccanismi di regolazione dell'espressione genica

Processi molecolari alla base di variabilità ed alterazioni genetiche e della plasticità genomica

Struttura tridimensionale, funzione e progettazione di proteine ed acidi nucleici

Strutture e meccanismi di funzionamento di complessi sopramole colari biologici

Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e omeostasi cellulare

Meccanismi di trasmissione e trasduzione di segnali biologici

Meccanismi di adattamento a condizioni estreme ed allo stress

Progettazione di banche dati biologiche e programmi di analisi

Metodologie per lo studio di popolazioni biologiche

Organismi modello per lo studio di processi fisiologici e patologici

Modelli animali per lo studio del comportamento

Genomica e proteomica per lo studio e la salvaguardia della biodiversità



Meccanismi di regolazione dell'espressione genica



Biogenesi delle Membrane di Trasduzione dell'Energia.

Dati generali

Progetto:Meccanismi di regolazione dell'espressione genicaTipologia di ricerca:Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomembrane e bioenergetica

Sede principale svolgimento: Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza: Scienze della Vita

Responsabile indicato: MARIA NICOLA GADALETA

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv. Ceci Luigi Ruggiero III Gattulli Bruno Angelo VII Musicco Clara III
De Leo Francesca III

Temi

Tematiche di ricerca

Studio del sistema genetico mitocondriale in organismi modello (riccio di mare, Drosophila, ratto) e dei fattori che ne regolano l'espressione in condizioni di stress e dopo vari trattamenti nutrizionali e farmacologici. Studio di alterazioni del DNA mitocondriale (mtDNA) associate all'età e ad alterazioni metaboliche, quali diabete e ipotiroidismo, nell'uomo. Studio dell'efficacia del controllo nutrizionale sulla lipemia e sulla modulazione del rischio cardiovascolare. Studio dell'interazione tra inibitori di proteasi (IP) di pianta e proteasi di insetto. Studio dei meccanismi molecolari di risposta a stress nella fotosintesi. Bio-remediation da metalli mediante batteri fotosintetici. Biopeptidi ricombinanti come nutraceuticals. Meccanismi di import di tRNA in mitocondri di piante superiori.

Stato dell'arte

Le proteine coinvolte nella replicazione e trascrizione mitocondriale, in particolare nella terminazione della trascrizione, sono ancora poco note.In condizioni di stress quali aging e unloading si evidenzia una ridotta biogenesi mitocondriale sostenibile con vari interventi nutrizionali.Lo stato di ossidazione delle biomolecole può essere modificato.Gli insetti hanno sviluppato proteasi insensibili agli IP vegetali,lo studio dell'interazione IP-proteasi permette di comprendere il meccanismo di adattamento e sviluppare strategie per la sintesi di nuovi IP.Alcune proteine della fotosintesi sono implicate nella risposta a stress(p.e.:elevato irraggiamento o presenza di metalli per i fotobatteri),il loro studio è fondamentale per comprendere le caratteristiche strutturali implicate nell'adattamento e permetterà di individuare possibili utilizzi dei batteri nella bioremediation.Tre biopeptidi sono stati espressi in forma ricombinante ed attiva da E.coli:l'attività anti-ipertensiva è stata determinata in vitro.E' stato postulato un ruolo rilevante dell'aminoacil sintetasi nell'import di tRNA in mitocondri di piante.Questi enzimi saranno espressi in E.coli per studiare l'import di tRNA

Azioni

Attività da svolgere

Studio, nel sistema modello del riccio di mare, del complesso di terminazione della trascrizione mitocondriale formato da RNA polimerasi e fattore di terminazione mtDBP. Studio dei fenotipi knock-down del fattore di terminazione della trascrizione DmTTF e dei suoi omologhi in cellule di Drosophila. Studio dei pathway metabolici di muscolo scheletrico atrofico di ratto attivati dall`acetil-L-carnitina. Studio degli effetti della restrizione calorica sulla biogenesi mitocondriale in vari tessuti di ratto vecchio. Studio dei polimorfismi del mtDNA predisponenti al diabete di tipo 2. Separazione e purificazione della Lipoproteina Lp(a) dei soggetti in studio, mediante cromatografia su Lentil Lectin Sepharose: valutazione dello stato di ossidazione della lipoproteina. Caratterizzazione di inibitori di proteasi (IP) da Cruciferae. Studio dell'attività proteasica in afidi. Analisi trascrizionale dei geni Lhcb da spinacio. Studio della risposta ai metalli del batterio fotosintetico R.sphaeroides. Produzione di biopeptidi ad attività anti-ipertensiva. Ruolo delle aminoacil-sintetasi nell`import di tRNA in mitocondri di piante.

Punti critici e azioni da svolgere

Necessità di integrare la strumentazione disponibile e di aggiornare i software. Azioni:Espressione in cellule in coltura di insetto e purificazione della RNA pol. mitoc. ricombinante di riccio di mare; messa a punto di un sistema in vitro di trascrizione in presenza del fattore mtDBP;Creazione di fenotipi knock-down di DmTTF e dei suoi omologhi mediante RNA interference in cellule di Drosophila e caratterizzazione dei fenotipi molecolari;Analisi dei trascritti mediante Real-Time PCR e dei livelli proteici mediante western blot ed



elettroforesi bidimensionale differenziale;Sequenziamento della regione regolatoria del mtDNA e del tRNALeu di un vasto campione di individui diabetici e non, italiani, con o senza complicanze cardiovascolari;Separazione della Lp(a) a partire da una ridotta quantità di plasma mediante cromatografia di affinità;Gli IP identificati non sono più efficaci di quelli già noti, si cercherà il potenziamento dell'attività mediante selezione di mutanti random;L'adattamento ai metalli del R.sphaeroides non evidenzia spiccate differenze a livello proteomico:sarà approfondita l'analisi trascrizionale;Clonaggio di cDNA di aminoacil-sintetasi ed espressione in E.coli

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Tecnologia del DNA ricombinante; Tecnologia dell'RNA; Tecniche di analisi dell'espressione genica; Microarrays; Real-Time PCR; Tecniche di purificazione delle proteine; Espressione di proteine in sistemi eucariotici; Proteomica; Tecniche per l'analisi delle interazioni proteina-proteina in vitro e in vivo; Tecniche di analisi delle alterazioni del DNA mitocondriale; Tecniche istochimiche e biomolecolari per lo studio delle alterazioni genotipiche e fenotipiche del muscolo scheletrico; Saggi di attivazione del plasminogeno alla superficie cellulare o su piastre di fibrina; Caratterizzazione fenotipica e genotipica di lipoproteine native e ossidate; Detection e saggi di attività delle metalloproteasi mediante zimografia; Biotecnologie vegetali; Ingegnerizzazione di sequenze geniche identificate e loro utilizzo per l'espressione in sistemi procariotici (batteri) ed eucariotici (lieviti e piante); Studio dell'interazione proteasi-inibitore di proteasi mediante saggi di attività e tecniche di evoluzione molecolare (phage display); Saggi biochimici per determinare l'attività di enzimi e peptidi attivi. DNA uptake, run-on e run-off. Trascrizione in organello.

Collaborazioni (partner e committenti)

Dip. di Biochimica e Biologia Molecolare Univ. di Bari; Dip. di Medicina Interna e Invecchiamento, Univ. di Chieti; Sigma Tau, Industrie Farmaceutiche Riunite, Roma; ISMAC CNR-Milano; IRCCS De Bellis, Castellana Grotte (BA); Dip. di Anatomia, Univ. di Berna; Lab. Biochemistry of Aging, University of Gainesville, Florida; Lab. Biologie des Entomophages, Univ. Amiens, France; Dep. Medical Nutrition, Karolinska Institut, Stoccolma; Dip. di Biochimica, Univ. di Madrid; Dip. di Biochimica e Biologia Cellulare e Molecolare, Univ. di Zaragoza, Spagna.

Finalità

Obiettivi

Pubblicazioni scientifiche su riviste nazionali ed internazionali. Sviluppo di conoscenze sui meccanismi della biogenesi mitocondriale, del signaling nucleo-mitocondrio, degli effetti di interventi nutrizionali sulla bioenergetica cellulare e sul controllo dei fattori di rischio cardiovascolare. Identificazione e caratterizzazione di nuovi IP di origine vegetale e sintetici. Identificazione delle caratteristiche strutturali delle proteine coinvolte nella risposta degli organismi fotosintetici agli stress ambientali. Formulazione di alimenti funzionali ad azione anti-ipertensiva. Saggi in vivo per la determinazione dell'attività anti-ipertensiva. Import e processamento di trascritti di geni codificanti tRNA in mitocondri di piante.

Risultati attesi nell'anno

Pubblicazioni scientifiche su riviste nazionali e internazionali. Valutazione, in un sistema di trascrizione in vitro, della capacità e specificità di mtDBP di arrestare la RNA pol. mitocondriale. Caratterizzazione delle interazioni tra RNA pol. e mtDBP. Analisi del profilo qualitativo e quantitativo dei trascritti mitocondriali nei fenotipi knock-down per DmTTF e per i suoi omologhi e valutazione del profilo e dell'efficienza della traduzione mitocondriale. Identificazione di fattori coinvolti nella stimolazione della biogenesi mitocondriale da parte dell'acetil-L-carnitina e della restrizione calorica. Individuazione e caratterizzazione dei cambiamenti del mtDNA di pazienti con diabete di tipo 2. Valutazione dell'efficacia del trattamento dietetico sulla Lipoproteina Lp(a). Sviluppo di nuovi IP efficaci contro le proteasi di insetto. Acquisizione di conoscenze sull'organizzazione del fotosistema II nello spinacio. Identificazione di proteine coinvolte nella resistenza ai metalli in batteri. Produzione di alimenti funzionali ad attività anti-ipertensiva. Definizione del ruolo di una specifica aminoacil-sintetasi per l'import di un tRNA "cognate".

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Alimenti funzionali, Purificazione, Sintesi, Proteine. I biopeptidi ad azione anti-ipertensiva (coperti da brevetto) potranno essere utilizzati per la costituzione di alimenti funzionali.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Gli interventi nutrizionali studiati potranno contribuire al controllo dei fattori di rischio cardiovascolare e alla prevenzione dell'atrofia muscolare relativa a stati di immobilizzazione e invecchiamento. L'identificazione di nuovi inibitori di proteasi potrà incrementare le difese delle piante contro gli attacchi degli insetti.



Moduli

Modulo: Biogenesi delle Membrane di Trasduzione dell'Energia.

Istituto esecutore: Istituto di biomembrane e bioenergetica

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

	Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
	1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
ĺ	157	23	90	0	270	15	128	26	N.D.	311

Unità di personale di ruolo*					
ricercatori Totale					
3	4				

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
4	0	0	0	0	0	0	0	0	4

Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato	tempo indet non di ruolo* Totale					
0	3	0	3			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Regolazione dell'espressione genica

Dati generali

Progetto: Meccanismi di regolazione dell'aespressione genica

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:IDA RUBERTI

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

Si inquadrano nello studio dell'espressione del genoma mediante analisi dei trascritti (trascrittoma) e dei prodotti proteici (proteoma) con metodiche molecolari avanzate per individuare e decifrare la funzione dei geni nelle reti di regolazione. Lo studio prevede l'utilizzazione di eucarioti semplici e complessi, vegetali e animali, cellule in coltura e microorganismi ed, in particolare, l'analisi della regolazione genica durante il processo di differenziamento cellulare e nella risposta a stimoli esterni (ambientali e chimici).

Stato dell'arte

Le tecnologie genetico-molecolari hanno chiarito la funzione di geni coinvolti in diversi processi biologici consentendo la comprensione delle singole vie regolative. La conoscenza del genoma di diversi sistemi modello permette di utilizzare approcci di genomica funzionale al fine di comprendere i meccanismi molecolari operanti nelle reti regolative.

Azioni

Attività da svolgere

L'attività da svolgere riguarda lo studio dell'espressione genica e proteomica, l'analisi dei profili di espressione a livello di RNA e proteine, la determinazione della funzione di RNA e proteine, lo studio delle interazioni delle molecole biologiche in vitro e in vivo.

Punti critici e azioni da svolgere

Nelle azioni da svolgere non si evidenziano punti critici significativi e le azioni appaiono fattibili sulla base delle competenze disponibili e delle collaborazioni già esistenti. La disponibilità di contratti per giovani ricercatori gioverebbe grandemente alla prosecuzione dei progetti per apportare nuove, preziose risorse.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

L'analisi dell'espressione del genoma tramite 'microarrays' integra conoscenze di ottica, biofisica, chimica, biologia molecolare, genomica ed informatica. Le competenze sono largamente rappresentate tra i ricercatori partecipanti.

Collaborazioni (partner e committenti)

Saranno proseguite le numerose collaborazioni con Istituzioni universitarie ed Enti di Ricerca in Italia ed all'estero.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo è di decifrare la funzione dei geni nelle reti complesse, con un approccio globale finalizzato all'analisi dell'intero genoma trascritto o trascrittoma, in diverse cellule, procariotiche ed eucariotiche, ed in condizioni normali e patologiche.

Risultati attesi nell'anno

I risultati produrranno pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali. Sarà perseguita la produzione di molecole di interesse applicativo. Verranno adattate le moderne metodiche di Biologia Molecolare e di Biotecnologia a nuovi sistemi modello.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Non si prevedono impieghi per processi produttivi



- per risposte a bisogni individuali e collettivi

La conoscenza della regolazione dell'espressione genica in organismi animali e vegetali sarà utilizzata per (i) la costruzione di sistemi modello per lo sviluppo di terapie geniche nel trattamento della distrofia muscolare di Duchenne, (ii) la costruzione di prototipi di peptidi o farmaci in grado di inibire la proliferazione e la crescita di cellule neoplastiche, (iii) l'identificazione di geni regolatori delle risposte ai segnali ambientali in piante di interesse agroindustriale.

Moduli

Modulo:Regolazione dell'espressione genicaIstituto esecutore:Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

	Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
	1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
Ī	0	0	144	0	144	227	371	0	N.D.	371

Unità di personale di ruolo*					
ricercatori Totale					
3	4				

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	Unità di personale non di ruolo								
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Richiesta nuove unità di personale				
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale	
1	1	3	5	

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Studio della regolazione post-trascrizionale dell'espressione genica in risposta a stress. Fattori che controllano lo splicing dei mRNA in cellule normali e nei tumori.

Dati generali

Progetto: Meccanismi di regolazione dell'aespressione genica
Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di genetica molecolare

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:GIUSEPPE BIAMONTI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Bagarotti Cristina	VII	Gallo Balma Maria Fede	V	Lussignoli Stefano	VII
Biamonti Giuseppe	I	Ghigna Claudia	Ш	Montana Villamizar Cecilia	IX
Bianchi Anna Agata	VIII	Labo Ercole	IV	Spairani Mario	VII
Capella Paolo	VII	Lombardi Gloria	V	Tavarne' Daniela	VII
Cobianchi Fabio	III				

Temi

Tematiche di ricerca

A- Studiare la modulazione dello splicing in seguito a stress. In particolare la ricerca si occuperà di chiarire i seguenti punti: 1) definire la struttura di regioni eterocromatiniche del genoma attivate in seguito a trattamenti stressanti; 2) definire i tipi di stress che producono tale attivazione; 3) caratterizzare gli RNA non codificanti prodotti e il tipo di processamento a cui vanno incontro; 4) studiare con saggi in vitro ed in vivo in che modo gli RNA non codificanti prodotti in seguito a stress possono modulare lo splicing alternativo dei geni B- Ruolo dello splicing alternativo nella tumorogenesi: Lo splicing alternativo del gene Ron, un recettore di membrana, induce la produzione di una isoforma, <Delta>Ron, che conferisce alle cellule la capacità di migrare e ai tumori proprietà metastatiche. La ricerca si propone: 1) di studiare a livello molecolare lo splicing alternativo di Ron, 2) di verificare se una alterata espressione o attività dei fattori di splicing coinvolti sia sufficiente per la motilità cellulare e Γ insorgenza delle metastasi; 3) studiare la possibilità di correggere lo splicing alternativo di Ron con oligonucleotidi

Stato dell'arte

Lo splicing alternativo riveste un ruolo centrale, fino ad oggi sottovalutato, nella regolazione dell'espressione genica. Questo è indicato anche dal fatto che circa il 70% dei geni umani subiscono eventi di splicing alternativo. Una deregolazione dello splicing alternativo si verifica durante la progressione tumorale ed in molti casi riveste un ruolo critico nella tumorogenesi. Lo splicing alternativo è regolato da specifiche RNA binding proteins i cui livelli, attività e distribuzione sono alterati nei tumori ed in seguito ad eventi stressanti a cui le celluletumorali sono sottoposte. Lo stress induce comparti nucleari detti 'stress bodies' che si formano su regioni eterocromatiche del genoma e che sono siti di trascrizione di RNA non-codificanti. Questi RNA reclutano specifiche RNA binding proteins negli stress bodies, alterando il programma di splicing alternativo dei geni.

Azioni

Attività da svolgere

A-Abbiamo dimostrato che lo stress termico induce Γ attivazione trascrizionale di una regione eterocromatica del genoma umano (banda pericentromerica q12 del cromosoma 9) con la conseguente produzione di RNA composti da ripetizione di sequenze di satellite III. Ci proponiamo di definire Γ insieme di situazioni stressanti che possono indurre tale evento (es: UV, agenti danneggianti il DNA, trattamenti che interferiscono con il ciclo cellulare, stress osmotico, ipossia). Vogliamo inoltre stabilire 1) se ci sia coinvolgimento dei pathway di checkpoint e 2) il ruolo di proteine di riparo/trascrizione mutate nei pazienti con sindrome XP. B-Vogliamo mettere a punto condizioni per ripristinare lo splicing corretto dei trascritti codificati dal protonocogene Ron. Per questo utilizzeremo piccoli oligonucleotidi modificati in modo da promuovere la produzione di molecole di RNA contenenti Γ esone 11 del gene.

Punti critici e azioni da svolgere

Identificare tramite l'uso di minigeni le sequenze dell'esone 11 del gene Ron selezionabili per modificare lo splicing dei trascritti con la tecnologia degli oligonucleotidi antisenso.



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Studio di complessi nucleoproteici: 1) ChIp assay: fissazione di complessi DNA proteine, Immunoprecipitazione e analisi per PCR del materiale immunoprecipitato. 2) studio di complessi RNA proteine con differenti saggi in vitro ed in vivo 3) In vivo footprintingStudio dell'espressione genica: 1) Tecnologie di analisi dell'RNA: 1,1) RT-PCR: analisi dei livelli di espressione e determinazione dello splicing alternativo di specifici trascritti. 1,2) Real time PCR. 1,3) Northern blotting, clonaggio, 1,4) purificazione di piccoli RNA. 1,5) oligo antisenso e siRNA. 2) Tecnologie di analisi di proteine: 2,1) Western blotting, 2,2) purificazione proteine e di complessi multiproteici o proteine-acidi nucleici. Studio di biologia cellulare: 1) Tecniche di immunofluorescenza e di ibridazione in situ con sonde biotinilate seguite da analisi con microscopia confocale o CCD camera. 2) Espressione di proteine eterologhe in cellule umane fuse a differenti Tags tra cui GFP 3) Trasfezione cellulare di minigeni per analisi di RNA. Infine espressione e purificazione di proteine in E.coli e in baculovirus

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof. F: Baralle ICGEB - Trieste - Analisi di complessi ribonucleici Prof. M. Biggiogera Università di Pavia - Microscopia elettronica Prof. A: Pombo MRC - London - Analisi dei territori cromosomici Prof. PM Comoglio - IRCCS Candiolo - Ruolo di SF2/ASF nella mobilità cellulareProf. Michael Green - Howard Hughes Medical Institute, University of Massachusetts Medical School, USA. Interazione tra SF2/ASF e trascritti di Ron

Finalità

Objettivi

A- 1) Clonaggio e caratterizzazione dei trascritti di Satellite III indotti da stress, es. heat shock. 2) Comprensione del ruolo dei SatIII RNA nella formazione dei nuclear stress bodies (nSBs) e nel reclutamento di RNA binding proteins in questi comparti nucleari. 3) Ruolo dei trascritti indotti da stress nello splicing alternativo. 4) Identificazione dei tipi di stress da cui vengono indotti. 5) Studio del possibile processamento dei trascritti in piccoli RNA ed eventuale ruolo nel controllare a struttura di specifiche regioni cromosomiche.B- 1) Identificazione di RNA binding proteins coinvolte nello splicing alternativo del gene Ron. 2) Effetto dei livelli di espressione delle RNA binding nella identità cellulare e nella motilità. 3) Effetto di stress quali Γ'ipossia nell' attività delle RNA binding proteins identificate. 4) Analisi del coinvolgimento di RNA binding proteins nella progressione tumorale. 5) Sviluppo di metodiche basate su oligonucleotidi antisenso e/o RNAi per curare lo splicing alternativo di Ron in vitro ed in vivo.

Risultati attesi nell'anno

A- 1) Identificare l'insieme delle condizioni stressanti che determinano la produzione di SatIII RNA. 2) Studiare il coinvolgimento dei pathway di checkpoint in tale attivazione. 3) Identificare nuove proteine che interagiscono con SatIII RNA grazie a saggi di three-hybrid in lievito (attualmente in corso). 4) Clonare piccoli RNA contenenti sequenze di Satellite III (attualmente in corso). 5) Definire i cambiamenti di codice istonico delle regioni di SatIII attivate trascrizionalmente in risposta allo stress termico (attualmente in corso).B- 1) Messa a punto di oligonucleotidi in grado di correggere lo splicing alternativo di Ron, di promuovere la transizione da cellula mesenchimale a cellula epiteliale (passaggio opposto a quello osservato in seguito alla produzione di Delta Ron) e ridurre drasticamente la motilità cellulare. 2) Verificare che la sovra-espressione del fattore di splicing SF2/ASF non solo conferisce motilità cellulare ma induce la capacità delle cellule di formare metastasi.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

La ricerca si qualifica come una ricerca di base e quindi non è direttamente coinvolta in processi produttivi. Tuttavia alcuni dei prodotti prevedibili della ricerca potrebbero avere ricadute in questo senso. Ad esempio, produzione di anticorpi contro proteine di interesse che potrebbero venir sviluppati e commercializzati in collaborazione con ditte operanti nel campo come ad esempio ARETA.Inoltre ci aspettiamo che l'analisi dello splicing alternativo del gene Ron possa portare allo sviluppo di kit diagnostici e in prospettiva allo sviluppo di tecnologie per curare lo splicing alternativo di specifici geni nei tumori.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

La ricerca tende a sviluppare un campo di ricerca fino ad ora sottovalutato, ovvero il ruolo dello splicing alternativo nella progressione tumorale. In questo senso la ricerca sicuramente migliorerà la nostra comprensione del processo tumorale. Inoltre la ricerca potrebbe offrire nuovi e potenzialmente interessanti approcci terapeutici per la cura dei tumori.



Moduli

Modulo: Studio della regolazione post-trascrizionale dell'espressione genica in

risposta a stress. Fattori che controllano lo splicing dei mRNA in

cellule normali e nei tumori.

 Istituto esecutore:
 Istituto di genetica molecolare

 Luogo di svolgimento attività:
 Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	l da Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
241	96	162	0	499	108	366	39	N.D.	646

Unità di personale di ruolo*					
ricercatori Totale					
3	5				

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo										
	associato dottorando borsista assegnist			assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
	0	1	1	0	0	0	0	2	0	4

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
1	1	0	2					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Plasticità genomica: dal genoma ai sistemi biologici

Dati generali

Progetto:Meccanismi di regolazione dell'gespressione genicaTipologia di ricerca:Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategicoIstituto esecutore:Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita

Responsabile indicato: ALFREDO CICCODICOLA

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

Le tematiche sviluppate attengono all'analisi dei genomi e all'identificazione di meccanismi molecolari che contribuiscono alla plasticità genomica e loro deregolazione in condizioni patologiche. Analisi della varietà genica e genetica di strutture e funzioni complesse. Analisi funzionale e comparativa intra- ed inter-genomi di famiglie e sequenze multigeniche.- Studi sul ricombinazione e riparo e ruolo nell'omeostasi cellulare.

Stato dell'arte

Il completamento del Genoma Umano e di organismi modello ha portato alla morte il vecchio assioma della Genetica "un gene, una proteina". E` apparso subito evidente che il numero previsto di oltre 150.000 geni calcolato sulla base della complessità genomica si è rivelato essere compreso tra 30.000-35.000; è implicito il ruolo rivestito dal processo di splicing.Inoltre, il sequenziamento dei genomi ha fornito 1' opportunità per predire la funzione di elementi regolatori conservati attivi in cis (conserved sequence tags; CST). Il confronto multiplo tra specie è un metodo efficiente per l' identificazione di elementi funzionali di regioni genomiche (footprinting filogenetico). L'analisi dei genomi ha anche messo in luce che la trasmissione del fenotipo non può essere descritta solo nei termini genetici classici di mutazioni e ricombinazioni, in quanto esistono anche meccanismi epigenomici indipendenti dalla sequenza del DNA. Lo studio di tutti questi meccanismi fornisce un nuovo strumento per l'analisi della relazione genotipo-fenotipo.

Azioni

Attività da svolgere

Le attività da svolgere nella presente commessa sono:- Analisi genomica comparata per la ricerca di sequenze regolatrici conservate (microRNA, CST).- Analisi filogenetiche comparate di organismi anaerobici e aerobici.- Studio dei meccanismi di splicing alternativo nei geni e loro ruolo nella plasticità genomica. - Studio della modulazione di processi cellulari (oncogenesi, trasporto intracellulare) tramite regolazione post-trascrizionale.- Studio del controllo cromatinico di fenomeni biologici: ruolo nei mecanismi di compensazione del dosaggio e nell'identità cellulare.- Analisi della deregolazione di tali meccanismi in malattie genetiche e metaboliche.- Studio dei meccanismi di ricombinazione e loro deregolazione in malattie genetiche e cancro.

Punti critici e azioni da svolgere

Azioni principali da svolgere attengono all'analisi del genoma umano e di altri organismi modello mediante comparazione delle sequenze nucleotidiche tra diversi genomi per l'identificazione, catalogazione e comparazione di geni, famiglie geniche e sequenze non codificanti; alla caratterizzazione di meccanismi molecolari alla base della plasticità genomica e dell'impatto sul fenotipo mediante lo studio di processi quali trascrizione, ricombinazione e modificazioni epigenomiche e loro deregolazione.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

In queste ricerche verranno utilizzati approcci integrati che includono: · l'uso di sistemi biologici e genomi modello. · raccolta dati, analisi bioinformatiche, filogenetiche e modelli matematici. · l'utilizzo combinato di tecnologie "genome wide" sperimentali (wet approach): analisi di profili di espressione e di interazioni tra proteine, ChIP on chip microarrays, amplificazione quantitativa, sequenziamento su larga scala, modellizazione di "networks" genetici.



Collaborazioni (partner e committenti)

Le ricerche in oggetto sono frutto della collaborazione con la Divisione di Neurologia dell'Ospedale Civile di Verona, Ospedale San Giovanni di Roma, l'Unità di Neurologia Pediatrica del Dipartimento di Neuroscienze dell'Università "Tor Vergata" di Roma, l'Istituto di Biochimica delle Proteine (CNR) diNapoli, l'Istituto TIGEM di Napoli, la Seconda Università di Napoli, l'Università di Benevento, l'ITB, Sez. Bioinformatica e Genomica, CNR-Bari, l'Ospedale Cardarelli di Napoli, la PRIMM sezione di Napoli.

Finalità

Obiettivi

Analisi dell'evoluzione del genoma in organismi modello, con particolare riguardo alle famiglie multigeniche. Caratterizzazione di trascritti, promotori e sequenze conservate non codificanti (Alfredo Ciccodicola, Giovanna Grimaldi e Massimo DiGiulio). -Studio dei meccanismi: di silenziamento genico e imprinting epigenomico, di splicing alternativo, di ricombinazione e riparazione omologa e conseguenti alterazioni di tali processi (Maurizio D'Esposito, Adriana La Volpe e Alfredo Ciccodicola).- Studio di networks molecolari e patterns di espressione nella determinazione e mantenimento dell'identità cellulare e di funzioni complesse (Francesca Di Rosa, Francesco Morelli, Alfredo Ciccodicola e Maurizio D'Esposito).

Risultati attesi nell'anno

I vari progetti di ricerca afferenti a questa commessa consentiranno di identificare e caratterizzare geni, segnali e meccanismi genomici di sistemi biologici e di sistemi modello e meccanismi alla base di patologie ereditarie. I risultati attesi possono avere potenziali ricadute applicative e traslazionali nella cura e prevenzione di patologie.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Sviluppo di kit diagnostici nel campo della diagnosi sia molecolare che predittiva.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Sviluppo di kit diagnostici nel campo della diagnosi sia molecolare che predittiva.

Moduli

Modulo:Plasticità genomica: dal genoma ai sistemi biologiciIstituto esecutore:Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"Luogo di svolgimento attività:Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	po Funz.+ da Fonti	de Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
0	70	126	1	197	50	246	153	N.D.	400

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
3	5

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo											
	associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
1	5	2	8					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Meccanismi di espressione genica e trasormazione neoplastica

Dati generali

Progetto: Meccanismi di regolazione dell'espressione genica

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano Salvatore'

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita

Responsabile indicato: MARIA STELLA ZANNINI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Berlingieri Maria Teresa	Ш	Desiderio Andrea	\mathbf{V}	Mastrocinque Michele	V
Cali' Gaetano	Ш	Fedele Monica	Ш	Melillo Rosa Marina	III
Celetti Angela	Ш	Galli Paolo	VI	Rastelli Daniela	VIII
Cerrato Aniello	Ш	Gentile Flaviana	VI	Rotoli Deborah	VI
Cirafici Anna Maria	V	Kisslinger Annamaria	Ш	Speranza Giulia	VII
D'Esposito Mario	V	Mascia Anna	Ш	Zannini Maria Stella	II
De Cristofaro Tiziana	Ш				

Temi

Tematiche di ricerca

1) Ruolo delle chemochine ed dei loro recettori nella trasformazione neoplastica tiroidea e nella regolazione della risposta immunitaria tumore-specifica. Studio del potenziale uso di inibitori dei recettori per le chemochine come terapia antineoplastica innovativa.2) Studio della regolazione dell'attivita' del fattore di trascrizione tiroideo PAX8 attraverso l'identificazione di proteine co-regolatorie e di eventuali modificazioni post-traduzionali.3) Studio del coinvolgimento di HMGA2 nello sviluppo dei tumori ipofisari in modelli animali ed estensione dei risultati ottenuti ai tumori ipofisari dell'uomo

Stato dell'arte

Le cellule follicolari tiroidee di ratto sono caratterizzate dall'espressione di geni tiroide-specifici come la tireoglobulina,la tireoperossidasi,il recettore del TSH ed il trasportatore dello iodio, nonchè dei tre fattori di trascrizione che ne regolano l'espressione:TTF1, FoxE1 e Pax8. Il loro utilizzo ha permesso di far luce su meccanismi del differenziamento e della trasformazione neoplastica. E' stato dimostrato che Pax8 è necessario per l'espressione dei geni tiroide-specifici e che TTF-1 e Pax8 necessitano di co-fattori per attivare la trascrizione di tali geni. L'espressione ectopica di proteine oncogeniche in tali cellule causa aumentata proliferazione, dedifferenziamento e aquisizione di capacità invasive. E' stato possibile identificare una serie di geni, le chemochine ed i loro recettori, responsabili di alcuni aspetti del fenotipo neoplastico. I tumori ipofisari rappresentano il 15% dei tumori intracranici riscontrati nella popolazione umana. Un terzo di essi provoca effetti compressivi sulle strutture cerebrali e sui nervi cranici. Poco e' noto sugli eventi molecolari responsabile della trasformazione ipofisaria.

Azioni

Attività da svolgere

Analisi dei profili di espressione di cellule tumorali tiroidee stimolate con varie chemochine.2) Studi funzionali sulle chemochine e sui loro recettori3)Individuazione dell'effetto delle chemochine sul sistema immune e sperimentazione del potenziale uso di inibitori dei recettori per le chemochine come terapie antineoplastiche innovative.4)

Analisi del ruolo delle proteine HMGA nella regolazione dei diversi geni risultati deregolati negli adenomi ipofisari murini ed estensione dello studio dei geni selezionati alla patologia umana.5)

Individuazione di proteine che regolano l'attivita` trascrizionale di PAX8 ed attribuzione di un ruolo funzionale. 6)

Analisi dell'espressione e della funzione delle proteine individuate nei tumori tiroidei umani. 7)

Studio dei meccanismi di regolazione post-traduzionale del fattore tiroideo PAX8 e loro rilevanza nel regolarne l'attivita` trascrizionale.

Punti critici e azioni da svolgere

Ciascun modulo della commessa presenta il suo punto critico. Per il modulo 1 il punto cruciale della ricerca e` riuscire a spegnere l'attivita` delle chemochine e dei loro recettori per valutarne l'importanza nella tumorigenesi tiroidea. A tal fine sara` utilizzata la metodica dell`RNAi tramite l'uso di vettori lentivirali ad alta efficienza di trasduzione. Successivamente saranno prodotti una serie di composti e/o anticorpi in grado di bloccare l'attivita` di queste molecole per testarne il potenziale uso terapeutico. Per il modulo 2 il punto



critico e` rappresentato dall`individuazione dei geni la cui espressione e` regolata dal gene HMGA e dalla validazione dei risultati nella patologia ipofisaria umana. Infine per il modulo 3 i punti cruciali della ricerca svolta sono l'identificazione di proteine capaci di intereagire direttamente o indirettamente con il fattore di trascrizione e l'individuazione delle modificazioni post-traduzionali del fattore trascrizionale PAX8.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

1)Tecniche tradizionali di oncologia molecolare, ingegneria genetica, biochimica, biologia molecolare e biologia cellulare. 2)Manipolazione di cellule staminali murine e generazione di topi transgenici e knockout.3)Tecniche di immunoprecipitazione della cromatina in sistemi di colture cellulari.4)Utilizzo di sofisticate strumentazioni necessarie per effettuare gli studi di proteomica.5)Tecniche di immunofluorescenza con l'utilizzo della microscopia confocale.6)Quantizzazione di espressione genica mediante l'utilizzo di strumentazione PCR real-time, recentemente acquisita dall'istituto.

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof. F. Basolo, Dipartimento di Oncologia dell'Universita' di Pisa; Prof. Mogens Kruhoffer, Department of Clinical Biochemistry, Aarhus University Hospital, Denmark; Prof. Luigi Racioppi, (Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli "Federico II"); Prof. G. Marone, (Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli "Federico II"); Dr. K. Helin (IEO), Dr. C. Arra (Istituto dei Tumori di Napoli), prof. A. Colao, Prof. M.L. del Basso de Caro e Dr. G. Troncone (dipartimenti di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare, Endocrinologia e Anatomia dell'Università di Napoli "Federico II"); Dr. C.M. Croce, Thomas Jefferson University Novartis; Dr. H. Schmid (Novartis Pharma); Prof. G. Viglietto (Universita' di Catanzaro), Prof. G. Del Sal (CIB, Trieste), Dott. A. Scaloni (ISPAAM-CNR, Napoli), Prof. P. Pucci (CEINGE, Napoli), Dott. D. Salvatore (Universita' di Napoli Federico II; J.R. Naranjo (Madrid, Spagna), P. Santisteban (Madrid, Spagna).

Finalità

Obiettivi

1) Individuazione delle proteine co-regolatorie del fattore trascrizionale tiroideo PAX8 ed attribuzione di un ruolo funzionale nel processo di differenziamento e tumorigenesi.2) Individuazione delle modificazioni post-traduzionali capaci di regolare l'attivita' del fattore trascrizionale PAX8.3) Attribuzione di un ruolo alle chemochine ed ai loro recettori nella trasformazione neoplastica tiroidea e nella regolazione della risposta immune tumore specifica. Individuazione di inibitori dei recettori per le chemochine come terapie antineoplastiche innovative.4) Chiarimento dei meccanismi mediante i quali HMGA2 e in generale le proteine HMGA sembrano svolgere un ruolo chiave nello sviluppo di alcuni adenomi ipofisari umani.5)Ricerca di nuovi farmaci in grado di bloccare e/o fare regredire lo sviluppo di adenomi ipofisari nell'uomo.

Risultati attesi nell'anno

Messa a punto della metodica dei microarrays di DNA con la quale verificare il profilo di espressione genica indotta dalle chemochine nelle cellule tiroidee; reversione del fenotipo indotto dalle chemochine mediante la metodica dell'RNAi con l'uso di vettori lentivirali; dati preliminari sui tests di molecole ad attivita` inibitoria. 2) Completamento dell`analisi dei geni differenzialmente espressi negli adenomi ipofisari dei topi HMGA2 e HMGA1 rispetto ad ipofisi di controllo ed estensione dell`analisi per i geni piu` interessanti ad una vasta statistica di adenomi ipofisari umani.3) Individuazione delle proteine capaci di intereagire con il fattore di trascrizione PAX8 ed analisi del profilo di espressione di tali proteine nei tumori tiroidei. Identificazione delle sequenze bersaglio per modificazioni post-traduzionali ed analisi funzionale

Potenziale impiego

- per processi produttivi

La ricaduta di questo progetto sul piano applicativo e` legata principalmente all`identificazione di nuovi bersagli terapeutici di tumori tiroidei ed ipofisari.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Progetti di ricerca volti ad identificare e caratterizzare nuovi eventuali bersagli terapeutici potrebbero essere di supporto per una migliore terapia farmacologica.

Moduli

Modulo: Espressione genica e cancerogenesi tiroidea

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore¹

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Modulo: I tumori dell'ipofisi e le proteine che controllano la trascrizione

cromatinica

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore¹

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo: Geni che controllano la differenziazione delle cellule tiroidee e loro

ruolo nell'espressione genica dei tumori tiroidei

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore¹

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	de Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
698	187	0	0	885	56	243	65	N.D.	1006

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
10	18

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo											
	associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

Richiesta nuove u	e unità di personale						
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale				
0	0	0	0				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Processi molecolari alla base di variabilità ed alterazioni genetiche e della plasticità genomica



Meccanismi molecolari della plasticità genomica e loro deregolazione

Dati generali

Progetto: Processi molecolari alla base di variabilità ed alterazioni genetiche e della

plasticità genomica

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico **Istituto esecutore:** Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:MAURIZIO DESPOSITO

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv. Lucarelli Paola II Scacchi Renato III Sellitto Daniele V

Temi

Tematiche di ricerca

Studio della componente genetica di malattia complesse, come la malattia di Alzheimer (AD), la malattia coronarica (CAD), l'autismo, e la sindrome di Down (DS) attraverso una indagine sulla variazione comune e rara di geni associati alle suddette patologie, mediante tecniche di screening a livello molecolare.

Stato dell'arte

La maggior parte delle malattie comuni sono disordini genetici complessi, alla cui suscettibilità contribuiscono molteplici componenti genetiche ed ambientali. E' stato proposto che la variazione genetica, sia a livello polimorfico che sub-polimorfico, possa influenzare la suscettibilità alle malattie comuni. Questa ipotesi è sempre di più verificata in numerosi studi di associazione tra variazione genetica e la variabilità nella suscettibilità alla malattia.

Azioni

Attività da svolgere

Analisi genomica comparata per la ricerca di sequenze regolatrici conservate (microRNA, CST). Analisi filogenetiche comparate di organismi anaerobici e aerobici . Meccanismi di splicing alternativo e loro ruolo nella plasticità genomica. Modulazione di processi cellulari (oncogenesi, trasporto intracellulare) tramite regolazione post-trascrizionale . Controllo cromatinico di fenomeni biologici: ruolo nei mecanismi di compensazione del dosaggio e nell'identità cellulare. Deregolazione di tali meccanismi in malattie genetiche e metaboliche. Meccanismi di ricombinazione e loro deregolazione in malattie genetiche e cancro.

Punti critici e azioni da svolgere

Azioni principali da svolgere attengono all'analisi del genoma umano e di altri organismi modello mediante comparazione delle sequenze nucleotidiche tra diversi genomi per l'identificazione, catalogazione e comparazione di geni, famiglie geniche e sequenze non codificanti; alla caratterizzazione di meccanismi molecolari alla base della plasticità genomica e dell'impatto sul fenotipo mediante lo studio di processi quali trascrizione, ricombinazione e modificazioni epigenomiche e loro deregolazione. A livello gestionale, le azioni da svolgere riguardano il proporre le nostra tecnologie e le nostre attività a progettti applicativi, da individuare con PMI a livello italiano ed europeo, nell'ambito ad esempio, del VI Programma Quadro Europeo.Punti critici sono l'assenza di finanziamento da parte dello stato e del CNR.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

Le ricerche in oggetto sono frutto della collaborazione con la Divisione di Neurologia dell'Ospedale Civile di Verona, per quanto riguarda la malattia di Alzheimer. Per la malattia coronarica ci si avvale di collaborazioni con l'ospedale San Giovanni di Roma e di strutture ospedaliere locali della zona del Cilento (Campania). L'Unità di Neurologia Pediatrica del Dipartimento di Neuroscienze dell'Università "Tor Vergata" di Roma è coinvolta nell'indagine su autismo e sindrome di Down.



Finalità

Obiettivi

Obiettivo del presente progetto è di investigare la componente genetica di alcune malattie complesse attraverso lo studio della variazione comune e rara di geni associati alle suddette patologie, utilizzando tecniche di screening a livello molecolare. Questo allo scopo di verificare il ruolo effettivo dei geni 'candidati', anche al fine di valutare l'opportunità di interventi di tipo preventivo e terapeutico.

Risultati attesi nell'anno

I vari progetti di ricerca afferenti a questa commessa prevedono di portare a termine consentiranno di identificare e caratterizzare geni, segnali e meccanismi genomici di sistemi biologici e di sitemi modello e meccanismi alla base di patologie ereditarie. I risultati attesi possono avere potenziali ricadute applicative e traslazionali nella cura e prevenzione di patologie.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Basi molecolari ed impatto biologico della variabilità genetica e della

plasticità genomica

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo: Meccanismi molecolari della plasticità genomica e loro deregolazione

Istituto esecutore: Istituto di genetica e biofisica 'Adriano Buzzati Traverso'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

ten	ers. npo //det	po Funz.+ da Fonti Infrastrutt. tecn		Infrastrutt. tecn scient a gestione	Totale Risorse da esercizi precedenti		Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
:	1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
1'	70	19	0	0	189	3	22	11	N.D.	203

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
2	3

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	sonale non a	li ruolo							
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	2	1	0	0	0	0	2	2	7

Richiesta nuove u	Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
0	0	0	0					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Variabilità del genoma ed alterazioni genetiche nell'uomo e loro impatto biologico

Dati generali

Progetto: Processi molecolari alla base di variabilità ed alterazioni genetiche e della

plasticità genomica

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico **Istituto esecutore:** Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
MATILDE URSINI

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

La finalità della presente commessa attiene alla identificazione delle alterazioni genomiche e/o della variabilità allelica di geni responsabili di quei difetti ereditari dell'uomo già in studio nei gruppi afferenti a tale commessa. Obiettivo sarà quello di stabilire una diretta correlazione tra alterazione e funzione genica attraverso l'utilizzo combinato di diverse tecnologie innovative oltre che di strumenti informatici di interrogazione di banche dati di più recente generazione.

Stato dell'arte

Nei laboratori afferenti alla presente commessa sono in corso studi su numerose malattie genetiche monogeniche e multifattoriali. Una vasta casistica è già stata raccolta per quel che riguarda le talassemie e le displasie ectodermiche con particolare riguardo all'Incontinentia Pigmenti, il ritardo mentale associato al cromosoma X, riarrangiamenti cromosomici dell'X e immunodeficienze X-linked, Sindrome autistica, della Sindrome di Down, malattia di Alzheimer (AD) e la malattia coronarica (CAD).

Azioni

Attività da svolgere

Nei laboratori afferenti alla presente commessa sono in corso studi su numerose malattie genetiche monogeniche e multifattoriali. Una vasta casistica è già stata raccolta per quel che riguarda le talassemie e le displasie ectodermiche con particolare riguardo all'Incontinentia Pigmenti, il ritardo mentale associato al cromosoma X, riarrangiamenti cromosomici dell'X e immunodeficienze X-linked, Sindrome autistica, della Sindrome di Down, malattia di Alzheimer (AD) e la malattia coronarica (CAD).

Punti critici e azioni da svolgere

L'esperienza nello studio di alterazioni genetiche e l'attestata abilità scientifica provata da numerose pubblicazioni, insieme all'uso di metodologie innovative (bioinformatiche e biotecnologiche) nonché alla raccolta, conservazione e catalogazione di banche di campioni biologici consentirà ai componenti della commessa di chiarire gli aspetti molecolari alla base della variabilità fenotipica e il loro impatto sulle funzioni cellulari normali e alterate

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Competenze attestate da numerose pubblicazioni nel campo della genetica umana e molecolare, biologia cellulare e patologia moleolre. Messa a punto di procedure diagnostiche per analisi del DNA sia con metodologie classiche (PCR, DHPLC, sequenziamento diretto, RealTime PCR) sia su piattaforma Affimetrix (disegno di chip dedicati). Selezione di nuovi geni e /o regioni candidate per disordini genetici. Identificazione di nuove mutazioni nei geni di interesse dei gruppi afferenti. Caratterizzazione di marcatori polimorfici (STRs e SNPs) nelle regioni candidate. Definizione di meccanismi di controllo epigenetico, loro deregolazione in patologie umane e terapie famacologfiche derivanti.

Collaborazioni (partner e committenti)

La commessa si avvale delle seguenti collaborazioni internazionali: Hôpital Saint-Louis, Paris, France; University of HelsinkiFINLAND;NIA-NIH, Baltimore, USA, e nazionali, tra cui si potranno identificare anche eventuali committenti con le Università italiane di Napoli, Modena, Benevento, Roma, Salerno, Potenza e con Divisione di Neurologia dell'Ospedale di Verona; Ospedale San Giovanni di Roma; Servizio di Talassemia, Catania



Finalità

Obiettivi

Obiettivo principale della proposta é l'identificazione delle alterazioni genomiche e della variabilità allelica di geni responsabili di quei difetti ereditari dell'uomo tra cui le talassemie, le displasie ectodermiche in particolare all'Incontinentia Pigmenti ed altre patologie X-linked. Si stabiliranno nuovi metodi di indagine molecolare e s'indagheranno le correlazioni regolative allo scopo di stabilire la relazione causa-effetto tra alterazioni patologiche ed processi cellulari implicati.

Risultati attesi nell'anno

Messa a punto di nuovi kits diagnostici per analisi del DNA sia con metodologie classiche (PCR, DHPLC, sequenziamento diretto, RealTime PCR) sia su piattaforma Affimetrix (disegno di chip dedicati). Selezione di nuovi geni e /o regioni candidate per le patologie elencate. Identificazione di nuove mutazioni nei geni di interesse dei gruppi afferenti. Caratterizzazione di marcatori polimorfici (STRs e SNPs) nelle regioni candidate.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Sviluppo di kit diagnostici.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Sviluppo di kit diagnostici nel campo della diagnosi sia molecolare che predittiva.

Moduli

Modulo: Variabilità del genoma ed alterazioni genetiche nell'uomo e loro

impatto biologico -

Istituto esecutore: Istituto di genetica e biofisica 'Adriano Buzzati Traverso'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	empo Funz.+ c	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
0	66	162	1	229	153	381	144	N.D.	526

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
2	3

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	3	0	1	0	2	0	3	0	9

Richiesta nuove u	Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
0	6	6	12					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Struttura tridimensionale, funzione e progettazione di proteine ed acidi nucleici



Trasportatori mitocondriali: struttura e meccanismi funzionali

Dati generali

Progetto: Struttura tridimensionale, funzione e progettazione di proteine ed acidi

nucleici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomembrane e bioenergetica

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della Vita

Responsabile indicato: FERDINANDO PALMIERI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Arrigoni Roberto	Ш	Lasorsa Francesco Massimo	Ш	Tonazzi Annamaria	III
Giangregorio Nicola	Ш				

Temi

Tematiche di ricerca

Analisi trascrittomica e proteomica dei trasportatori mitocondriali nel lievito e nell'uomo. Studi strutturafunzione dei trasportatori mitocondriali mediante mutagenesi sito diretta, modificazione chimica ed analisi spettroscopica. Analisi filogenetica e analisi molecolare dei carrier mitocondriali di A.thaliana ed altre specie vegetali. Modelli cellulari per lo studio dei ruoli fisiologici dei trasportatori mitocondriali. Studio di mutazioni correlate a patologie mitocondriali.

Stato dell'arte

La recente risoluzione della struttura cristallografica del carrier dell'ADP/ATP, quale primo membro della famiglia dei trasportatori mitocondriali di cui e' nota la struttura tridimensionale pone le premesse per lo studio della struttura e funzione dei trasportatori mitocondriali attraverso la ricostruzione tridimensionale degli altri trasportatori (homology modelling) e per realizzare simulazioni dinamiche.Negli ultimi 2 decenni sono state descritte molte malattie dovute a deficienza di uno specifico carrier mitocondriale come il carrier dell'ADP/ATP, della carnitina/acilcarnitina o dell'ornitina. Di alcune di queste malattie, per esempio la sindrome di Stanley (deficit di carrier della carnitina), sono descritte alcune alterazioni geniche responsabili della malattia. Più recentemente si sta facendo luce su ulteriori patologie collegate a alterazioni di trasportatori mitocondriali, come, nel 2005, sull'epilessia mioclonica correlata a difetti nel carrier mitocondriale del glutammato.

Azioni

Attività da svolgere

Analisi trascrittomica e proteomica dei trasportatori mitocondriali nel lievito e nell'uomo. Studi strutturafunzione dei trasportatori mitocondriali mediante mutagenesi sito diretta, modificazione chimica ed analisi spettroscopica. Analisi filogenetica e analisi molecolare dei carrier mitocondriali di A.thaliana ed altre specie vegetali. Sviluppo di modelli cellulari per lo studio dei ruoli fisiologici dei trasportatori mitocondriali. Studio di mutazioni correlate a patologie mitocondriali.

Punti critici e azioni da svolgere

Punti critici di maggiore rilevanza sono sia la difficoltà nel coinvolgere nuovi giovani ricercatori nelle attività di ricerca, data la scarsità di assegni e contratti a termine disponibili sia, eventualmente, di trattenerli definitivamente con contratti a tempo indeterminato. Inoltre la strumentazione esistente dovrebbe essere integrata con nuova stumentazione.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Modelli sperimentali Colture di cellule da pazienti con deficit mitocondriali. Colture cellulari primarie di origine vegetale, di lievito e batteriche Ricostituzione funzionale in liposomi di proteine di membrana Metabolismo cellulare Studio del trasporto di metaboliti in organelli subcellulari. Studio dei sistemi di produzione e trasduzione dell'energia in organismi eucariotici. Sistemi di trasporto delle membrane intracellulariStruttura/funzione di proteineBio-informatica. Espressione omologa ed eterologa. Mutagenesi sito-diretta. Purificazione di proteine di membrana native e ricombinanti. Caratterizzazione cinetica dei trasportatori mitocondriali. Modificazione chimica, tecniche spettroscopiche e spettrometria di massa per l'analisi della struttura di proteine mitocondrialiTecnologie cellulariTecnologia del DNA ricombinante. Sistemi di trasferimento genico transiente e permanente. Ingegneria genetica e metabolica di S. cerevisiae.



Microscopia a fluorescenza. Citometria di flussoEspressione genicaAnalisi trascrittomica qualitativa e quantitativa Identificazione e sequenziamento di geni codificanti proteine di trasporto. Analisi mutazionale in malattie eredita

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof. Vito Iacobazzi (Università degli studi di Bari) Prof, Ramon De Lucas (Facoltà di Farmacia di Alcala de Henares - Madrid, Spagna) Prof. Faustino Bisaccia (Università della Basilicata) Prof. Alessandro Desideri (Università di Tor Vergata 'Roma) Prof. Cesare Indiveri (Università della Calabria) Dr. M. Hodges (Université de Paris Sud, Francia) Dr. A. Fernie (Max Planck Institute Germania) Dr. Massimo Zeviani ('Besta', Milano)

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo primario è quello di approfondire sempre più le conoscenze dei meccanismi alla base del trasporto di metaboliti attraverso le membrane biologiche, con una particolare attenzione alla membrana mitocondriale, partendo da approcci sperimentali classici fino ad utilizzare le tecnologie più avanzate oggi a disposizione della ricerca. Allo scopo di raggiungere questo obiettivo si metteranno a punto e utilizzeranno modelli sperimentali, si studierà il metabolismo cellulare, il rapporto struttura/funzione di proteine di membrana, l'espressione genica di tali proteine.

Risultati attesi nell'anno

Analisi quali/quantitativa della distribuzione tissutale di specifici trasportatori mitocondriali di mammiferi e studio degli elementi di regolazione trascrizionale. Sviluppo di nuovi sistemi (e.g. Lactococcus lactis, linee cellulari di mammifero) per l'over-espressione e la purificazione di trasportatori mitocondriali ricombinanti. Identificazione e caratterizzazione biochimica di trasportatori mitocondriali di A. thaliana e/o di altre specie vegetali mediante over-espressione eterologa, purificazione dei prodotti genici e ricostituzione funzionale nei liposomi. Analisi trascrittomica dei trasportatori mitocondriali in diversi tessuti vegetali in diverse condizioni fisiologiche/ambientali.Generazione di tools e modelli cellulari per la diagnostica molecolare. Analisi mutazionale e studi patogenetici di malattie ereditarie associate.Studio del sito attivo e del meccanismo della traslocazione di carrier. Analisi di strutture tridimensionali di proteine di trasporto mediante modeling molecolare.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Le tecnologie biologiche messe a punto nello sviluppo delle attività di questa ricerca di base hanno una importante applicazione nel campo della salute umana in quanto permettono di valutare la presenza di geni alterati in cellule di organismi animali (fra cui l'uomo). Questa applicazione rappresenta un punto molto importante nella diagnostica delle malattie genetiche la cui causa è il funzionamento difettoso dei sistemi di trasporto di membrana studiati. L'applicazione industriale di questi processi potrebbe permettere in un futuro immediato di preparare kit diagnostici.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

La messa a punto di kit diagnostici potrà essere impiegata per screening di popolazione per la diagnosi precoce di malattie genetiche.

Moduli

Modulo: Trasportatori mitocondriali: struttura e meccanismi funzionali

Istituto esecutore: Istituto di biomembrane e bioenergetica

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	empo Funz.+ da Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo	
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
158	31	51	0	240	25	107	32	N.D.	297

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
4	4

^{*}equivalente tempo pieno



Unità di per	Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
4	0	0	0	0	0	0	0	0	4	

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet non di ruolo* Totale						
0	3	0	3				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Studio del Rapporto Struttura-Funzione ed applicazioni di Enzimi e Proteine

Dati generali

Progetto: Struttura tridimensionale, funzione e progettazione di proteine ed acidi

nucleici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
MARCO MORACCI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Camardella Laura	II	D'Avino Rossana	II	Moracci Marco	II
Capasso Clemente	Ш	Jesu Amedeo	IV	Morana Alessandra	III
Cobucci Ponzano Beatrice	Ш	La Cara Francesco	II	Orlando Pierangelo	III
D'Auria Sabato	П	Maurelli Luisa	VII	Tamburrini Maurizio	П

Temi

Tematiche di ricerca

Caratterizzazione dei meccanismi di reazione e del substrate-binding di idrolasi e ossidasi. Caratterizzazione di glicosiltrasferasi, di proteine metal-, glucose-binding e allergeniche. Caratterizzazione di idrolasi, ossidasi, depolimerasi specifiche per lo sviluppo di sistemi di bioconversione e biodegradazione. Sviluppo di nuovi sistemi di veicolazione antigenica basati su sistemi di espressione proteica innovativi. Progettazione di nuovi enzimi. Studio di enzimi del sistema endocannabinoide.

Stato dell'arte

Il sequenziamento dei genomi di molti organismi tra cui l'uomo, permette di accedere ad un gran numero di informazioni sull'organizzazione dei geni. Tuttavia tali informazioni sono incomplete senza lo studio dei loro prodotti genici, le proteine, di cui gli enzimi rappresentano una classe importante. Quindi, la biochimica delle proteine e l'enzimologia avranno un ruolo chiave nella ricerca scientifica e tecnologica dei prossimi anni, permettendo di assegnare la funzione biologica ai geni.

Azioni

Attività da svolgere

Clonaggio, espressione, caratterizzazione biofisica ed enzimatica di glicosidasi da estremofili. Progettazione di nuove glicosidasi per la sintesi chemo-enzimatica di oligosaccaridi. Preparazione di modelli molecolari ed analisi dei cristalli di glicosidasi da estremofili. Applicazione di glicosil-idrolasi ingegnerizzate per la realizzazione di biotrasformazioni di polisaccaridi. Screening per la ricerca di nuove attività glicosil-idrolasiche coinvolte nella degradazione e/o nella produzione di carboidrati. Analisi dell'espressione di geni interrotti in archaea per spettrometria di massa e traduzione in vitro. Confronto delle proprietà cinetiche e chimico-fisiche di due isoforme di aspartico proteasi. Studio dell'enzima 5-lipossigenasi. Caratterizzazione funzionale e strutturale della acetylacetone dioxygenasi da Acinetobacter johnsonii. Studio di proteine di origine vegetale. Studio di una solfito ossidasi termofila purificata e clonata da Thermus flavus mediante electron paramagnetic resonance e analisi dei cristalli. Studio della regolazione dell'espressione in Hydra vulgaris di fotopigmenti opsina-like. Studio del sistema endocannabinoide nel dismetabolismo glicemico.

Punti critici e azioni da svolgere

Le competenze del personale coinvolto nella commessa, riconosciute a livello internazionale, permetteranno di affrontare le difficoltà tecniche eventualmente incontrate nelle attività previste. Inoltre, le apparecchiature all'avanguardia, molte delle quali acquisite recentemente dall'Istituto grazie all'afferenza al Centro Regionale di Competenza in Applicazioni Tecnologico-Industriali di Biomolecole e Biosistemi, permetteranno di affrontare le problematiche di natura scientifica, tecnologica e strumentale. Il punto critico principale riguarda le risorse disponibili per lo svolgimento delle attivita'. Infatti, lo scorso anno una parte dei fondi previsti per i diversi progetti di ricerca non sono stati erogati dalle agenzie esterne nei tempi attesi. La realizzazione dei risultati previsti nell'anno sara' possibile se i finanziamenti verranno erogati nell'entita' e nei tempi previsti. Inoltre, si auspica l'assunzione di nuovo personale a tempo indeterminato che permetterebbe di coinvolgere stabilmente nuovi ricercatori nelle attività previste. Si richiedono n. 1 ricercatore a tempo determinato e n. 1 ricercatore a tempo indeterminato.



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

S. Bartolucci, E. Ricca Universita' di Napoli Federico II; M. De Rosa Seconda Universita' di Napoli; A. Trincone Istituto Chimica Biomolecolare- CNR; G. Davies University of York (UK); PST Sicilia; F. Ancona Universita' di Ancona; M. Bolognesi Universita' di Genova.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo generale di questa commessa e' lo studio del rapporto struttura/funzione di alcune proteine ed enzimi che permettera' di chiarirne le caratteristiche biofisiche i meccanismi di azione, le specificita' ed il ruolo fisiologico. Queste informazioni costituiranno la premessa indispensabile per consentire diverse applicazioni (sintesi enzimatica, bioconversioni, diagnostica, vaccini, etc.). Le competenze, includono biochimica, enzimologia, biologia molecolare, biofisica, immunologia.

Risultati attesi nell'anno

Clonaggio, espressione e caratterizzazione di glicosidasi da estremofili. Preparazione di mutanti di glicosidasi da estremofili da applicare alla sintesi di oligosaccaridi. Identificazione dei determinanti della stabilità di glicosidasi da (iper)termofili attraverso comparazione strutturale di modelli molecolari, caratterizzazione enzimatica e biofisica, mutagenesi sito-diretta. Nuovi protocolli per la sintesi chemo-enzimatica di oligosaccaridi. Realizzazione di un processo di degradazione di polisaccaridi per la produzione di zuccheri semplici. Modelli di espressione di geni interrotti in archaea. Espressione eterologa e purificazione delle isoforme di aspartico proteasi. Clonaggio ed espressione della 5-lipossigenasi umana. Caratterizzazione di una acetylacetone dioxygenasi Dke1. Caratterizzazione dell'inibitore proteico di una esterasi mesofila da fonte vegetale. Produzione e caratterizzazione strutturale della solfito ossidasi di Thermus flavus. Deliverables: pubblicazioni; proteine ed enzimi purificati; enzimi mutanti con nuove proprieta¹, protocolli per la sintesi di oligosaccaridi.

Potenziale impiego - per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Studio del Rapporto Struttura-Funzione ed applicazioni di Enzimi e

Proteine

Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
235	112	136	0	483	142	390	68	N.D.	693

Unità di personale di ruolo*					
ricercatori	Totale				
4	5				

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	Unità di personale non di ruolo										
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale		
0	1	2	3	0	0	0	0	0	6		



Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale			
1	1	5	7			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Biologia strutturale e bioinformatica: struttura-funzione, dinamica e riconoscimento in proteine

Dati generali

Progetto: Struttura tridimensionale, funzione e progettazione di proteine ed acidi

nucleici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
EMILIA CHIANCONE

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Antolini Rachele	\mathbf{V}	Giuffre Alessandro	П	Pistolesi Gabriella	IV
Antonucci Antonio	II	Iani Paola	V	Savino Carmelinda	III
Ballini Amleto	IV	Ilari Andrea	Ш	Tammaro Aldo	IV
Colotti Gianni	III	Morea Veronica	Ш	Tramonti Angela	III
Federici Marco	VI	Peresempio Vincenzo	VI	Verzili Daniela	II
Foppoli Cesira	III	•			

Temi

Tematiche di ricerca

L'attività di ricerca mira ad approfondire le conoscenze su struttura e funzione di proteine modello coinvolte in processi biologici fondamentali quali: - risposta cellulare a stress ossidativo o nitrosativo (Dps, flavoproteine di tipo A, molecole antiossidanti, tirosinasi); - trasduzione di segnali calcio-dipendenti (sorcina); - trasporto e metabolismo dell'ossigeno e del NO (emoglobine batteriche, citocromi c e ossidasi eme-rame, nitrito reduttasi); - risposta immunitaria (peptidi antimicrobici); - acido resistenza in batteri (sistema gad). Sarà pertanto determinata la struttura 3D e caratterizzato il meccanismo di azione di proteine coinvolte in tali processi. Saranno inoltre estesi gli studi in sistemi modello sul processo di "folding", che porta le proteine ad assumere spontaneamente la struttura nativa, non solo per la loro valenza conoscitiva ma anche per il numero crescente di patologie associate a "misfolding", cioè a processi errati di "folding".Per la natura dei sistemi studiati le ricerche suddette rivestono tutte notevole interesse biomedico e/o biotecnologico.

Stato dell'arte

Negli ultimi anni gli studi di struttura e funzione delle proteine, come tutta la ricerca biologica, hanno ricevuto un grande impulso dalla genomica e dalla possibilità di manipolare geni specifici modificando così la struttura delle proteine da essi codificate per studiarne l'effetto sulle proprietà funzionali. Poiché in tutte le macromolecole biologiche la "forma codifica la funzione", per studiare la funzione proteica e la sua regolazione a livello molecolare è indispensabile definire i determinanti strutturali delle singole proprietà come capacità di catalizzare reazioni chimiche, legare o trasportare composti, interagire con altre proteine, acidi nucleici, peptidi o ioni, etc. L'insieme di queste conoscenze costituisce la base non solo per comprendere la funzione fisiologica delle diverse proteine, ma anche per progettare nuove molecole dalle proprietà desiderate.

Azioni

Attività da svolgere

Proseguirà l'attività di caratterizzazione strutturale e funzionale di proteine coinvolte nella risposta cellulare a stress ossidativo o nitrosativo (Dps, flavoproteine di tipo A, molecole antiossidanti, tirosinasi); nella trasduzione di segnali Ca2+-dipendenti (sorcina e suoi mutanti sito-specifici nell'interazione con il recettore della rianodina e il canale scambiatore Na/Ca); nel trasporto e metabolismo dell'ossigeno e del NO (emoglobine batteriche, citocromi c e ossidasi eme-rame, nitrito reduttasi); nella risposta immunitaria (peptidi antimicrobici) ed infine nell'acido resistenza in batteri (sistema gad). Proseguiranno anche le ricerche sul meccanismo di 'folding' di proteine modello e/o loro dominii isolati.

Punti critici e azioni da svolgere

La fattibilità delle ricerche proposte dipenderà dalla possibilità di acquisire nuova strumentazione all'avanguardia, di formare e reclutare giovani ricercatori, di motivare ed incentivare il personale già presente.



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Lo svolgimento delle ricerche comporta un approccio multidisciplinare e quindi l'integrazione di competenze scientifiche e tecnico-metodologiche complementari peraltro presenti nel personale CNR. Questo può avvalersi anche delle collaborazioni, competenze e attrezzature del Dipartimento di Scienze Biochimiche dell'Università di Roma "La Sapienza" che ospita la Sede dell'IBPM.In particolare le tecniche utilizzate comprendono:- diffrazione a raggi X e uso dei metodi MR (Molecular Replacement) e MIR (Molecular Isomorphous Replacement) - ultracentrifugazione analitica- tecniche del DNA ricombinante per la mutagenesi sito-diretta di proteine - tecniche spettroscopiche (assobimento, fluorescenza, dicroismo circolare, IR)- sintesi e sequenziamento di peptidi - spettrometria di massa- analisi di sequenze geniche e proteiche e di strutture tridimensionali di proteine- metodi di predizione della struttura tridimensionale di proteine - tecniche spettroscopiche di cinetica rapida, in particolare "stopped-flow" (assorbimento UV/vis, fluorescenza, dicroismo circolare) e laser-fotolisi - metodi elettrochimici (NO amperometria e ossigrafia polarografica)

Collaborazioni (partner e committenti)

La ricerca si avvale di una rete di collaborazioni con gruppi di ricerca operanti presso l'Università di Roma "La Sapienza", ed in particolare presso il Dipartimento di Scienze Biochimiche, il Centro di Eccellenza BEMM e l'Istituto Pasteur-Fondazione Cenci Bolognetti. Il personale CNR coinvolto nella ricerca collabora inoltre con ricercatori di altre istituzioni di ricerca nazionali ed estere, quali: Università Wisconsin Medical School (USA), New Hampshire (USA), Glasgow (Gran Bretagna), Lisbona (Portogallo), Moscow State (Russia), Frankfurt, Ulm e Karslruhe (Germania); Università di Siena e Sassari; Weizmann Institut (Israele).Committenti: Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (MIUR) con due progetti di ricerca nell'ambito del Fondo per gli Investimenti della Ricerca di Base (FIRB).

Finalità

Obiettivi

La ricerca si pone come obiettivo generale lo studio a livello molecolare della relazione tra struttura tridimensionale, anche nei suoi aspetti dinamici, e funzione biologica di proteine coinvolte in processi biologici fondamentali. La comprensione dei processi di trasporto e di catalisi enzimatica, dei principi che regolano il riconoscimento nelle macromolecole, dei meccanismi fisiologici e patologici di acquisizione della struttura terziaria ("folding" e "misfolding") è di rilevanza indiscutibile, anche nell'ottica di possibili applicazioni di tipo biomedico e/o biotecnologico.

Risultati attesi nell'anno

Pubblicazioni su: - determinazione di nuove strutture proteiche mediante metodi sperimentali (cristallografia) - comprensione di meccanismi d'azione di proteine - effetto di molecole antiossidanti in cellule - sviluppo di protocolli e metodi sperimentali innovativi - progettazione di proteine con specifiche proprietà di rilevanza biotecnologica o biomedica. Possibile trasferimento delle conoscenze acquisite.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Alcuni dei sistemi studiati possono trovare potenziale impiego:- nella progettazione di proteine di rilevanza biotecnologica (produzione di antibiotici)- nell'utilizzo delle proteine Dps per ottenere nanotubi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Alcuni dei sistemi studiati possono trovare potenziale impiego nell'utilizzo nuovi peptidi antimicrobici e di enzimi (e.g. le flavoproteine a due ferri) come bersagli farmacologici.

Moduli

Modulo: Biologia strutturale e bioinformatica: struttura-funzione, dinamica e

riconoscimento in proteine

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo:Oligopeptide binding proteins da ArchaeaIstituto esecutore:Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
603	292	55	0	950	86	433	64	N.D.	1100

Unità di personale di ruolo*				
ricercatori	Totale			
8	13			

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Richiesta nuove unità di personale									
tempo determinato									
1	1 2 2 5								

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Struttura e funzione di Acidi nucleici e Cromatina. Epigenetica

Dati generali

Progetto: Struttura tridimensionale, funzione e progettazione di proteine ed acidi

nucleici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:ERNESTO DI MAURO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Antolini Rachele	V	Di Franco Mario	VII	Micheli Gioacchino	III
Arceci Massimo	VIII	Filetici Patrizia	Ш	Nasi Sergio	II
Beccari Elena	II	Fragapane Paola	III	Pisaneschi Giuseppe	V
Busiello Vincenzo	I	Fruscalzo Alberto	III	Pistolesi Gabriella	IV
Caffarelli Elisa	III	Ghelardini Patrizia	III	Rizzo Nicola	VII
Caneva Roberto	II	Iani Paola	V	Ruberti Ida	II
Cardarelli Maura	III	Junakovic Nikolaj	II	Sarracino Filomena	VII
Caserta Micaela	III	Marchioni Marcella	V	Sessa Giovanna	III
Costanzo Giovanna Maria	Ш				

Temi

Tematiche di ricerca

Le tematiche di ricerca si avvalgono di una piattaforma conoscitiva consolidata e sono focalizzate da un lato sullo studio della struttura della cromatina e dei processi di rimodellamento in sistemi sperimentali modello quali il lievito e cellule in coltura e dall'altro sulla comprensione del ruolo biologico degli RNA non codificanti. Il progetto svilupperà tecniche di genomica globale e si proporrà di ottenere modelli di analisi high throughput per l'analisi su scala genomica. Epigenomica.

Stato dell'arte

L'indagine ad ampio spettro della regolazione epigenetica e della struttura sopramolecolare del genoma consentirà di chiarire alcuni meccanismi molecolari di controllo della struttura globale genomica. In prospettiva i risultati ottenuti consentiranno il disegno e la produzione di nuove molecole in grado di agire sulla cromatina per la cura di diverse patologie.

Azioni

Attività da svolgere

Le attività si focalizzeranno da un lato sullo studio della struttura della cromatina e dei processi di rimodellamento in sistemi sperimentali modello quali il lievito e cellule in coltura e dall'altro sulla comprensione del ruolo biologico degli RNA non codificanti.

Punti critici e azioni da svolgere

Lo studio proposto non presenta punti critici significativi e appare fattibile sulla base delle competenze disponibili e delle collaborazioni già esistenti. La collocazione di giovani a contratto gioverebbe grandemente allo svolgimento del progetto per apportare nuove, preziose risorse.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Sono largamente rappresentate tra i ricercatori partecipanti le competenze necessarie, fra loro complementari, nel campo della biologia strutturale e della genetica molecolare in sistemi sperimentali modello.

Collaborazioni (partner e committenti)

Sono già intense le collaborazioni con il Dipartimento di Genetica e Biologia Molecolare della Università di Roma "La Sapienza" e con la Fondazione Pasteur-Cenci Bolognetti e con Istituzioni universitarie italiane ed estere.



Finalità

Obiettivi

Tra gli obiettivi il progetto si propone di individuare meccanismi di regolazione cromatinica su regioni di controllo trascrizionale (promotori genici), e su regioni di DNA strutturale non codificante come i telomeri ed i centromeri così come l'origine e la funzione di RNA non codificanti.

Risultati attesi nell'anno

I risultati consisteranno principlamente in pubblicazioni di alto impatto scientifico, obiettivo da raggiungere sarà la produzione di molecole di interesse applicativo. Tra i temi svolti da annoverare: modelli teorici sull'evoluzione delle macromolecole biologiche e meccanismi intrinseci della molecola di DNA e studi su biosintesi, struttura e funzione di piccoli RNA non codificanti e loro applicazioni in terapia genica.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Non si prevedono al momento impieghi per processi produttivi.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Le conoscenze acquisite saranno utilizzate per (i) disegno e produzione di nuove molecole in grado di agire sulla cromatina per la cura di diverse patologie, (ii) produzione di piccoli RNA non codificanti e applicazioni in terapia genica.

Moduli

Modulo: Struttura e funzione di Acidi nucleici e Cromatina. Epigenetica

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo	
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9	
1178	356	26	0	1560	55	437	121	N.D.	1736	

Unità di persona	Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale						
16	24						

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo										
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale				
1	1	1	3				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Applicazioni innovative di enzimi e biotrasformazioni

Dati generali

Progetto: Struttura tridimensionale, funzione e progettazione di proteine ed acidi

nucleici

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze **Istituto esecutore:** Istituto di biochimica delle proteine

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:MOSE' ROSSI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Cannio Raffaele	Ш	Fiume Immacolata	VI	Orlando Pierangelo	Ш
Capasso Antonio	П	La Cara Francesco	II	Palmieri Gianna	III
Carrara Adriana	\mathbf{V}	Morana Alessandra	Ш	Raia Carlo Antonio	II
Del Rio Antonio	IV				

Temi

Tematiche di ricerca

Questo progetto riguarda l'individuazione e l'utilizzo di nuove attività enzimatiche (isolate anche da organismi che vivono in ambienti estremi) per biotrasformazioni da impiegare in chimica fine, farmaceutica, diagnostica e nel comparto alimentare. Inoltre, la commessa intende sviluppare metodologie analitiche innovative di elevata sensibilità e facile utilizzo che consentono una precoce identificazione di analiti target di interesse sociale ed industriale.

Stato dell'arte

Gli enzimi accelerano enormemente le reazioni chimiche consentendo lo svolgimento delle funzioni vitali della cellula, pertanto essi rappresentano gli strumenti ideali da utilizzare in campo industriale in biotrasformazioni e diagnostica, sfruttando la loro estrema specificita ed efficienza. In questo contesto, l'individuazione di nuove attività enzimatiche e la messa a punto di nuove metodologie analitiche rappresentano la premessa essenziale per l'utilizzo di questi biocatalizzatori.

Azioni

Attività da svolgere

Le attività della Commessa intendono approfondire e sviluppare tecnologie avanzate e innovative nel campo dell'enzimologia, con particolare riferimento agli enzimi isolati da microrganismi estremofili. E' ritenuto, infatti, che tali enzimi rappresentano, per le loro peculiari proprietà, una nuova frontiera nel campo della biocatalisi e biotrasformazioni e che il loro utilizzo darà importanti contributi all'innovazione industriale. Saranno individuati, prodotti e caratterizzati nuovi enzimi con le metodologie proprie della biochimica e biologia molecolare, mediante tecniche innovative di fermentazione, proteomica e biofisica delle proteine. Tali enzimi saranno utilizzati per biocatalisi e biotrasformazione in chimica fine, chimica farmaceutica, nel campo agro-alimentare e nella diagnostica.

Punti critici e azioni da svolgere

La capacità da parte di questa commessa di sviluppare competenze nel campo della biochimica e della biologia molecolare ha trovato diretto riscontro nell'interesse suscitato dalla DOBFAR s.p.a., con cui è stata istituita una collaborazione permanente presso l'Istituto.Questa collaborazione, riguardante l'individuazione e l'ottimizzazione della produzione di antibiotici, ha permesso l'assunzione presso questa industria di personale formatosi nell'Istituto.Uno dei punti critici che si intende affrontare è quello di aumentare la visibilità dell'Istituto e delle competenze sviluppate da questa Commessa presso Enti i ricerca, Università e aziende nazionali ed internazionali. E' auspicabile un supporto istituzionale da parte del CNR per favorire questa attività di divulgazione. Un altro punto critico è costituito dalla necessità di ricevere un supporto finanziario adeguato e continuato in questa attività di sviluppo competenze.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

Università di Napoli Federico II Istituto Elettronico Nazionale Galileo Ferraris, Torino. University of Maryland at Baltimore, USA. ICB-CNR. Università di York. Università di Ancona. Università di Milano.



Istituto di Scienze dell'Alimentazione, CNR, Avellino. The Rowett Research Institute, Aberdeen, Scozia, UK. ACS DOBFAR s.p.a.

Finalità

Obiettivi

Sviluppo di nuove metodologie per la determinazione di analiti di interesse sociale. Isolamento di nuovi enzimi per analisi proteomica di microrganismi estremofili ed anareobi del tratto intestinale ed orale. Sviluppo di nuove metodologie per la sintesi chemo-enzimatica di oligosaccaridi Sviluppo di nuove biotrasformazioni per la produzione di antibiotici

Risultati attesi nell'anno

Purificazione, produzione e caratterizzazione di proteasi, di proteine leganti zuccheri, di proteine coinvolte nel trasporto di oligopeptidi, di nuovi enzimi modificanti le cefalosporine e di nuovi enzimi per la sintesi di composti chirali. In collaborazione con l'Enea saranno continuati gli studi sul recupero e valorizzazione di materiali di scarto (residui della concia delle pelli, penne, residui di cascami di seta, lignocellulosici, etc.). Deliverables: pubblicazioni, produzione di enzimi e proteine, formazione di personale (laureati in Scienze Biologiche, Chimica e Biotecnologie, dottorati di ricerca), nuovi protocolli per la produzione di antibiotici e il recupero e valorizzazione di materiali di scarto.

Potenziale impiego - per processi produttivi

Moduli

Modulo: Applicazioni innovative di enzimi e biotrasformazioni

Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Totale Risorse da esercizi precedenti		Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo	
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9	
262	112	225	0	599	201	538	69	N.D.	869	

Unità di persona	Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale						
3	5						

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo										
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
0	0	2	2	0	0	0	1	0	5	

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
1	1	6	8					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca

⁻ per risposte a bisogni individuali e collettivi



Utilizzo di sistemi procariotici per la progettazione di strutture proteiche e di acidi nucleici adatti alla formulazione di nuovi tipi di vaccini

Dati generali

Progetto: Struttura tridimensionale, funzione e progettazione di proteine ed acidi

nucleici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine

Sede principale svolgimento: Sede principale Istituto **Dip. di prevista afferenza:** Scienze della Vita

Responsabile indicato: Piergiuseppe De Berardinis

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Balestrieri Marco	III	De Berardinis Piergiuseppe	II	Urbaniello Pasquale	IV
Ciardiello Maria Antonietta	III	Jesu Amedeo	IV	•	
Coscia Maria Rosaria	III	Oreste Umberto	П		
		Siciliano Antonio	VII		

Temi

Tematiche di ricerca

Sviluppo di sistemi di veicolazione antigenica, basati sul batteriofago filamentoso fd e sulla proteina E2 del complesso multienzimatico della piruvato deidrogenasi di B Steraothermophilus, da utilizzare per la formulazione di nuovi vaccini ricombinanti. Isolamento e produzione di antigeni e/o allergeni veicolati in conformazione nativa. Targeting di sottopopolazoni cellulari e di compartimenti intracellulari tramite inserimento di sequenze bersaglio nella proteina minore pIII del capside di fd . Utilizzo del sistema fd per vaccinazione a DNA mediante modificazione del genoma fagico e inserimento di geni codificanti per antigeni noti sotto il controllo di promotori eucariotici. Utilizzo di un approccio immunichimico e di modellistica molecolare per la formulazione di sequenze nucleotidiche e proteiche ottimali, allo scopo di minimizzare divergenze tra le sequenze dei diversi isolati di patogeni presenti in banche dati e le sequenze da esprimere nei nostri costrutti.

Stato dell'arte

E generalmente noto che nuove formulazioni vacciniche sono a tuttoggi necessarie sia per ottenere risposte immuni protettive nei confronti di molti patogeni sia per complementare le opzioni esistenti. Inoltre, le nuove strategie di vaccinazione prevedono stimolazioni ripetute che necessitano diversi sistemi di veicolazione antigenica. Idealmente un vaccino dovrebbe sia indurre una risposta immunitaria cellulare sia la produzione di anticorpi. Questi ultimi ed in particolare gli anticorpi protettivi il più delle volte sono rivolti contro epitopi conformazionali e per la loro induzione è necessario effettuare immunizzazioni con antigeni che conservano la struttura nativa. I sistemi di veicolazione fd ed E2 da noi descritti oltre ad essere innocui ed economicamente vantaggiosi sono estremamente efficaci nell'indurre una forte risposta immunitaria antigene-specifica sia in vitro che in vivo e si prestano ad ulteriore sviluppo.

Azioni

Attività da svolgere

A) Ingegnerizzazione tramite mutagenesi sito specifica del gene pIII del batteriofago filamentoso fd. Ciò consentirà, ad esempio, di produrre particelle fagiche esprimenti peptidi corrispondenti ad epitopi noti all'Nterminale della proteina pVIII, e sequenze proteiche abilitanti il riconoscimento di specifiche popolazioni cellulari e/o specifici compartimenti intracellulari, all'Nterminale della proteina pIII. Inoltre, il sistema fagico sarà ulteriormente sviluppato per essere anche utilizzato come vaccino a DNA. Ciò si otterrà tramite modificazione del genoma fagico e inserimento di un gene di interesse sotto un promotore eucariotico. B) Costruzione di complessi E2 esprimenti proteine intere. Infatti, il sistema E2 non ha in teoria limitazioni sulla grandezza delle sequenze aminoacidiche da esprimere alla sua superficie e potrebbe consentire l'espressione di proteine intere nella loro naturale struttura e pertanto costituire un ottimo immunogeno per l'induzione di anticorpi conformazionali.C) Si effettueranno quindi analisi di struttura molecolare , immunogenicità ed antigenicità dei suddetti costrutti.

Punti critici e azioni da svolgere

Il progetto presuppone lo svolgimento di azioni originali come l'ingegnerizzazioni di geni e proteine e la purificazione di molecole in conformazione nativa. La sede di svolgimento della commessa ha la



strumentazione necessaria per l'esecuzione delle attività. I proponenti hanno acquisito le conoscenze necessarie a superare le difficoltà scientifiche e tecnologiche dei sistemi sperimentali oggetto della presente commessa. Ciò è documentata dalle pubblicazioni effettuate dal gruppo proponente su tale argomento (Vaccine, 1999, 17:1434; Nature Biotecnology, 2000, 18:873; Vaccine, 2003, 21:1502; Exp Rev Vacccines, 2004, 6:673), e costituisce una valida premessa per il buon esito della commessa. Inoltre l'interesse dell'attività proposta è testimoniata dai finanziamenti esterni nazionali ed internazionali che sono stati ottenuti. Le collaborazioni in atto, che sono fattive specialmente con il "Seattle Biomedical Research Centre", offrono ulteriori garanzie per una buona escuzione delle ricerche. Tuttavia, l'esecuzione delle attività è anche legata al contributo di personale con contratti a termine.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze includono Immunologia, Biochimica , Biologia Strutturale , Biologia Molecolare e Modellistica Molecolare. Per quanto riguarda le tecnologie, il sistema fd si basa su una modificazione della tecnologia nota come "phage display" e consiste nell'inserzione di determinanti antigenici nella regione N-terminale della proteina maggiore del capside di virioni batteriofagici fd. Mentre la proteina E2 di B Steraothermophilus si assembla in trimeri che a loro volta si aggregano a formare un complesso costituito da 60 monomeri con una struttura costituita da un core pentagonale dodecaedrico di 1.5MDa a simmetria icosaedrica. Il sistema E2 ricombinante può esporre pertanto fino a 60 copie di antigeni multipli alla superficie dello scaffold formato dalla proteina E2. Riguardo alle tecniche di indagine per entrambe le formulazioni si effettueranno studi di immunogenicità ed antigenicità sia in vitro che in modelli animali. Studi di microscopia elettronica serviranno a analizzare la struttura dei complessi E2. Infine, ci si avvarrà di un approccio immunochimico, per definire il livello atomico delle strutture da noi generate, utilizzando metodi di modellistica molecolare.

Collaborazioni (partner e committenti)

Collaborazioni: G. Scala, Università della Magna Grecia, Catanzaro; R. De Palma, II Università di Napoli; N. Doria-Rose e N. Haigwood, Seattle Biomedical Research Institute, USA; R. Wagner University of Regensburg, Germany; M. Rescigno Istituto europeo di Oncologia, Milano; G. Casorati, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano. Committenti: MIUR; NIH, USA

Finalità

Obiettivi

Costruzione di nuovi vettori in grado sia di consentire l'espressione contemporanea di antigeni o proteine bersaglio sulle proteine capsidiche pVIII e pIII, sia contenenti geni di patogeni sotto il controllo di un promotore eucariotico. Tali particelle estremamente versatili saranno utilizzabili anche per vaccinazioni a DNA e per essere specificamente veicolate in specifiche popolazioni cellulari e/o in specifici compartimenti intracellulari. Espressione nello "scaffold" icosaedrico E2 di proteine intere di microorganismi patogeni e/o di allergeni. Valutazione di struttura, antigenicità ed immunogenicità.

Risultati attesi nell'anno

Costruzione di nuovi vettori fagici per l'espressione di sequenze esogene in entrambe le proteine capsidiche pIII e pVIII. Costruzioni di vettori fagici contenenti il gene Gag di HIV-1 sotto il controllo del promotore di CMV. Produzione di complessi E2 esprimenti le proteine Env e Gag di HIV-1. Si prevede di effettuare almeno due pubblicazioni su riviste internazionali e di sottoporre a brevetto i nuovi costrutti E2 esprimenti le proteine ENV e GAG di HIV-1.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Formulazione di nuovi vaccini ricombinanti. Veicolazione intracellulare di acidi nucleici per trascrizione e traduzione di sequenze proteiche di interesse.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Diagnostico: utilizzo dei costrutti fd e/o E2 come sistemi di "antigen display" per identificazione di anticorpi ad attività neutralizzante e popolazioni cellulari coinvolte nella patogenesi di malattie.

Moduli

Modulo: SV.P03.006

Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
170	112	148	0	430	110	370	63	N.D.	603

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
2	4

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet non di ruolo* Totale						
1	0	3	4				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Strutture e meccanismi di funzionamento di complessi sopramolecolari biologici



Sistemi bioenergetici di membrana: meccanismi funzionali e fisiopatologia.

Dati generali

Progetto: Strutture e meccanismi di funzionamento di complessi sopramolecolari

biologici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomembrane e bioenergetica

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
SERGIO PAPA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Altamura Nicola	П	Di Paola Marco	Ш	Marzulli Domenico	III
Armenise Annarita	VII	Gaballo Antonio	III	Mirizzi Maria Rosa	VI
Castaldo Rosa	V	Lippolis Rosa	Ш	Sgaramella Giuseppe	VI

Temi

Tematiche di ricerca

Analisi dei complessi respiratori e dell'ATPasi in mitocondri e batteri. Bioenergetica di microrganismi di interesse industriale. Geni nucleari coinvolti nella biogenesi mitocondriale e nel nonsense-mediated mRNA decay. Bilancio delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e loro effetti sui sistemi mitocondrialiossidativa. Ruolo dei mitocondri nella cascata apoptotica. Genomica, proteomica e biochimica di geni candidati in malattie mitocondriali di interesse pediatrico e neurologico.La Commessa co-organizza l'International Conference on 'Mitochondria, from Molecular Insight to Physiology and Pathology' Bari 17-22 Dicembre 2005, che riguarda le tematiche di ricerca trattate.

Stato dell'arte

Gli avanzamenti nell'analisi cristallografica, spettroscopica e biofisica dei sistemi di membrana trasduttori di energia forniscono nuovo know how essenziale per la definizione dei meccanismi molecolari dei sistemi di trasferimento di energia nelle membrane biologiche, settorenel quale l'IBBE è particolarmente attivo. Allo stesso tempo avanzamenti di genomica e proteomica hanno rivelato un ruolo centrale dei mitocondri nella crescita, differenziamento e morte cellulare. E aumentato il numero di patologie con un ruolo determinante dei mitocondri (malattie monogeniche) o complementare (malattie neurodegenerative e cardioovascolari). Dati recenti suggeriscono che il "non sense mediated mRNA decay" (NMD) non soltanto agisce da sistema di sorveglianza di mRNA contenenti mutazioni nonsenso ma modula il turnover, e perfinola traduzione, di mRNA normali. Pertanto l'NMD ha un notevole impatto nella regolazione dell'espressione genica negli eucarioti. L'espressione e l'attività delle catene respiratorie batteriche dipendono dallecondizioni di crescita. La conoscenza del metabolismo primario è di fondamentale importanza ai fini del miglioramento dei processi biotecnologici

Azioni

Attività da svolgere

Per il perseguimento degli obiettivi della ricerca della commessa saranno condotte analisi funzionali, strutturali e spettroscopiche di complessi della catena respiratoria e dell'ATP sintasi mitocondriali e batteriche. Verrà condotta un'analisi genomica, proteomica e biochimica per geni candidati in malattie mitocondriali e/o di interesse pediatrico e neurologico. Si studieranno i meccanismi molecolari alla base del "cross-talk" nucleo-mitocondri nel processo di biogenesi; saranno studiate le alterazioni indotte dai radicali liberi sulla struttura e sulla funzionalità di componenti lipidici e proteici delle membrane mitocondriali, in particolar modo della cardiolipina e dei complessi respiratori; saranno studiate strategie antiossidanti; sarà indagata l'interazione di molecole apoptogeniche endogene ed esogene con i mitocondri; verrà affrontato lo studio della fosforilazione ossidativa in microrganismi produttori di sostanze bioattive di interesse industriale in funzione di varie condizioni colturali; saranno identificati e sequenziati i cluster genici di ossidasi terminali e ATPasi; se ne studieranno inoltre i relativi profili di espressione genica

Punti critici e azioni da svolgere

PUNTI CRITICI: Esiguità della dotazione ordinaria. Necessità di incremento della dotazione per l'acquisto di grandi apparecchiature; rinnovo attrezzature di base; lungaggine degli atti amministrativi Difficoltà ad intraprendere collaborazioni internazionali in assenza di risorse certe in tempi certi. Al fine di una reale partecipazione dei ricercatori C.N.R. alla formazione di dottorandi di ricerca nell'ambito delle convenzioni



con l'Università, occorre la disponibilità di borse di dottorato. Incentivi per attrarre giovani ricercatori.CONDIZIONI DI FATTIBILITA': competenze scientifiche e tecnologiche offerte dai ricercatori CNR e Universitari associati; disponibilità presso il Dipartimento Universitario ospitante di apparecchiature per analisi genomica e proteomica.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Meccanismi molecolari del trasferimento di energia nei complessi enzimatici della catena respiratoria e dell'ATP sintasi; genetica e biologia molecolare del lievito S. cerevisiae, biogenesi dei mitocondri; sistema di sorveglianza degli mRNA; biochimica e biologia molecolare di sistemi della fosforilazione ossidativa di Actinomiceti aerobi; bioenergetica del processo apoptotico; interazioni strutturali e funzionali della cardiolipina con i complessi respiratori, effetto dei ROS sulla composizione fosfolipidica delle membrane mitocondriali; meccanismi patogeneteci di alterazioni biochimiche e molecolari in soggetti affetti da patologie mitocondriali; produzione di anticorpi specifici, caratterizzazione funzionale dei complessi della catena respiratoria isolati e ricostituiti in membrane artificiali.Spettrofotometria "stop-flow" e a doppio raggio, spettrofluorimetria, potenziometria, proteomica, sistemi "cell-free", colture cellulari di eucarioti e procarioti, Real-Time PCR, DNA ricombinante, Sequenziamento di DNA, espressione eterologa, Mutagenesi sito-diretta, doppio ibrido, "epitope tagging, tecniche di immunoprecipitazione.

Collaborazioni (partner e committenti)

Biozentrum der Universitaet, Germany Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences, Czech Republic Northwestern Medical School, USA Dept of Cellular and Structural Biology, Health Science Center, University of Texas, USA, Centre de Genètique Molèculaire, CNRS, France; Istituto neurologico C. Besta Dr. Massimo Zeviani, Milano U.O. Medicina Molecolare e Neurologia, I.R.C.C.S. Bambin Gesù, Roma, Institute of Microbiology of Academy of Sciences, Prague, Laboratori del Sincrotone di Grenoble.

Finalità

Obiettivi

Chiarimento dei meccanismi catalitici dei complessi della fosforilazione ossidativa. Analisi genica e biochimica dei complessi respiratori in patologia umana. Contributo di geni nucleari nella regolazione dell'NMD e della biogenesi dei mitocondri. Caratterizzazione a livello biochimico e molecolare del sistema della fosforilazione ossidativa in microrganismi di interesse industriale. Strategie antiossidanti e protettive del danno cardiaco nella riperfusione post-ischemica. Interazioni funzionali proteine-fosfolipidi nei mitocondri. Chiarimento del ruolo di secondi messaggeri lipidici e della produzione di ROS ad essi associata nella via mitocondriale dell'apoptosi.

Risultati attesi nell'anno

Caratterizzazione molecolare dei processi di accoppiamento cooperativo tra trasferimento di elettroni e traslocazione protonica nella ossidasi terminale ad eme e rame. Caratterizzazione dei prodotti di splicing di geni che codificano per subunità del Complesso I della catena respiratoria in pazienti affetti da encefalopatie. Caratterizzazione strutturale e funzionale della ATPasi ectopica della membrana plasmatica di cellule endoteliali. Sequenziamento parziale e/o totale del cluster dei geni della citocromo ossidasi dell' Attinomicete Nonomuraea ATCC 39727; determinazione dei profili di espressione dell' operone dell' ATP sintasi e dei geni della ossidasi terminale di Nonomuraea in funzione delle diverse fasi di crescita miceliare. Costruzione di mutanti specifici di S. cerevisiae per lo studio delle relazioni tra "non-sense mediated mRNA decay" e regolazione della biogenesi mitocondriale. Chiarimento del meccanismo pro-ossidante e pro-apoptotico di secondi messaggeri lipidici. Nella messa a punto di strategie antiossidanti e protettive del danno cardiaco nella riperfusione post-ischemica sarà valutato l' effetto della melatonina.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Tra le numerose varietà di microrganismi aerobi, ve ne sono alcune, ad oggi poco caratterizzate, che producono sostanze bioreattive di potenziale interesse industriale e medico come antibiotici di nuova generazione. Il chiarimento della struttura, della catalisi redox e dei meccanismi di conversione e conservazione dell'energia da parte delle catene respiratorie di tali microrganismi, così come l'identificazione e la caratterizzazione dei geni codificanti i complessi della fosforilazione ossidativa, oltre a contribuire alla conoscenza di un processo vitale fondamentale, possono rappresentare un importante riferimento per l'individuazione di condizioni ottimali di crescita e/o produzione e per la selezione o creazione di ceppi alto-produttori di metaboliti di elevato interesse industriale.La diagnostica molecolare di malattie genetiche neurologiche potrà essere strumentale per la proposta di progetto nazionale interdipartimenti CNR su Encefalomiopatie Mitocondriali.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Le relazioni struttura/funzione dei complessi della fosforilazione ossidativa in condizioni fisio-patologiche, la biogenesi mitocondriale, il ruolo dei mitocondri nell'apoptosi, le interazioni funzionali proteine-fosfolipidi a



livello mitocondriale sono aspetti di fondamentale importanza, non solo per la conoscenza di base, ma anche per lo sviluppo di sonde molecolari per una nuova strategia diagnostica ed approcci farmacologici per la prevenzione e la cura di patologie umane sia di tipo degenerativo che neoplastico.La possibilità di modulare l'NMD ha importanti implicazioni nel trattamento delle malattie ereditarie associate a mutazioni nonsenso.

Moduli

Modulo: Sistemi boenergetici di membrana: meccanismi funzionali e

fisiopatologia.

Istituto esecutore: Istituto di biomembrane e bioenergetica

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
376	38	85	0	499	15	138	51	N.D.	565

Unità di person	Unità di personale di ruolo*					
ricercatori	Totale					
5	9					

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	sonale non d	li ruolo							
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
5	0	0	0	0	0	0	0	0	5

Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale			
0	4	0	4			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Interazione proteine-acidi nucleici ed organizzazione sopramolecolare della cromatina

Dati generali

Progetto: Strutture e meccanismi di funzionamento di complessi sopramolecolari

biologici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto per lo studio delle macromolecole

Sede principale svolgimento:Sezione di GenovaDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:ANGELO PERICO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Arrigo Patrizio	III	De Bernardi Roberta	IV	Mormino Michele	IV
Barbieri Paolo	VI	La Penna Giovanni	III	Perico Angelo	I

Temi

Tematiche di ricerca

Folding, misfolding e aggregazione di proteine; Sviluppo ed applicazioni del metodo della massima entropia vincolata, in solventi impliciti per la descrizione della statistica di biopolimeri; Modelli viscoelastici di polisaccaridi; Determinazione chimico fisica sperimentale e teorico-modellistico della struttura e della dinamica della cromatina a diversa forza ionica Analisi delle funzioni ed interazioni dei geni coinvolti nelle cardiopatie e nelle malattie neurodegenerative

Stato dell'arte

La ricerca in questa commessa si colloca sui temi strategici principali della postgenomica che riguardano la comprensione della funzione biologica di peptidi, proteine, DNA e complessi sopramolecolari di proteine-DNA. Nelle scienze della vita uno dei punti di maggiore interesse è oggi la comprensione dei meccanismi molecolari responsabili delle malattie neurodegenerative, in generale attribuibili a cambiamenti conformazionali di peptidi e proteine dipendenti dalle condizioni ambientali che possono portare ad aggregazione amiloidee ed a malattie come l'Alzheimer, il Parkinson e le malattie prioniche. Ciò porterà ad individuare i metodi per la prevenzione e la cura di queste malattie. Altro importante tema è relativo alla comprensione strutturale e funzionale dell'organizzazione della cromatina nel nucleo degli eucarioti e quindi dei meccanismi dell'apertura e chiusura del materiale genetico, del silenziamento genico, dell'apoptosi cellulare e dell'insorgenza e diffusione della modificazione tumorale.

Azioni

Attività da svolgere

Caratterizzazione della cinetica delle transizioni conformazionali nei peptidi beta-amiloidei nella malattia dell'Alzheimer e sviluppo di un modello molecolare al fine di collegare la sequenza proteica e l'ambiente molecolare alla cinetica di formazione di oligomeri e aggregati. Il metodo proposto prevede l'accoppiamento di simulazioni di dinamica molecolare nei diversi stati conformazionali con la cinetica diffusiva della configurazione atomistica della catena. Conformazioni del prione: a partire da modelli meccanico-statistici della regione disordinata della proteina prionica, si valuta la propensione all'interazione con ioni Cu2+ della sequenza HGGG attraverso simulazioni di dinamica molecolare ab initio. Struttura e dinamica della cromatina: modelli analitici elettrostatici dell'interazione proteine-DNA, DNA-DNA e della cromatina; modelli atomistici e Monte Carlo della cromatina. Ricostituzione della cromatina a partire da DNA ed istoni: ruolo di ciascun istone sulla stabilità della fibra di 30 nm. Bioinformatica: costruzione di una banca dati di proteomica specifica per le cellule endoteliali vascolari e analisi informatica delle interazioni proteina-proteina.



Punti critici e azioni da svolgere

La commessa è ben organizzzata per realizzare gli impegni: nel 2006, accanto alle 5.5 persone a tempo indeterminato, ci saranno 6 giovani a tempo determinato (2 PHD, 4 assegnisti). Il problema principale è la mancanza di turn-over che porterà la commessa in condizioni critiche alla fine del triennio se non interverranno urgenti assunzioni a tempo indeterminato e determinato. Il personale della commessa che era di 9.5 nel 2003 sarà di 5.5 nel 2006 e a fine triennio sarà di 3.5 per pensionamento (ed 1 trasferimento) di 5 ricercatori ed 1 tecnico. Rimarranno così 2 ricercatori 1 amministrativo ed un tecnico a metà tempo. Si richiede la programmazione dell'assunzione a tempo indeterminato o a tenure-track di 5 ricercatori ed 1 tecnico.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze presenti nella commessa sono ben articolate per gli scopi della comessa: Modellistica: meccanica statistica e dinamica dei sistemi condensati, dei polimeri, di proteine e acidi nucleici e delle loro interazioni; simulazioni di dinamica molecolare e di Monte Carlo atomistica, effettiva, canonica e multicanonica. Bioinformatica: Reti Neurali Artificiali applicate all'analisi di biosequenze. Metodologie di Knowledge Discovery su banche dati eterogenee (di origine sperimentale e testuali). Chimica fisica di sistemi macromolecolari biologici: termodinamica e spettroscopie di proteine, acidi nucleici e strutture sopramolecolari, analisi strutturale mediante microscopia elettronica ed immunoelettromicroscopia.

Collaborazioni (partner e committenti)

ISMAC-MI, CNR e CERM, Università Firenze: struttura e dinamica NMR; U.Trieste, DBBMC: proprietà biologiche di polisaccaridi; U.Roma T. V., Dip. Fisica ed Institute for Molecular Sciences, Okazaki, Giappone: simulazioni multicanoniche; Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST) GE: interazione cromatina-proteine regolatrici in cellule tumorali; U.GE, Dip. Informatica, Sistemistica e Telematica: GRID; U.GE, Dip. Neuroscienze: oncology over the internet.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo e' la comprensione della funzione biologica di peptidi, proteine, DNA/RNA e complessi sopramolecolari di proteine-DNA e proteine-RNA attraverso l'uso integrato di metodologie quali strutturistica e rilassamento NMR, microscopia elettronica, calorimetria, spettroscopie (UV, visibile, fluorescenza e CD), modellistica e bioinformatica. Si tratta, ad esempio, di spiegare i meccanismi alla base di patologie neurodegenerative (Alzheimer, Parkinson, malattie prioniche, amyotrophic lateral sclerosis) legate all'aggregazione di peptidi e proteine; i meccanismi dell'espressione o del silenziamento genico e della modificazione tumorale, governati dalle interazioni intermolecolari che generano il folding della catena polinucleosomiale nella cromatina nucleare.

Risultati attesi nell'anno

Sviluppo di modelli per il folding della proteina prionica in presenza di Cu2+ e dei primi modelli teorici e sperimentali della cinetica delle transizioni conformazionali nelle malattie neurodegenerative. Generalizzazione del modello di interazione elettrostatica DNA-proteine in procarioti, in eucarioti, nella cromatina e in polinanoparticelle. Proposta ed analisi di un modello Monte Carlo della cromatina in condizioni fisiologiche basato sulla bendabilità di un DNA linker di lunghezza flessibile e su interazioni anisotropiche tra nucleosomi. Caratterizzazione della ricostituzione della cromatina a partire da DNA ed istoni. Bioinformatica: costruzione di una banca dati di proteomica specifica per le cellule endoteliali vascolari.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

farmaci, terapia genica, antitumorali

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Questi studi rispondono alla necessità di comprendere e combattere malattie di grande rilevanza sociale come le malattie neurodegenerative ed i tumori.

Moduli

Modulo: Interazione proteine-acidi nucleici ed organizzazione

sopramolecolare della cromatina

Istituto esecutore: Istituto per lo studio delle macromolecole

Luogo di svolgimento attività: Sezione di Genova



Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
313	180	115	53	661	15	310	91	N.D.	767

Unità di person	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
4	7

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo											
associato dottorando borsista assegnista specializzando di ricerca di ricerca visitatore professionale altro Totale									Totale		
0	2	0	2	0	0	0	0	0	4		

Richiesta nuove unità di personale tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale							

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e omeostasi cellulare



Interrelazione nucleo/citoplasma/mitocondri nell'omeostasi cellulare.

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomembrane e bioenergetica

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
ERSILIA MARRA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Atlante Anna	II	Lattanzio Paolo	V	Perlino Elda	II
Bobba Antonella	Ш	Marra Ersilia	I	Petragallo Vito Antonio	VI
Giannattasio Sergio	II	Merafina Riccardo Sandro	V	Vacca Rosa Anna	III
Greco Margherita	II	Moro Loredana	III	Valenti Daniela	III

Temi

Tematiche di ricerca

Studio e caratterizzazione: di enzimi e fattori implicati nell'omeostasi dicofattori flavinici;della comunicazione citoplasma-nucleo nella rispostacellulare allo stress;di determinanti molecolari e della bioenergeticamitocondriale nella morte cellulare;dell'espressione di fattori di crescitae di adesione nella proliferazione cellulare; del network di interazioniinter ed intra-cellulari nella regolazione della proliferazione e/o dellamorte cellulare

Stato dell'arte

Cellule diverse posseggono caratteristiche strutturali e funzionalidifferenti.Il delicato bilancio fra morte cellulare e proliferazione èessenziale nei processi di embriogenesi ed omeostasi degli organismiviventi e nella genesi di diverse patologie, dalle malattie degenerative alcancro.I mitocondri di varia origine hanno proprietà di permeabilità emetabolismo diversi, svolgono un ruolo chiave sia nella segnalazione intracellulare che nelle fasi precoci del processo di morte cellulare

Azioni

Attività da svolgere

L'omeostasi cellulare dipende dal mantenimento di un delicato equilibrio fra morte e proliferazione cellulare. L'utilizzo di colture cellulari garantisce la possibilità di studiare aspetti e problematiche scientifiche altrimenti non affrontabili. Lo studio dei meccanismi molecolari responsabili della regolazione dei processi di morte e proliferazione cellulare si avvarrà di differenti modelli: Colture di cellule neuronali, Colture di cellule vegetali, Lieviti, Colture di cellule umane normali e trasformate. L'attività da svolgere comprende: Generazione e caratterizzazione di linee cellulari umane normali e tumorali con deficit respiratorio; identificazione di enzimi produttori di radicali durante l'apoptosi; individuazione dei meccanismi causali nella morte per apoptosi indotta da beta-amiloid; caratterizzazione della morte cellulare in ceppi di lievito; caratterizzazione di enzimi del ciclo riboflavina-FAD in diversi sistemi biologici; regolazione dell'espressione dell'integrina B1C in patologie proliferative benigne e/o maligne. I risultati ottenuti in vitro saranno verificati in un sistema modello in vivo, costituito da tessuti bioptici.

Punti critici e azioni da svolgere

PUNTI CRITICI: esigenza di rinnovare e/o integrare parte della strumentazione a disposizione dell'IBBE; difficoltà di trattenere, presso l'IBBE, giovani ricercatori per la mancanza di concrete prospettive quali borse di studio per dottorati e post-dottorati. CONDIZIONI DI FATTIBILITA:l'insieme delle competenze dei singoli ricercatori nel campo della biochimica, biologia molecolare e cellulare, unitamente alle facilities disponibili, rendono elevato il grado di fattibilità del progetto. L'interazione con altri istituti di ricerca sia italiani che stranieri facilita il raggiungimento degli obiettivi prefissati.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

MODELLI SPERIMENTALI: Colture primarie di neuroni e di cellule vegetali, Colture di linee cellulari normali e tumorali umane, Colture di cellule dilievito, Mitocondri isolati di diversa origine respiranti e fosforilantiMETABOLISMO CELLULARE: Studio del trasporto di metaboliti nei mitocondri, dello stress ossidativo, del trasporto di proteine, dell'omeostasi deicofattori flavinici, dei sistemi di produzione



dell'energiaSTRUTTURA/FUNZIONE DI PROTEINE: Costruzione e purificazione di proteinericombinanti, Mutagenesi, Purificazione di proteine di membrana,Identificazione di nuove proteineCOMUNICAZIONI CELLULARI: Studio dell'adesione cellulare e della migrazionecellulare.ESPRESSIONE GENICA: Studio dell'espressione genica, dell'attività ditrascrizione e di traduzione di un gene, del tempo di emivita di trascrittie proteine, dell'espressione esogena di proteine in cellule umaneTECNOLOGIE E TECNICHE DI INDAGINE: Tecnologie del DNA ricombinante,tecnologie dell'RNA, tecniche di analisi dell'espressione genica, tecnichedi sintesi proteica in vitro, tecniche di trasfezione, tecnichecromatografiche, tecniche elettroforetiche, techiche spettrofluorimetrichee potenziometriche

Collaborazioni (partner e committenti)

Istituto di Neurologia e Medicina Molecolare, CNR, Roma Dept of Cancer Biology, School of Medicine, Univ Massachussets, Worcester, MA, USA Dip Scienze Animali, Vegetali e dell'Ambiente, Univ del Molise, CampobassoDept of Molecular Biology, University of Texas Southwestern MedicalCenter, Dallas, TX, USAInstitut fur Biochemie und Molekular Biologie, Universitat Freiburg, Freiburg, GermanyDep of Laboratory Medicine and Pathology, Univ of Rochester Medical School, Rochester, NY, USADep of Biology, Univ of Minho, School of Science, Braga, Portugal

Finalità

Obiettivi

In diversi sistemi cellulari modello si caratterizzeranno: -la sequenza dieventi ed i determinanti molecolari coinvolti nel signaling della morte edella proliferazione cellulare; -il ruolo dei mitocondri nella rispostacellulare allo stress, nella proliferazione e nella resistenza alla mortecellulare; -gli enzimi ed i fattori implicati nell'omeostasi dei cofattoriflavinici.

Risultati attesi nell'anno

PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE su riviste nazionali ed internazionali; SVILUPPO di tecnologie che consentono la comprensione di meccanismi di base e possibili nuove applicazioni; TRASFERIMENTO TECNOLOGICO di metodologie sperimentali a Laboratori di analisi e Parchi scientifici e tecnologici; IDENTIFICAZIONE DI BERSAGLI TERAPEUTICI per patologie tumorali e neurodegenerative. I risultati saranno perseguiti nell'arco di tre anni

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Le tecnologie biologiche messe a punto nello sviluppo delle attività diricerca della commessa hanno una importante ricaduta nel campo della saluteumana. Gli studi in corso sono finalizzati all'individuazione di compostiche influenzino positivamente la funzionalità cellulare e mitocondriale. Irisultati attesi potrebbero aprire nuove prospettive sia a livello diprevenzione che di intervento terapeutico in diverse malattieneurodegenerative e proliferative.Parole chiave: peptici neurotossici, agenti antitumorali, diagnostica, clinica

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Individuazione di molecole ad azione pro-apoptotica e di nuovi bersaglimolecolari per la diagnosi e terapia di patologie neoplastiche eneurodegenerative

Moduli

Modulo: Interrelazione nucleo/citoplasma/mitocondri nell'omeostasi cellulare.

Istituto esecutore: Istituto di biomembrane e bioenergetica

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
640	69	155	0	864	31	255	90	N.D.	985

Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale					
9	12					

^{*}equivalente tempo pieno



Unità di per	Unità di personale non di ruolo											
associato dottorando borsista assegnista specializzando incaricato di ricerca visitatore professionale altro Totale												
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1			

Richiesta nuove u	Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale						
0	0	2							

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Trasduzione del segnale e malattie multifattoriali

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore:
Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Stituto di biologia cellulare
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
STEFANO ALEMA'

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Alema' Stefano	I	Cascino Isabella	Ш	Lancia Eleuteria	VI
Butler Richard Hugh	П	Cozzari Costantino	Ш	Pauselli Irene	VII
Cardinali Beatrice	III	Falcone Germana	III	Ruberti Giovina	II

Temi

Tematiche di ricerca

Generazione di topi transgenici KO per il gene RALT.Definizione dei meccanismi di controllo del citoscheletro di actina esercitato da tirosina-chinasi e da GTPasi. Ruolo dei complessi giunzionali cellula-cellula nella proliferazione e trasformazione di cellule epiteliali. Approcci molecolari e cellulari per l'identificazione di nuovi interattori di TRADD e FADD. Caratterizzazione del controllo post-trascrizionale di messaggeri tessuto-specifici. Ricerca di sequenze che regolano la stabilita del mRNA e la localizzazione cellulare di CTLA-4. Caratterizzazione funzionale di polimorfismi associati al diabete di tipo I ed all'acalasia. Sintesi di peptidi per saggi di legame HLA-peptide

Stato dell'arte

Il tentativo di comprendere alcuni dei meccanismi molecolari che generano la diversità cellulare e la morte cellulare, ancorchè ambizioso è tuttavia supportato dalle recenti tecnologie postgenomiche delle quali noi pianifichiamo fare grande uso in questa proposta. Enostra convinzione che una migliore conoscenza del meccanismo di azione di mediatori del segnale dovrebbe fornire la base razionale per l'identicazione di nuove classi di agenti terapeutici selettivi.

Azioni

Attività da svolgere

Messa a punto di modelli animali per lo studio di regolatori negativi della proliferazione cellulare. Delucidazione dei meccanismi di espressione genica tessuto-specifica in cellule trasformate da oncogeni noti. Identificazione e caratterizzazione di modulatori dei segnali apoptotici. Analisi dei polimorfismi di geni associati al Diabete Mellito di Tipo I. Analisi dei modelli molecolari di proteine HLA-DR associate alla sclerosi multipla.

Punti critici e azioni da svolgere

La forza del nostro approccio risiede nell'aggregazione coerente di esperienze con un diverso entroterra scientifico, dalla genetica alla biologia cellulare, per la caratterizzazione dei fattori sopra menzionati. Inoltre, è lecito aspettarsi che una migliore conoscenza nei campi proposti rafforzi esperienze specifiche già esistenti. Per esempio la generazione di topi transgenici sarà avvantaggiata dalla presenza nello stesso campus di EMMA e del Program on Mouse Biology dell'EMBL.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

INMM-CNR, Università La Sapienza, Università di Tor Vergata, Università di Udine, Istituto Superiore di Sanità, Istituto Regina Elena, Istituto FIRC di Oncologia Molecolare, DIBIT, National Cancer Institute, Roswell Park Cancer Hospital.

Finalità

Obiettivi

Per la natura multidisciplinare dell'approccio proposto è richiesta esperienza in molte aree distinte. Il lavoro svolto negli ultimi anni dai componenti di questa commessa ha portato da una parte all'acquisizione di una



considerevole esperienza in discipline quali la biologia molecolare e cellulare, l'immunologia, la genetica e il 'modeling' strutturale, dall'altra alla disponibilità di un vasto numero di regenti molecolari e cellulari che saranno estremamente utili negli studi qui proposti.

Risultati attesi nell'anno

Identificazione di nuovi regolatori negativi dei recettori ErbB. Definizione dei segnali che regolano proliferazione e differenziamento. Identificazione di nuove proteine interagenti con FADD e TRADD che modulano l'apoptosi e l'immunità naturale. Delucidazione dei meccanismi di espressione genica tessuto-specifica. Identificazione di modulatori dell'espressione di CTLA-4 e dell'attivazione dei linfociti T. Motif per il disegno computerizzato di peptidi ad alta affinità e specificità per HLA.

Potenziale impiego

- per processi produttivi
- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Trasduzione del segnale e malattie multifattoriali

Istituto esecutore:Istituto di biologia cellulareLuogo di svolgimento attività:Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
460	387	111	153	1111	146	644	155	N.D.	1412

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
7	8

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	2	2	1	0	0	1	0	5	11

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tompo indet non di miolo# 'l'otele						
5 1 0							

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Biotecnologie Molecolari per la Progettazione di Vaccini Innovativi

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:DOMENICO GERACI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Bonomolo Anna	Ш	Colombo Paolo	Ш	Spera Donatella	VII
Bonsignore Giovanni	DIRE	Di Blasi Francesco	Ш	Tarantino Provvidenza	VII
Bonura Angela	Ш	Geraci Domenico	I	Turatto Rosa	VII
Cavoli Francesca	VIII	Parisi Pietrina	V		
Ciaccio Mirella	Ш	Riccobono Daniela	VII		
		Sanzone Sabrina	VII		

Temi

Tematiche di ricerca

Le malattie allergiche, caratterizzate da una predominante risposta immunitaria di tipo Th2 e dalla produzione di anticorpi IgE verso allergeni comunemente presenti nell'ambiente, mostrano negli ultimi decenni una crescente prevalenza nei paesi a stile di vita occidentalizzato, attualmente stimabile intorno al 25-30%, che non può essere imputata soltanto al miglioramento delle procedure diagnostiche e della percezione del problema. Una molteplicità di fattori governa la complessa eziologia delle manifestazioni cliniche della atopia, sia al livello iniziale della sensibilizzazione allergica sia nel successivo instaurarsi di fenomeni infiammatori che, cronicizzando in assenza di opportuni approcci preventivi e terapeutici, possono portare a danni anche irreversibili. L'identificazione di questi fattori è fondamentale per il riconoscimento di individui a rischio e per il disegno di interventi sui fattori modificabili a scopo preventivo e terapeutico.

Stato dell'arte

L'immunoterapia specifica costituisce tuttora l'unico intervento in grado di modificare stabilmente ed in modo specifico la reattività immunologica dell'individuo allergico. L'individuazione degli allergeni, o più precisamente delle strutture allergeniche (epitopi) causali della patologia in esame, risulta di fondamentale importanza per l'applicazione di una corretta terapia specifica e per la formulazione di nuove molecole da utilizzare nelle terapia immunosoppressiva del polline della Parietaria.

Azioni

Attività da svolgere

Le molecole ipoallergeniche derivate dagli allergeni maggiori della Parietaria judaica da noi precedentemente caratterizzate saranno studiate in vitro allo scopo di studiare la loro immunogeneicità (proliferazione di cellule T)ed in vivo allo scopo di valutarne la loro capacità anafilattica (Skin Prick Test). Verranno inoltre studiati i pathway biochimici intracellulari responsabili della produzione di citochine proinfiammatorie (NFkB).Per quanto riguarda l'infezione da Leishmania infantum verranno generati mutanti attenuati mediante knock out genomico.

Punti critici e azioni da svolgere

Validazione dei sistemi animali per studi in vivo

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Competenze da utilizzare: Biologia Molecolare, Ingegneria Genetica, Immunologia, Allergologia Clinica.



Collaborazioni (partner e committenti)

1)Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immuno-mediate, Istituto Superiore di Sanita', Roma 2)Unita' Operativa di Allergologia ed Immunologia Clinica dell'Ospedale Civico di Palermo Laboratorio di Malattie Allergiche del Policlinico di Palermo 3)Laboratorio di Allergopatie Respiratorie dell'Ospedale Cervello di Palermo. 4)ENEA, Casaccia, Roma Istituto di Patologia Sperimentale, Universita' Nazionale di Salta, Argentina. 5)Istituto Zooprofilattico di Sicilia, Palermo6)Università degli Studi di Palermo7)BIOMAY SpA, Austria, Vienna3)Università di Southampton, School of Medicine, Inghilterra

Finalità

Obiettivi

1)Caratterizzazione della reattività immunologica di forme ricombinanti di allergeni da pollini. Messa a punto di un sistema muri per studi pre-clinici2)Caratterizzazione di ceppi attenuati di Leismania infantum da utilizzare in protocolli di immunizzazione.

Risultati attesi nell'anno

Completamento dell'analisi in vivo ed in vitro dei mutanti degli allergeni Parj1 e Parj2 generati per ingegeneria genetica. Messa a punto di un sistema murino per lo studio della risposta immunitaria in vivo sia dei mutanti degli allergeni maggiori di Parietaria che dei ceppi attenuati di Leishmania.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Le strategie descritte in codesta commessa mirano alla formulazione di nuove formulazioni immuoterapeutiche per la diagnosi e la cura delle patologie allergiche e delle malattie indotte da agenti parassitari.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

I progressi nella conoscenza dei meccanismi cellulari e molecolari che sono alla base della patogenesi delle malattie allergiche consentono di delineare approcci integrati di immunodeviazione, con i quali individuare modalità di vaccinazione profilattica o immunoterapeutica capaci di contrastare l'insorgenza o controllare la progressione delle patologie allergiche. L'immunoterapia specifica costituisce infatti tuttora l'unico intervento in grado di modificare stabilmente ed in modo specifico la reattività immunologica dell'individuo trattato verso gli allergeni responsabili, soprattutto quando le misure di eliminazione o riduzione degli allergeni sono inattuabili, come ad esempio per quasi tutti gli allergeni classificabili come "outdoor". In questa categoria rientrano gli allergeni che originano da sorgenti presenti nell'ambiente esterno (essenzialmente i pollini ed in misura minore alcune spore ed ife fungine).

Moduli

Modulo: Biotecnologie Molecolari per la Progettazione di Vaccini Innovativi Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy" Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	da Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
277	83	30	83	473	53	166	52	N.D.	578

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
5	5

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	Unità di personale non di ruolo										
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale		
0	1	0	3	0	0	0	1	3	8		



Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale			
0	2	0	2			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Segnali cellulari critici nella biologia della cellula neoplastica

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare 'Alberto Monroy'

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita

Responsabile indicato: MELCHIORRE CERVELLO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Azzolina Antonina	VIII	Costa Maria Assunta	Ш	Sanzone Sabrina	VII
Barbieri Giovanna	Ш	Lampiasi Nadia	Ш	Spera Donatella	VII
Bonsignore Giovanni	DIRE	Parisi Pietrina	\mathbf{V}	Tarantino Provvidenza	VII
Cavoli Francesca	VIII	Riccobono Daniela	VII	Turatto Rosa	VII
Cervello Melchiorre	III				

Temi

Tematiche di ricerca

Ci proponiamo di esaminare l'attività antitumorale di inibitori di diverse vie di sopravvivenza e proliferazione (NF-kB, Akt, MAPK), o di attività enzimatiche (aromatasi, COX-1, COX-2) sicuramente implicate nella biologia della cellula neoplastica. Saranno analizzati il signalling delle molecole MHC II nelle cellule di melanoma e l'interazione tra TCR e MHC II, così come il pathway apoptotico attivato nelle cellule di melanoma dal trattamento con alcuni derivati dell'organotin (IV).

Stato dell'arte

L'incidenza del CPF è aumentata negli ultimi anni, dovuta alla diffusione dei virus dell'epatite C e B, diventando una delle dieci neoplasie più frequenti nel mondo. In Sicilia, dove la diffusione dei virus epatitici è tra le più alte d'Italia, oltre 500 persone/anno muoiono a causa del CPF. L'estrema resistenza del melanoma ai trattamenti terapici, ha determinato lo studio dell'immunoterapia e l'identificazione di target molecolari critici per l'individuazione di nuovi agenti chemioterapici.

Azioni

Attività da svolgere

Ci proponiamo di studiare gli effetti degli inibitori selettivi delle COX in combinazione con inibitori selettivi delle vie di segnalazione delle MAPKs e di PI3K/AKT/mTOR in cellule di epatocarcinoma. Nel caso in cui si osserverà un effetto sinergico nell'inibizione della crescita cellulare e nell'induzione dell'apoptosi tra i farmaci usati, studieremo le basi molecolari della loro interazione, con particolare riguardo ai livelli di espressione della COX-2, della beta-catenina e delle proteine anti- e pro-apoptotiche, sia come mRNAs che come proteine. In cellule di melanoma studieremo: l'associazione delle molecole MHC II reclutate nelle raft di membrana con i recettori di adesione e l'attivazione di segnali intracellulari (MAPK), in seguito alla stimolazione delle cellule con un anticorpo che mima l'interazione del TCR con le molecole MHC II; l'eventuale formazione della sinapsi immunologica nelle cellule di melanoma e lo studio della risposta immune; infine l'identificazione dei targets molecolari dei complessi (Bu2Sn)2TPPS e (Bu3Sn)4TPPS, implicati nell'attivazione del signalling che determina la morte per apoptosi delle cellule di melanoma.

Punti critici e azioni da svolgere

Non si prevedono punti critici particolari al raggiungimento dei risultati previsti.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Il progetto si avvale delle competenze di biochimica, biologia molecolare e cellulare presenti nel gruppo di ricerca.



Collaborazioni (partner e committenti)

Collaborazioni con Istituti Nazionali ed Internazionali: Dipartimento Medicina Clinica e delle Patologie Emergenti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Istituto di Anatomia Patologica, Dipartimento di Chimica Inorganica e Analitica, Università di Palermo; ISMETT, Palermo; Physiopathologie du Stress Pancréatique, INSERM, Marseille, INSERM U396, Institut Biomédical des Cordeliers Università Paris 7, Parigi, France.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo del progetto è l'acquisizione di nuove conoscenze riguardanti i meccanismi molecolari responsabili dell'acquisizione e del mantenimento del fenotipo trasformato, allo scopo di individuare target molecolari per lo sviluppo di nuove opzioni terapeutiche, e per l'ottimizzazione dell'immunoterapia, nel trattamento del carcinoma epatico e del melanoma umano.

Risultati attesi nell'anno

a)validazione delle COX, delle ERK1/2 e di PI3K/AKT/mTOR come target molecolari nel carcinoma epatocellulare;b)effetti sinergici usando i FANS in combinazione con gli inibitori selettivi delle MAPKs, della PI3K e di mTOR;c)comprensione dei meccanismi molecolari responsabili della risposta ai trattamenti farmacologici;d)l'attivazione di alcuni membri della famiglia delle MAPK e del segnale intracellulare da esse mediato in seguito alla stimolazione delle cellule di melanoma con un anticorpo che mima l'interazione del TCR con le molecole del MHC di classe II;e)la localizzazione intracellulare dei complessi (Bu2Sn)2TPPS e (Bu3Sn)4TPPS;f)l'identificazione del ruolo svolto da Fas e FasL nella morte per apoptosi delle cellule di melanoma trattate.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

chemoterapici; protocolli di ottimizzazione di "targeted therapy".

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

potenziamento dell'immunoterapia e della chemioterapia tramite lo studio del cross-talk tra cellule tumorali e del sistema immunitario e identificazione di target molecolari critici per la crescita delle cellule tumorali.

Moduli

 Modulo:
 Segnali cellulari critici nella biologia della cellula neoplastica

 Istituto esecutore:
 Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"

Luogo di svolgimento attività: Palermo

Modulo: Sviluppo ed applicazioni di nanotecnologie per nuove applicazioni

terapeutiche in oncologia

Istituto esecutore: Istituto per lo studio dei materiali nanostrutturati

Luogo di svolgimento attività: Palermo

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
193	74	0	83	350	38	112	47	N.D.	435

Unità di personale di ruolo*					
ricercatori	Totale				
4	5				

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di	Unità di personale non di ruolo									
associat	o dottora	ndo b	orsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	1		0	1	0	0	0	0	5	7



Richiesta nuove unità di personale									
tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale									
0 2 2 4									

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Controllo trascrizionale e post-trascrizionale nello sviluppo, nel differenziamento cellulare e nella trasduzione del segnale

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
AGATA GIALLONGO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Anello Letizia	V	Di Carlo Marta	П	Rubino Patrizia	VI
Bongiovanni Antonella	Ш	Giallongo Agata	П	Sanzone Sabrina	VII
Bonsignore Giovanni	DIRE	Montana Giovanna	Ш	Spera Donatella	VII
Cavoli Francesca	VIII	Parisi Pietrina	\mathbf{V}	Tarantino Provvidenza	VII
Di Bernardo Maria	Ш	Riccobono Daniela	VII	Turatto Rosa	VII

Temi

Tematiche di ricerca

a) analisi funzionale di determinanti materni e zigotici, con oligonucleotidi antisenso, droghe, anticorpi specifici, peptidi tossici, costruzioni dominanti negative. b) caratterizzazione della funzione di BERF-1/ZBP-89 e Ozz-E3 nel differenziamento miogenico mediante l'uso di linee cellulari, colture primarie, topi K0 per Ozz, e l'analisi del proteoma. c) caratterizzazione delle proprietà trascrizionali del fattore p65D3 dopo trasfezione di cellule HeLa. Generazione di topi transgenici per p65D3.

Stato dell'arte

Molte patologie sono legate al malfunzionamento di meccanismi che controllano l'espressione genica a diversi livelli: trascrizionale (attivazione e silenziamento di geni, tramite rimodellamento della cromatina o l'azione diretta di fattori della trascrizione) e post- trascrizionale (stabilità del messaggero e dei prodotti proteici), nonchè ad alterazioni nella trasduzione del segnale. Le conoscenze acquisite potrebbero essere utilizzate per lo sviluppo di test diagnostici e terapie mirate.

Azioni

Attività da svolgere

I modelli di studio usati sono il riccio di mare per le fasi precoci dellosviluppo embrionale; le linee cellulari di mammifero per i meccanismimolecolari coinvolti nel differenziamento miogenico; il modello murino comesistema in vivo. Non prosegue la tematica inerente l'isoforma p65D3 delcomplesso NF-kB. Attività previste: a) analisi degli effetti dellaperturbazione del gene Hb12 in seguito a inibizione della funzione edespressione ectopica. b) identificazione della proteina Otp in estratti dastadi embrionali e studio dell'espressione in situ mediante l'uso dianticorpi. c) studio dell'attività di BERF-1/ZBP-89 e dei suoi mutanti DNin cellule miogeniche mediante l'uso di vettori inducibili (Tet-On,;Tet-OFF; fusioni GR/ER) d) ricerca di isoforme di BERF-1/ZBP-89 in lineecellulari umane di rabdomiosarcoma e biopsie da tumori tramite RT-PCR e 2-De) analisi molecolare e biochimica sul complesso Ozz-E3 ubiquitina-ligasi.Studi su colture primarie di cellule muscolari, isolate da topi wild-type ogeneticamente mutati nel locus di Ozz, infettate o meno con il sistemaretrovirale bicistronico "MSCV-based" per esprimere ectopicamente leproteine del complesso, wild-type o mutate.

Punti critici e azioni da svolgere

La attività proposta non presenta problematiche di natura scientifica. Laconduzione di esperimenti in vivo è complicata dall'assenza di stabulariopresso la struttura in cui si opera. Ci si appoggia a strutture esterne peril mantenimento delle colonie di topi transgenici e KO, questo rallentanotevolmente le sperimentazioni in corso pur stimolando collaborazioni congruppi di ricerca anche geograficamente distanti. Ci si avvale di serviziesterni per microarrays, proteomica e spettrometria di massa. L'utilizzo diquesti servizi e il reclutamento di personale a contratto sono totalmentecondizionati all'ottenimento di finanziamenti esterni. Reclutare e formaregiovani ricercatori è basilare per lo svolgimento delle attività insiemealla possibilità di poter acquisire stabilmente unità di personale qualificato.



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

Dip. Oncologia Sperimentale e Applicazioni Cliniche & Dip. Biologia Cellulare e Sviluppo Università di Palermo; SCRI, Dibit, H. San Raffaele, Milano; Dip. Medicina Sperimentale, Università di Pavia. INSERM U.588 - Physiopathologie du Comportement - Bordeaux 'France Istituto di BioFisica CNR, Palermo. Lab of Developmental Biology, CNRS Villefranche-sur-Mer, France ; EU - NoE Marine Genomics. Genetics and Tumor Cell Biology Department, St. Jude CRH, Memphis, USA

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo è l'identificazione di nuovi target molecolari nel network funzionale dello sviluppo embrionale e della specializzazione cellulare con lo scopo di formulare nuovi approcci farmacologici e terapeutici. Ci si avvarrà delle competenze di biologia cellulare e molecolare maturate negli anni dai singoli proponenti, basate anche su periodi di formazione e approfondimento di tematiche specifiche in laboratori internazionali, e di collaborazioni già in atto con gruppi di ricerca esterni.

Risultati attesi nell'anno

Per quanto riguarda sviluppo, destino e specificazione cellulare del ricciodi mare ci si aspetta: a) di individuare gli effetti dell'inibizione dellafunzione e dell'espressione ectopica del gene Hb12 sullo sviluppoembrionale e identificare di possibili geni bersaglio. b) definire ipatterns di espressione della proteina Otp ed identificare le cellule chela esprimono.Riguardo l'identificazione di nuovi meccanismi di controlloche regolano l'espressione genica nel differenziamento miogenico, irisultati attesi sono: a) individuare il legame fra perturbazionedell'espressione di BERF-1 /ZBP-89 e progressione del programma miogenicob) correlare una funzione alterata con un fenotipo tumorale(rabdomiosarcoma). Per quel che concerne l'analisi di Ozz-E3 ligasi, irisultati attesi riguardano: la formazione del complesso Ozz-E3 durante ildifferenziamento cellulare ed il ruolo della fosforilazione di Ozz nellaregolazione della formazione del complesso multiproteico. I risultatiottenuti permetteranno di aumentare le conoscenze sulla funzione di Ozz epiù in generale sul pathway dell'ubiquitina-proteosoma durante ildifferenziamento ed il rimodellamento del muscolo scheletrico.

Potenziale impiego - per processi produttivi

Moduli

Modulo: Controllo trascrizionale e post-trascrizionale nello sviluppo, nel

differenziamento cellulare e nella trasduzione del segnale

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo: Pertubazione dello sviluppo e del differenziamento indotta da

droghe, peptidi ricombinanti, complessi RNA-nanoparticelle.

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

te	Pers. empo ad/det	Funz.+ Invest.	l da Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
	1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
	341	114	36	116	607	65	215	70	N.D.	742

⁻ per risposte a bisogni individuali e collettivi



Unità di personale di ruolo*						
ricercatori Totale						
5	7					

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	3	0	1	0	1	8	13

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale								
1 4 1 6								

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
ANGELA SANTONI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Antolini Rachele	V	Granato Teresa	Ш	Passananti Claudio	Ш
Barile Giuseppe	I	Iani Paola	\mathbf{V}	Pistolesi Gabriella	IV
De Blasi Angelina	IV	Marconi Luca	VIII	Ravenna Linda Ester	IV
Fiore Mario	IV	Marotti Federico	IV	Rodino Paola	III
Fiorucci Gianna	III	Nicotra Maria Rita	IV	Ruscitti Rosa Generosa	V

Temi

Tematiche di ricerca

L'attività di ricerca riguarda lo studio dei meccanismi molecolari coinvolti nel controllo del differenziamento, della omeostasi, della proliferazione e della apoptosi in diversi modelli cellulari normali e patologici. In particolare comprende: identificazione e caratterizzazione di proteine che interagiscono con la RNA polimerasi II; analisi delle alterazioni dell'espressione genica in neoplasie umane della prostata, della mammella e della tiroide; meccanismi antiproliferativi dell'interferone beta in tumori solidi; studio della funzione di geni mediante animali geneticamente modificati. Vengono messi a punto ed utilizzati sistemi e tecnologie diverse. Approcci sperimentali come: identificazione di interazioni proteina/proteina, geni mutati con dominanza negativa, interferenza su base RNA, valutazione dell'espressione genica mediante "real time PCR", sviluppo delle tecnologie di transgenizzazione animale trovano larga applicazione in linee cellulari, in campioni bioptici di tessuti normali e patologici e in modelli animali geneticamente modificati.

Stato dell'arte

Proliferazione, differenziamento e morte cellulare programmata negli organismi pluricellulari sono processi biologici fondamentali frutto di una rete complessa di regolazioni che governa vere e proprie cascate geniche sia durante lo sviluppo di un organismo sia durante il suo mantenimento. La scelta di una cellula di attuare uno specifico programma dipende dal suo microambiente; l'alterazione di uno di questi programmi dà luogo a stati patologici come neoplasie o malattie degenerative.

Azioni

Attività da svolgere

L'attività di ricerca comprende: Identificazione e caratterizzazione di proteine che interagiscono con la RNA polimerasi II; Analisi delle alterazioni dell'espressione genica in neoplasie umane della prostata, della mammella e della tiroide; Meccanismi antiproliferativi dell'interferone beta in tumori solidi; Studio della funzione di geni mediante animali geneticamente modificati.

Punti critici e azioni da svolgere

I punti critici sono costituiti: i) dalle normali difficoltà sperimentali, che verranno affrontate con collaborazioni e con il potenziamento del know-how delle risorse umane disponibili; ii) dalle carenze di finanziamento e dal grave problema del personale altamente qualificato, ma permanentemente precario.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le attività svolte dal personale coinvolto in questa commessa mirano ad ottimizzare ed a utilizzare sistemi e tecnologie innovative. Le tecnologie utilizzate sono finalizzate a: identificare nuovi geni umani e murini coinvolti in "pathways" specifici; individuare e caratterizzare nuove interazioni proteina/proteina; realizzare ed analizzare geni mutanti e chimerici con caratteristiche di dominanza negativa; interferire con specifici geni bersaglio su base siRNA; valutare livelli di espressione genica differenti mediante 'real time PCR'. Tali tecnologie, in continua evoluzione, vengono applicate a linee cellulari, ed a campioni bioptici di tessuti normali e patologici.



Collaborazioni (partner e committenti)

La commessa si avvale di molteplici collaborazioni: Istituti CNR della ex Area Roma 3 (INMM, IN) e IGB; Università di Milano Dipartimento di Biologia; Università Roma 2 Facoltà di Medicina; Istituto Superiore di Sanità; Università Roma "La Sapienza" Dipartimento di Medicina Sperimentale e Patologia; Istituti Fisioterapici Ospitalieri (IFO) di Roma; Istituti Ortopedici Rizzoli di Bologna; Istituto Oncologico di Bari; Department of Human Anatomy University of Oxford, UK.

Finalità

Obiettivi

Gli studi sono volti a chiarire i meccanismi alla base di processi biologici fondamentali e di loro alterazioni ed hanno una ricaduta applicativa per l'identificazione di percorsi innovativi diagnostici e terapeutici. Utilizzando competenze di biologia molecolare e cellulare, gli studi intrapresi permetteranno di chiarire meccanismi ed interazioni alla base di patologie neoplastiche e degenerative e di individuare nuovi indicatori prognostici e valide associazioni terapeutiche.

Risultati attesi nell'anno

I risultati attesi da questa linea di ricerca sono la progettazione, la costruzione e la caratterizzazione di nuove molecole che produrranno pubblicazioni scientifiche e soprattutto modelli molecolari, cellulari e animali che potranno essere oggetto di specifici brevetti. Tali modelli saranno utilizzati per la validazione di farmaci e porre le basi per protocolli di terapia genica mirata.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Non si prevedono impieghi in processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Il potenziale impiego della progettazione, costruzione e caratterizzazione di nuove molecole consiste soprattutto nella produzione di modelli molecolari, cellulari e animali che potranno essere oggetto di specifici brevetti. Tali modelli saranno utilizzati per la validazione di farmaci e per porre le basi di protocolli di terapia genica mirata.

Moduli

Modulo: Controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
598	134	50	0	782	22	206	61	N.D.	865

Unità di persona	Unità di personale di ruolo*						
ricercatori Totale							
5	13						

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo										
associato dottorando borsista assegnista specializzando di ricerca visitatore collaboratore professionale altro										
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale								
1 1 0 2								

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Analisi cellulare e molecolare della risposta immunitaria indotta da vaccini sintetici

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico **Istituto esecutore:** Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
GIOVANNA DEL POZZO

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Mignoli Emiliana VII Vecchio Antonia II

Temi

Tematiche di ricerca

Valutazione della proliferazione in vivo dei linfociti T CD8 della memorianel midollo osseo, rispetto a quella in altri organi linfoidi edextra-linfoidi came presupposto per la la progettazione di vacciniefficaci. Sviluppo e validazione di modelli matematici per la simulazionedei meccanismi di proliferazione e morte delle memoria immunitaria -Sintesi ed utilizzi in vitro e in vivo di vaccini sinteticiSviluppo della tecnica del protein-chip e sua applicazione nell'analisi deiprofili proteomici di estratti tissutali e sieri provenienti da pazienti eda donatori sani. Identificazione e caratterizzazione di determinantiantigenici associati alla patologia e di proteine tessuto-specifiche comemarcatori precoci di distruzione nelle sindromi autoimmuni.Studio della regolazione post-trascrizionale e della struttura dell'RNAcodificante per gli antigeni MHC di classe II al fine della modulazionedella risposta immune.Studio dei meccanismi di induzione della tolleranza immunitaria in sindromiautoimmuni associate a stimoli ambientali

Stato dell'arte

Alcuni dei principali argomenti trattati attualmente in campointernazionale dall'immunologia di base e applicata sono tra le tematichedella commessa. Studio della risposta immunitaria cellulo-mediata di tipocitolitico che si instaura nel corso di un'infezione intracellulare o di untumore; studio della risposta immunitaria di tipo anticorpale e dei suoieffetti neutralizzanti e/o terapeutici in particolari situazionipatologiche quali il morbo di Alzheimer; le malattie allergiche; imeccanismi cellulari che regolano l'instaurarsi della memoriaimmunologica; caratterizzazione di nuovi marcatori antigenici di originetumorale; sintesi di vaccini ricombinanti per l'immunoterapia deitumori;l'analisi delle cause dei meccanismi di autoimmunità per laprevenzione e la cura delle sindromi derivate da tale fenomeno

Azioni

Attività da svolgere

Sviluppo della tecnica del protein-chip e sua applicazione nell'analisi deiprofili proteomici di estratti tissutali e sieri provenienti da pazienti eda donatori sani. Identificazione e caratterizzazione di determinantiantigenici associati alla patologia al fine della sintesi di vaccini. Sviluppo di un vaccino sintetico costituito da batteriofagi ricombinanti esuo utilizzo in vitro su cellule di sangue periferico e in vivo su topiwild-type e transgenici, per la stimolazione di una risposta umorale ocellulo mediata. Studio del mantenimento della memoria immunologica conparticolare riguardo ai linfociti T CD8. Analisi della variabilità dellarisposta immunitaria associata alla variabilità del complesso MHC, sia alivello struuturale che funzionale, con particolare attenzione allaregolazione post-trascrizionale dei geni associati a sindromi autoimmumni.

Punti critici e azioni da svolgere

I punti critici riguardano 1) le ricadute applicativedella commessa cioe` la difficoltà di stabilire connessioni con le aziendeinteressate a produrre vaccini ricombinanti e/o kit diagnostici. 2) Lamancanza di apparecchiature idonee ad affrontare studi di proteomica.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Tecniche di base per lo studio della risposta immunitaria (test diproliferazione e citotossicità, ELISPOT, ELISA); analisi citofluorimetrica esorting di popolazioni cellulari primarie; manipolazione emantenimento di linee murine e di ratto ed espianto di organi; tecniche dibase di biologia molecolare e cellulare; analisi biochimica eproteomica (western, protein-chip e SELDI-TOF).



Collaborazioni (partner e committenti)

IBP-CNR; Università "Federico II" e II Università di NapoliUniversità La Sapienza, Roma; John Hopkins University, Baltimore,USA;Deutsches Rheuma-Forschungszentrum, Berlin; Guido Grandi,Chiron s.r.l.,Sienalstituto per la Cura dei Tumori Fondazione Pascale NapoliNew York Regional Islet Cell Resource Center at New York PresbyterianHospital, Columbia Presbyterian Campus.MIUR-FIRB,ISS,Telethon,EC,NIH,

Finalità

Obiettivi

Monitoraggio, mediante valutazione della risposta immunitaria in vivo e invitro, dell'uso di batteriofagi ricombinanti per l'espressione di : a)epitopi CD8 e CD4 del citomegalovirus umano, B)epitopi in grado diindurre una risposta anticorpale contro la proteina beta amiloideresponsabile della malattia di Alzheimer, e valutazione dell'effetto antiaggregante degli anticorpi generati. Sintesi di vaccini basati su costrutti a DNA esprimenti epitopidell'allergene maggiore della Parietaria e validazione su un sistemamodello murinoSviluppo di nuovi carrier vaccinici basati su ceppi batterici attenuati diSalmonella e utilizzo di costrutti a DNA per l'espressione di antigenitumorali in vivoValutazione dell'effetto di citochine (IL-7, IL-15, etc.) sull'attivazione, sopravvivenza e proliferazione dei linfociti T CD8 della memoria purificatidal midollo osseo. Sviluppo di un software matematico per la previsione della proliferazione emorte dei CD8

Risultati attesi nell'anno

Analisi dei profili proteomici degli estratti tissutali e dei sieri dipazienti affetti da carcinoma mammario mediante utilizzo della tecnica delprotein-chip, Identificazione di proteine differenzialmente espresse neipazienti mediante sequenza N-terminale. Analisi dei profili proteomici deisieri di ratti in cui e` stato indotto il diabete mellito di tipo I.Analisi della risposta citotossica indotta dall`utilizzo di batteriofagiesprimenti epitopi CTL ed helper del citomegalovirus umano in topi.Analisidell`effetto antiaggregante sui cervelli di topi trasgenici (modello murinodell`Alzheimer) degli anticorpi indotti contro la proteina del beta.Valutazione dell`effetto di citochine (IL-7, IL-15, etc.) sull`attivazione,sopravvivenza e proliferazione dei linfociti T CD8 della memoria purificatidal midollo osseo. Analisi della variabilità della risposta immunitariaassociata alla variabilità del complesso MHC, sia a livello struuturale chefunzionale, con particolare attenzione alla regolazione post-trascrizionaledei geni associati a sindromi autoimmunni.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

sintesi di vaccini ricombinantiproduzione di ligandi specifici per la misura della massa delle cellulebeta pancreatiche con il PETprogettazione di kit diagnostici per l'identificazione di marcatori tumorali

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Questi studi produrranno informazioni sui meccanismi di base della rispostaimmunitaria in situazioni fisiologiche e patologiche

Moduli

Modulo: Analisi cellulare e molecolare della risposta immunitaria indotta da

vaccini sintetici

Istituto esecutore: Istituto per le applicazioni del calcolo 'Mauro Picone'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo: Analisi cellulare e molecolare della risposta immunitaria indotta da

vaccini sintetici

Istituto esecutore: Istituto di genetica e biofisica 'Adriano Buzzati Traverso'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	de Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
15	84	441	1	541	308	833	176	N.D.	1025



Unità di personale di ruolo*				
ricercatori	Totale			
0	0			

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	2	0	2	0	0	0	4

Richiesta nuove unità di personale				
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale	
1	2	2	5	

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Identificazione di regolatori del differenziamento, la motilità e la poptosi delle cellule staminali

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico **Istituto esecutore:** Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita

Responsabile indicato: EDUARDO JORGE PATRIARCA

Elenco dei partecipanti

liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

1. Generazione di modelli cellulari per il monitoraggio deldifferenziamento, apoptosi, migrazione, etc. delle cellule ES; 2. Sintesi di repertori molecolari; 3. Messa a punto di protocolli per l'analisi su larga scala HTS in sterilità; 4. Screening dei repertori molecolari per identificare inibitori/induttoridei processi biologici descritti; 5. Profili di espressione genica, variazioni del metiloma, delmicrotrascrittoma (microRNA) e della architettura nucleare di ES trattatecon gli inibitori/induttori identificati.

Stato dell'arte

Le cellule staminali essendo sorgente di diversi tipi cellulari possonocompensare l'incapacità dell'organismo adulto di riparare i tessutidanneggiati. Nonostante ciò, la disponibilità di molecole in grado dicontrollare la loro proliferazione, il loro differenziamento, etc. è ancoramolto limitata. In gran parte, ciò è dovuto sia alla complessità deimeccanismi molecolari che regolano tali funzioni, sia alle limitazionidegli approcci sperimentali utilizzati.

Azioni

Attività da svolgere

1. Generazione di altri modelli cellulari per il monitoraggio deldifferenziamento, apoptosi, migrazione, etc. delle cellule ES; 2. Sintesi di repertori molecolari; 3. Messa a punto di protocolli per l'analisi su larga scala HTS in sterilità; 4. Screening dei repertori molecolari per identificare inibitori/induttoridei processi biologici descritti; 5. Profili di espressione genica, variazioni del metiloma, delmicrotrascrittoma (microRNA) e della architettura nucleare di ES trattatecon gli inibitori/induttori identificati.

Punti critici e azioni da svolgere

Il punto critico era costituito dalla mancanza di finanziamenti per ilpassaggio all'automazione delle procedure di screening. Questo punto èstato superato. Infatti, nel 2005 è stata stipulata una convenzione tral`Istituto di Genetica e Biofisica-Adriano Buzzati Traverso del CNR el`Istituto di Biostrutture e Bioimmagini del CNR che, nell`ambito delCentro Regionale di Competenza in Diagnostica e Farmaceutica Molecolare, hacome oggetto di costituire, presso l`IGB-ABT, un laboratorio di 'ScreeningAutomatizzato (HTS) per l'Identificazione di Nuove Molecole Coinvolte nellaModulazione del Differenziamento di Cellule Staminali` (finanziamentocorrisposto 750.000 Euro).Punto critico: mancanza di personale specializzato a tempo indeterminato(tecnologo, tecnico)dedicato full-time al progetto.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

La fattibilità della proposta è garantita: -dalle competenze dei ricercatori coinvolti come attestato dallepubblicazioni su reviste internazionali: Marino et al Nat Biotechnol 2000; Parisi et al JCB 2003; Paglialunga et al Blood 2004; Fico et al CDD 2004; Parisi et al Stem Cells 2005; Minchiotti 2005; Tarsitano et al 2005); -dalla disponibilità di tutte le facilities richieste: DNAmicroarray, SELDIProtein-Chip Tch., Realtime PCR, FACS-Cell Sorter, Microscopia e Time-lapse videomicroscopy, Software analisi immagini. Cappe a flusso laminare ed incubatori dedicati.

Collaborazioni (partner e committenti)

M. Ruvo, IBB-CNR, Napoli; E. Arenas, Karolinska Institute, Stochkolm, Svezia; L. Luzzatto, Università di Genova, Italia; E. Cattaneo, Università di Milano, Italia; G. Cossu, Stem Cell Research Institute, DIBIT, Milano, Italia; P.Sassone-Corsi, IGBMC, Strasburgo, Francia, P. Carmeliet, Center for Transgene Technology



and Gene Therapy, Belgio. V. Orlando, Dulbecco Telethon Institute, IGB-CNR, Industrie Biotecnologiche: Thromb-X Biotech, Belgio; Ciphergen Biosystems.

Finalità

Obiettivi

Obiettivo: sviluppare Metodologie Innovative per identificare regolatori(geni, molecole) del differenziamento, motilità, e apoptosi delle cellulestaminali. Competenze: EJ Patriarca (coordinamento) D De Cesare, S Filosa, G Minchiotti (ES differenziamento) S De Falco (chimica combinatoriale, angiogenesi) E Caputo (proteoma)M Matarazzo, V Orlando (metiloma, microtrascrittoma e architettura nucleare)MP Stoppelli (migrazione cellulare)I Iaccarino (apoptosi)

Risultati attesi nell'anno

-allestimento sistema robotizzato per l'analisi HTS in sterilità deirepertori molecolari;-screening di almeno una libreria peptidica e/o di sostanze naturali;-almeno 3 induttori/inibitori del differenziamento o della: motilitàcellulare, capacità angiogenica, o apoptosi delle ES.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Medicina rigenerativa. Le proprietà intrinseche delle cellule staminali fanno si chepotenzialmente queste cellule si possano prestare ad un utilizzoterapeutico nell'ambito della medicina rigenerativa. In teoria, data la loro capacità di differenziare, tali cellule possonovenire utilizzate come sorgente di differenti tipi cellulari, compensandoin tal modo l'incapacità dell'organismo adulto di riparare i danni a caricodi tessuti che hanno perduto la capacità di rinnovarsi. Le ripercussioni applicative delle metodiche volte al differenziamentocontrollato di cellule staminali sono dunque potenzialmente enormi, inquanto utilizzabili per la cura e la terapia di un ampio spettro di patologie. Abbiamo dimostrato che cellule embrionali staminali murine, delete del genecripto, sono in grado di generare neuroni dopaminergici e recuperare ilfenotipo Parkinsoniano in un modello di ratto, senza dare origine a tumori. Tale risultato rappresenta un importante avanzamento nella ricerca deifattori che determinano la formazione di tumori nel trapianto delle cellulestaminali.

Moduli

Modulo: Identificazione di regolatori del differenziamento, la motilità e

l'apoptosi delle cellule staminali

Istituto esecutore: Istituto di genetica e biofisica 'Adriano Buzzati Traverso'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
0	77	894	1	972	280	1251	169	N.D.	1421

Unità di personale di ruolo*				
ricercatori Totale				
0	0			

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	5	1	2	0	0	0	0	0	8



Richiesta nuove unità di personale				
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale	
2	6	3	11	

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Sviluppo, Differenziamento e Trasformazione Cellulare

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di neurobiologia e medicina molecolare

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:FELICE TIRONE

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Allegria Leda	IV	Dominici Roberto	V	Procida Paola	VII
Aloise Ugo	IV	Falchetti Maria Laura	II	Re Patrizia	VII
Baron Livio	IV	Farioli Vecchioli Stefano	Ш	Ridolfi Alessandro	IV
Bracci Laudiero Luisa	Ш	Febbraro Cardello Vincenzo	VIII	Salvatore Anna Maria	Ш
Campioni Nadia	\mathbf{V}	Grassi Marisa	VI	Starace Giuseppe	II
Caruso Maurizia	Ш	Levi Andrea	I	Subania Bruno	VII
Colasuonno Marisa	VII	Liuzzi Antonia	II	Tirone Felice	Ш
Corvo Luciano	VI	Maresci Americo	IV	Vaccaro Domenico	VII
De Cresci Patrizia	VII	Mirabelli Angela Maria	V	Vaccaro Romeo Aldo	VII
Dejana Remo	V	Moretti Fabiola	V		
Del Soldato Rosina	VII	Papa Pamela	VII		
		Pelliccia Mario	IV		

Temi

Tematiche di ricerca

Isolamento di cellule staminali emopoietiche, muscolari e neurali. Analisidei parametri del ciclo cellulare tramite citometria a flusso. InterazioniDNA-proteina nel contesto cromatinico e analisi di espressione genica. Sviluppo di sistemi di RNA interference in linee cellulari, di peptidi e dimutanti dominanti-negativi per il blocco selettivo della funzione delleproteine studiate e/o per fattori che ne regolano l'espressione ol'attività. Creazione di modelli animali di tumorigenesi.

Stato dell'arte

Durante lo sviluppo di un organismo, le cellule embrionali acquistano unospecifico destino cellulare, differenziano e cessano di proliferare. Questiprocessi sono indotti da segnali extracellulari che regolano fattoritrascrizionali tessuto-specifici la cui attività è strettamente associataal controllo del ciclo cellulare. L'alterazione di queste regolazioni èall'origine della tumorigenesi, ove la cellula perde la capacitàdifferenziativa e acquista un illimitato potenziale proliferativo.

Azioni

Attività da svolgere

Le attività di ricerca proseguiranno nel corso del 2006, mantenendol'articolazione in workpackages già programmata: 1. Studio dei fattori di crescita e dei meccanismi molecolari cheinducono specifici fenotipi differenziati in cellule staminaliemopoietiche e stromali.2. Studio dei meccanismi di regolazione del differenziamento e dellarigenerazione muscolare: interazioni funzionali fra i fattoritrascrizionali miogenici e complessi di rimodellamento della cromatina3. Controllo della progressione neoplastica dei gliomi e nellaneo-angiogenesi ad essi associata mediante inibizione della attivitàtelomerasica.4. Controllo dei geni proneurali coinvolti nello sviluppo del cervelletto enella insorgenza dei medulloblastomi: ruolo dei geni antiproliferatividella famiglia BTG/PC3.5. Ruolo dei complessi di adesione intercellulare, ed in particolare dellacatenina p120, nel controllo della motilità cellulare e dell'invasione.L'ipotesi di lavoro è che p120 partecipi nel regolare l'organizzazionedinamica del citoscheletro di actina e dei microtubuli.6. Caratterizzazione molecolare degli eventi che sottostanno allastabilizzazione e all'attivazione di p53, indotte da MDM4

Punti critici e azioni da svolgere

La programmazione sperimentale dellle azioni da svolgere e la lorofattibilità sembrano appropriate ai risultati che ci si propone diottenere. Vi sono tuttavia aspetti che possono creare difficoltà. In primo luogo la mancanza presso il CERC di una facility per stabulare iconigli, necessari alla produzione di anticorpi per i geni PC3/Tis21 ePC4/IFRD1, per i quali non esistono ancora sul mercato anticorpi. Anticorpipolicionali da



noi precedentemente prodotti, da noi forniti anche ad altrilaboratori che ce li richiedono, sono ormai quasi esauriti.Un ulteriore punto critico è la non disponibilità di un sistema idoneo peruna "live cell imaging analysis", necessario allo studio dei meccanismidinamici di controllo della motilità cellulare e dell'invasione metastaticatumorale.Un aspetto metodologico che potrebbe incontrare qualche difficoltà di messaa punto sono i saggi in vitro di ubiquitinazione e fosforilazione,nell'ambito dello studio della stabilizzazione e all'attivazione dellaproteina p53.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

I ricercatori partecipanti alla commessa ed i loro collaboratori hannocompetenze di biologia cellulare, molecolare, dellosviluppo e di citometria a flusso. Sono comunemente usate le tecnologie diimaging alla base della biologia cellulare (analisi morfologiche e diespressione e localizzazione di proteine tramite microscopia aimmunofluorescenza, confocale e time lapse); le tecnologie di citomteria aflusso per caratterizzare e isolare tipi cellulari; le tecnologie base dibiologia molecolare inerenti al clonaggio e ingegnerizzazione di geni, allaanalisi di espressione genica, e alla interazione genica con proteineregolatrici; le tecnologie proteomiche concernenti la purificazione diproteine ricombinanti, l'analisi delle interazioni proteina-proteina. Letecniche di indagine usate studiano la funzione genica attivando oinibendo tali geni, producendo modelli animali e cellularisovraesprimenti o difettivi per l'espressione dei geni in analisi.

Collaborazioni (partner e committenti)

Dip. di Ematologia e Banca del Sangue Placentare, Ospedale S.Eugenio,Universita' di Tor Vergata, Roma. Dipartimenti di Ematologia, dilmmunologia, di Neurochirurgia e di Patologia. Clinica dell'Universita'Cattolica del S. Cuore, Roma. Casa di Cura S. Raffaele, Roma. Ist. TumoriRegina Elena, Roma Univ. di Chieti - Sezione di Patologia MolecolareDiagnostica. Istituti Ortopedici Rizzoli - Lab di Ricerca Oncologica, Roma.Dip. di Medicina Sperimentale e Patologia, Univ. La Sapienza, Roma.

Finalità

Objettivi

Obiettivo generale di questo progetto è la comprensione dei meccanismi cheregolano l'espressione genica tessuto-specifica in modelli differenziatividi derivazione ectodermica e mesodermica, e delle alterazioni occorrentinel corso della trasformazione neoplastica. Le conoscenze acquisiteverranno utilizzate per sviluppare strategie di controllo deldifferenziamento e della neoplasia.

Risultati attesi nell'anno

1. Progressi nella conoscenza dei meccanismi molecolaridei fattori di crescita da noi identificati quali induttori di specificifenotipi differenziati in cellule staminali emopoietiche e stromali.2. Definizione del ruolo dei cofattori regolativi BRM , Rb e PC4 nelcontrollo dell'attività trascrizionale del fattore miogenico MEF2. 3. Messa a punto di protocolli basati su RNA interference per controllarel'espressione di geni di interesse.4. Identificazione di geni proneurali target di PC3 e verifica dell'ipotesiche PC3 li regoli agendo sul loro promotore a livello della cromatina.5. Caratterizzazione degli effetti che il knockdown della proteina p120produce sull'organizzazione del citoscheletro ed l'attività migratoria dicellule derivate dal cancro del colon e dal cancro della mammella.6. Caratterizzazione degli eventi molecolari riguardanti la funzioneproapoptotica di MDM4 nei confronti di p53.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Le ricerche in corso hanno portato e porteranno alla produzione di proteinebiologicamente attive di potenziale utilità clinica e di reagenti chepotranno essere testati in trial pre-clinici per la terapia genica di malattie degenerative.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Si prevede che le ricerche in corso portino alla identificazione di geni adattività antitumorale e/o prodifferenziativa nel sistema nervoso,muscolare ed in altri tessuti, alla produzione di reagenti da testare intrial pre-clinici per la terapia genica di malattie degenerative e allacreazione di banche dati per un approccio farmacologico personalizzato.

Moduli

Modulo:Sviluppo, Differenziamento e Trasformazione CellulareIstituto esecutore:Istituto di neurobiologia e medicina molecolareLuogo di svolgimento attività:Sede principale Istituto



Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
585	110	198	0	893	0	308	87	N.D.	980

Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale					
6	12					

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	5	0	3	1	0	0	1	1	11

Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale			
1	2	4	7			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Meccanismi molecolari del ciclo cellulare e della mitosi

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
MAURIZIO GATTI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Antolini Rachele	V	Lavia Patrizia	III	Ricordy Ruggero	II
Bonaccorsi Silvia	II	Palena Antonella	VII	Romeo Giovanna	III
Cundari Enrico	Ш	Perticone Paolo	Ш	Salviati Vincenzo	IV
De Salvia Rosella	Ш	Petrangeli Elisa	Ш	Schiattarella Elena	IV
Degrassi Francesca	Ш	Pistolesi Gabriella	IV	Somma Maria Patrizia	Ш
Giansanti Maria Grazia	III	Polani Stefania	V	Vitagliano Eleonora	IV
Iani Paola	V			~	

Temi

Tematiche di ricerca

Il sequenziamento del genoma umano e dei genomi di organismi modello, quali topo, S. cerevisiae e D. melanogaster, permette oggi di analizzare il ciclo e la divisione cellulare mediante approcci di genomica funzionale comparativa. Con questi approcci vengono studiati la regolazione ed i checkpoints del ciclo cellulare, l'organizzazione del cromosoma e il mantenimento della sua integrità, la struttura e funzione di centromeri e telomeri, la composizione ed il ruolo biologico dei centrosomi, la formazione del fuso, la segregazione dei cromosomi e la citochinesi. Vengono identificati e caratterizzati a livello funzionale prodotti genici coinvolti nel ciclo cellulare e in vari aspetti della mitosi. Viene determinata la localizzazione intracellulare di queste proteine sia mediante immunocolorazione che analisi in vivo dopo espressione di costrutti chimerici con la Green Fluorescent Protein, GFP. Si studiano inoltre le interazioni molecolari di queste proteine con altri polipeptidi coinvolti nel ciclo cellulare e nella mitosi.

Stato dell'arte

La mitosi ed il ciclo cellulare sono processi biologici intensamente studiati e la letteratura scientifica su questi argomenti è immensa. Pur essendo impossibile riassumere qui il contesto internazionale e lo stato attuale delle ricerche su questi temi, vanno tuttavia sottolineati due fatti. In questi ultimi anni, studi su organismi modello hanno permesso l'identificazione e la caratterizzazione funzionale di numerosi geni che controllano questi processi, mettendone in luce la grandissima conservazione evolutiva. Parallelamente è stato scoperto che la trasformazione tumorale è causata da mutazioni che alterano il ciclo cellulare o la mitosi. E` pertanto evidente che lo studio dei meccanismi molecolari del ciclo cellulare e della mitosi, oltre a contribuire alla comprensione di un processo biologico fondamentale, potrà anche fornire importanti informazioni sulla carcinogenesi.

Azioni

Attività da svolgere

La Commessa prevede di svolgere le sue attività mantenevo gli obiettivi di studio precedentemente individuati:1. Analisi di regolatori e checkpoint del ciclo cellulare.2. Analisi della struttura del cromosoma ed identificazione di fattori genetici ed ambientali che causano instabilità cromosomica.3.

Struttura, duplicazione e funzionamento dei centrosomi e loro ruolo nella trasformazione tumorale.

4. Meccanismi e controllo della segregazione cromosomica e genesi di cellule aneuplodi.5. Meccanismi di formazione e regolazione del fuso mitotico6. Meccanismi e controllo della citochinesi.7. Identificazione e caratterizzazione di geni mitotici mediante RNA interference.

Punti critici e azioni da svolgere

Permangono i notevoli problemi che frenano lo sviluppo dell'attività di ricerca. Parte della strumentazione è obsoleta e va ampliata sia quantitativamente che qualitativamente. Vi è carenza di personale in formazione (borsisti e assegnisti) e mancanza di sicure prospettive di inserimento di giovani ricercatori, condizioni che precludono una efficace programmazione pluriennale della ricerca. Va inoltre osservato che vi sono limitate



possibilità di accesso a fondi per la ricerca di base a tema libero. Tutti i recenti bandi FIRB riguardavano temi molto specifici, non attinenti all'attività scientifica dei ricercatori della Commessa. Va infine sottolineato che i ricercatori CNR non possono accedere ai fondi ministeriali PRIN/COFIN. Ciò crea discriminazione tra ricercatori universitari e CNR, non basata sul merito scientifico ma solo sull'Ente di appartenenza. Sarebbe opportuno che Il CNR intraprendesse un'azione decisa volta ad eliminare questa inaccettabile discriminazione

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Lo studio del ciclo cellulare e della mitosi viene affrontato impiegando come sistemi modello la Drosophila e le cellule di mammifero in coltura. Viene utilizzato una vasta gamma di moderne metodologie di genetica molecolare e biologia cellulare, incluso la tecnica dell'RNA interference (RNAi) e tecniche di "imaging" di cellule viventi che esprimono proteine marcate con GFP o con altri peptidi fluorescenti. Queste metodologie sono già nel repertorio sperimentale dei ricercatori che operano nell'ambito della Commessa.

Collaborazioni (partner e committenti)

I ricercatori che operano nell'ambito della Commessa collaborano con diverse Istituzioni italiane e straniere, tra cui: Dipartimento di Genetica e Biologia Molecolare e Centro di Eccellenza BEMM dell'Università di Roma 'La Sapienza'; Fondazione Mario Cesalpino (Roma); Istituto Regina Elena; (Roma); Università di Pavia; Università di Lecce; Cornell University (USA); Stanford University (USA); University of North Carolina (USA); University of Cambridge (UK); University of Leeds (UK); University of Oxford (UK); Max Panck Institute of Biochemistry, (Monaco, Germania); National Institutes of Health (Bethesda, USA).

Finalità

Obiettivi

Si intende proseguire il lavoro nell'ambito delle tematiche sopra descritte, con l'obiettivo di acquisire nuove e più approfondite conoscenze. Le ricerche sono focalizzate sui seguenti obiettivi specifici:1. Analisi di regolatori e checkpoint del ciclo cellulare.2. Analisi della struttura del cromosoma ed identificazione di fattori genetici ed ambientali che causano instabilità cromosomica.3. Struttura, duplicazione e funzionamento dei centrosomi e loro ruolo nella trasformazione tumorale. 4. Meccanismi e controllo della segregazione cromosomica e genesi di cellule aneuplodi.5. Meccanismi di formazione e regolazione del fuso mitotico 6. Meccanismi e controllo della citochinesi.7. Identificazione e caratterizzazione di geni mitotici mediante RNA interference.

Risultati attesi nell'anno

I vari progetti di ricerca che si prevede di portare a termine permetteranno l'identificazione e la caratterizzazione funzionale di nuove proteine coinvolte nel ciclo cellulare e nella mitosi. Ci aspettiamo inoltre di definire le funzioni di alcuni omologhi umani di geni mitotici di Drosophila. I risultati attesi hanno potenziali ricadute applicative nell'ambito della caratterizzazione genetica e nella diagnosi dei tumori. Inoltre, l'identificazione di nuove proteine coinvolte nella divisione mitotica fornirà nuovi bersagli per lo sviluppo di farmaci con attività antimitotica.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Al momento attuale non si ravvisano impieghi immediati per processi produttivi.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

I progetti di ricerca attualmente in corso nell'ambito della Commessa potranno fornire risultati con potenziali ricadute applicative nell'ambito della caratterizzazione genetica e diagnosi dei tumori. L'identificazione di nuove proteine coinvolte nella divisione cellulare potrà inoltre fornire nuovi bersagli per lo sviluppo di farmaci con attività antimitotica

Moduli

Modulo: Meccanismi molecolari del ciclo cellulare e della mitosi

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	po det Invest. da Fonti Esterne Infrastrutt. tec scient a gestio accentrata	Infrastrutt. tecn scient a gestione	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo	
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
736	219	54	0	1009	70	343	85	N.D.	1164

Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale					
11	17					

^{*}equivalente tempo pieno

	Unità di pers	sonale non a	li ruolo							
	associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
Ī	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Richiesta nuove u					
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale		
1	1	7	9		

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Nuovi bersagli molecolari per il controllo di crescita, invasività cellulare ed angiogenesi nella trasformazione neoplastica

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico **Istituto esecutore:** Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
PASQUALE VERDE

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

• Fattori trascrizionali del complesso AP-1 nel controllo di proliferazione cellulare ed oncogenesi: ruolo dell'oncoproteina nucleare Fra-1 (Verde).• Modificazioni epigenetiche nella trasformazione neoplastica e progressione tumorale: ruolo della metilazione del DNA (D'Esposito).• Ruolo di repressori trascrizionali della famiglia Polycomb nella tumorigenesi e dedifferenziamento associato alla trasformazione neoplastica (Orlando).• Meccanismi antiapoptotici mediati dalla proteina mitocondriale Bcl-xL e dai suoi partners d'interazione in cellule neoplastiche (Stoppelli, Iaccarino).• Il sistema uPA/uPAR nel controllo di migrazione e proliferazione cellulare in cellule primarie umane e nella tumorigenesi (Del Pozzo, Stoppelli)• Sistema PIGF/VEGF e rispettivi recettori (Flt-1 Flk-1) nel controllo dell'angiogenesi tumorale (De Falco).• Vettori lentivirali esprimenti shRNAs per l'inibizione post-trascrizionale di proteine oncogeniche in leucemie APL (PML-RAR e PLZF-RAR) (DeAngioletti).

Stato dell'arte

Recenti contributi dei gruppi partecipanti alla commessa: Regolazione trascrizionale e post-traduzionale del fattore Fra-1, e suo ruolo essenziale come come bersaglio nucleare dell'oncogène Ras (Verde). Metilazione del DNA e struttura della cromatina, nella regione pseudo-autosomale di cromosomi sessuali e nella regolazione di geni implicati nella progressione tumorale (D'Esposito). Ruolo di repressori trascrizionali della famiglia Polycomb nei meccanismi epigenetici alla base dell'identità cellulare, in D. melanogaster e nel differenziamento di cellule muscolari murine (Orlando). Identificazione di nuovi partners d'interazione implicati nella funzione antiapoptotica del protoncogene Bcl-xL (Iaccarino). Identificazione della funzione antiapoptotica del recettore per l'urochinasi (Stoppelli, Iaccarino) e di nuovi inibitori della migrazione ed invasione tumorale, oltre che della risposta allergica (Stoppelli, Del Pozzo). Identificazione di varianti di PIGF attive come inibitori della crescita tumorale dipendente da VEGF (De Falco). Messa a punto di sistemi virali e metodologie di trasduzione di cellule staminali ematopoietiche e leucemiche (De Angioletti).

Azioni

Attività da svolgere

· Analizzare proliferazione cellulare e parametri di trasformazione neoplastica, in cellule di tiroide, in seguito ad inibizione di singoli (Fra-1) e multipli componenti di AP-1 (Verde). · Determinare il profilo globale di metilazione del DNA (DMH, Differential Methylation Hybridization), in linee di melanoma a differenti stadi di progressione tumorale (D`Esposito). · Determinare l`effetto dell`inibizione di specifici componenti del gruppo Polycomb e di microRNA, nei confronti dell`identità cellulare, in vari sistemi di differenziamento in vitro (Orlando) · Caratterizzare funzionalmente JM4 e XLM26, due proteine identificate in base all`interazione con l`oncoproteina Bcl-xL (Iaccarino). · Analizzare inibitori del sistema uPA/uPAR, in sistemi biologici per lo studio dell`attività metastatica: membrana corioallantoidea dell`embrione di pollo, disseminazione tumorale in modelli murini (Stoppelli). · Determinare ed analizzare la crescita tumorale in vivo di cellule tumorali modificate mediante iperespressione di varianti di PIGF (De Falco). · Creare nuovi vettori lentivirali esprimenti shRNA per il targeting di oncogeni di fusione e trasduzione di cellule leucemiche (De Angioletti).



Punti critici e azioni da svolgere

Silenziamento dell'espressione di Fra-1, in linee cellulari tumorali, mediante espressione stabile di shRNA. Mediante lo stesso approccio: soppressione stabile di uPAR in varie linee cellulari.Preparazione di linee tumorali iperesprimenti varianti di PIGF. Verifica dell'inibizione della crescita tumorale in topo, mediante inoculo delle cellule trasfettate sotto cute.Verifica della specificità e dell'efficienza degli shRNA contro gli oncogeni di fusione.Oltre alla disponibilità dei finanziamenti, il principale punto critico in comune alle varie linee di ricerca, è rappresentato dalla necessità di personale tecnico a tempo determinato, con ruolo tecnologico.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

· Tecniche per lo studio di fattori trascrizionali (EMSA, WB, reporter gene assays) e proliferazione cellulare (FACS) (Verde). · Analisi del metiloma (bisulphite sequencing, promoter microarrays) e di profili di espressione genica (real-time PCR e microarrays) (D'Esposito). · Struttura della cromatina (immunoprecipitazione della cromatina e modificazione di istoni) (Orlando). · Apoptosi ed interazioni proteina-proteina (saggi di apoptosi, TAP, Tandem Affinity Purification) (Iaccarino) Motilità ed invasività cellulare (Matrigel, Boyden chamber, time-lapse videomicroscopy) (Del Pozzo, Stoppelli). · Angiogenesi (saggi d'interazione con recettori angiogenici, modelli animali per l'angiogenesi in vivo) (De Falco). · Costruzione ed utilizzo di vettori retrovirali (De Angioletti).

Collaborazioni (partner e committenti)

Institut Pasteur, Parigi (Verde/Yaniv); IGMM (Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier), CNRS, Montpellier (Verde/Piechaczyk); IFOM (Istituto FIRC di Oncologia Molecolare), Milano (Verde/Blasi). Cancer Research UK, London Research Laboratory (Iaccarino/Downward); Universita degli Studi di Lecce (Iaccarino/Bucci). Istituto Tumori Milano (De Falco/Zunino); Sigma-Tau (De Falco/Pisano). Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York (De Angioletti/Pandolfi), Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova (DeAngioletti/Notaro).

Finalità

Obiettivi

• Ruolo di specifici componenti del complesso AP-1 nella trasformazione neoplastica: funzione di Fra-1 come regolatore trascrizionale del ciclo cellulare (Verde).• Profili stadio-specifici di metilazione del DNA (metiloma), correlazione con modificazioni istoniche (epigenoma) e siti bersaglio per MBPs (Methyl Binding Proteins), nella progressione di linee tumorali (D`Esposito).• Meccanismi di perdita d`identità cellulare mediati da proteine Polycomb nella trasformazione neoplastica (Orlando).• Ruolo di nuovi partners molecolari (interattori) e vie di trasduzione implicati nella funzione anti-apoptotica di Bcl-xL (Iaccarino).• Attività anti-metastatica in modelli cellulari ed animali di nuovi inibitori del pathway uPA/uPAR (Stoppelli)• Relazione biochimica tra PIGF/VEGF ed i due recettori FIt-1 e KDR (De Falco).• Differenziamento dei cloni leucemici indotto da RNAi verso geni di fusione oncogenici (PML-RARA e PLZF-RARA) (De Angioletti).

Risultati attesi nell'anno

Isolamento di promotori bersaglio implicati nel controllo del ciclo cellulare da parte dell'oncoproteina nucleare Fra-1.Definizione del peptide resoponsabile dell'interazione tra JM4 e Bcl-xL. Clonaggio ed espressione in cellule del gene codificante per la proteina XLM26.Nuovi inibitori della motilità cellulare basati sull'interazione uPA/uPAR.Vettori virali esprimenti small RNA che bloccano specificamente l'espressione di oncogeni ed, in particolare, di trascritti di fusioneNuovi inibitori dell'angiogenesi tumorale

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Possibile ricaduta sulla produzione di nuovi farmaci anti-tumorali:inibitori farmacologici di migrazione ed invasione tumorale; varianti di PIGF per l'inibizione dell'angiogenesi patologica.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Questi studi produrranno informazioni sulla biologia della cellula tumorale che potranno tradursi in strumenti innovativi, sia per la classificazione della malattia neoplastica (diagnostica e definizione della prognosi), sia per l'identificazione di bersagli molecolari per terapie mirate.

Moduli

Istituto esecutore:

Modulo: Nuovi bersagli molecolari per il controllo di crescita, invasività

cellulare ed angiogenesi nella trasformazione neoplastica Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	nvest. Esterne scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo	
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
0	67	184	1	252	47	298	147	N.D.	446

Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale					
11	17					

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato							
0	3	2	5				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Caratterizzazione e validazione di nuove molecole per la terapia di tumori tiroidei

Dati generali

Progetto: Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e

omeostasi cellulare

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano Salvatore'

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita

Responsabile indicato: FRANCESCA CARLOMAGNO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Berardone Mario	VII	Liguoro Domenico	III	Salvatore Giuliana	Ш
Carlomagno Francesca	III	Mellone Stefano	VI	Speranza Giulia	VII
De Franciscis Vittorio	П	Moscato Fortunato	VI	•	
Galli Paolo	VI	Mostardi Mario	VII		
		Pacifico Francesco Maria	III		

Temi

Tematiche di ricerca

L'avanguardia della terapia antineoplastica prevede il blocco di specifiche molecole la cui attivita` e` responsabile della trasformazione cellulare e dell`insorgere dei tumori. La presente commessa riguarda l'identificazione di nuove strategie da utilizzare nel trattamento dei tumori tiroidei. In particolare intendiamo individuare dei target molecolari il cui bersagliamento sia in grado di bloccare la proliferazione e sopravvivenza delle cellule tumorali tiroidee. La commessa si snoda come segue: a)l'identificazione di efficienti inibitori dell'attivita` chinasica dell'oncogene RET e la catterizzazione di anticorpi monoclonali diretti contro il dominio extracellulare di RET. Queste molecole verranno testate per la loro capacita` di bloccare la trasformazione mediata da RET. Inoltre intndiamo studiare i meccanismi che sottendono ai fenomeni di resiistenza alle categorie di farmaci su menzionati.b)lo studio della funzione di NF-kappaB nel mantenimento e nel controllo delle apoptosi delle cellule tiroidee allo scopo di poter disegnare strategie che possono interferire con la resistenza delle cellule tiroidee anaplastiche nel confronti dei chemioterapici.

Stato dell'arte

Sono state da noi identificate tre molecole, PP1, PP2 e, con forte attività` inibitoria (IC50 100nM) nei confronti di mutanti di RET associati ai tumori tiroidei (RET/PTC e RET/MEN2) sia in vivo che in vitro. Abbiamo inoltre individuato circa 50 anticorpi monoclonali antiRET la cui capcita` di riconoscimento del recettore e` stata testata mediante immunoprecipitazione, FACS ed ELISA. Di questi circa 20 sono stati testati per la capacita` di spegnere la trasduzione del segnale mediata da Ret mediante downregolzione e/o internalizzazione del recettore. NF-kB è una famiglia di fattori di trascrizione in grado di regolare l' espressione di numerosi geni coinvolti nella regolazione dell`apoptosi, dell`infiammazione, della risposta immune e del cancro. Nel nostro laboratorio abbiamo recentemente dimostrato che l'attività trascrizionale di NF-kB è costitutivamente elevata nei tumori tiroidei umani, in particolare nei carcinomi anaplastici. L'inibizione dell`attività basale di NF-kB in linee cellulari derivate da carcinoma anaplastico della tiroide determina un aumento della sensibilità all`apoptosi indotta da chemioterapici ed il blocco dell`attività oncogenica di queste cellule.



Azioni

Attività da svolgere

Si vuole: a) ampliare il numero delle molecole in grado di bloccare la progressione dei tumori tiroidei mediante l'inibizione del recettore RET; questo verra` ottenuto mediante screening di un gruppo di circa 20 molecole in vitro e validazione della loro eventuale attivita` inibente in vivob) valutare come gli anticorpi anti-RET siano in grado di bloccare la trasformazione mediata da RET; questo verra` ottenuto mediante lo studio del meccanismo di downregolazione di RET prima e della loro capacita` di inibire la crescita delle cellule tumorali trasformate da RET in vivo ed in vitro; gli anticorpi verranno testati anche in modelli animali in vivo.c) analizzare i meccanismi di resistenza farmacologica ai piccoli inibitori di chinasi e agli anticorpi anti-recettored) analizzare la funzione di NF-kB nel processo di trasformazione neoplastica delle cellule tiroidee, in particolare nei meccanismi di regolazione dell'apoptosi indotta da chemioterapicie) individuare geni NF-kB-dipendenti capaci di vicariare l'attività di NF-kB nelle cellule tumorali tiroidee

Punti critici e azioni da svolgere

Acquisire le basi conoscitive essenziali per l'identificazione di nuovi bersagli molecolari e per la progettazione di farmaci mirati per l'utilizzo nella terapia dei tumori tiroidei. L'individuazione di piu' bersagli molecolari permettera' di aggredire piu' target contemporaneamente o realizzare uno switch terapeutico cosi' da evitare l'insorgenza di fenomeni di resistenza.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

E` necessario possedere competenze biochimice, di biologia molecolare e cellulare per studiare l'attivita` enzimatica di recettori tirosino chinasici in vivo ed in vitro e per lo studio della apoptosi. E` necessario essere in grado di generare anticorpi monoclonali e policionali. E` necessario inoltre avere competenze nell'utilizzo di strumentazioni quali citofluorimetro, microscopio confocale e cromatografia

Collaborazioni (partner e committenti)

Finalità

Obiettivi

Obiettivo di questa comessa e` migliorare il trattamento dei tumori della tiroide mediante: a)individuazione di inibitori di piccolo peso molecolare in grado di bloccare la chinasi RET attivata nei tumori tiroidei attraverso lo screening di almeno 20 composti. b) Analisi strutturale e funzionale degli anticorpi monoclonali anti-RET per poterne saggiare le capacita` terapeutiche; c)Individuare i meccanismi molecolari che portano alla resistenza farmacologica ai piccoli inibitori di chinasi e agli anticorpi anti-RETe)comprensione dei meccanismi che, controllati da NF-kappaB, proteggono dall` apoptosi nella terapia antineoplastica al fine di individuare un bersaglio molecolare per la terapie innovative dei tumori tiroidei.

Risultati attesi nell'anno

Nel prossimo anno ci aspettiamo di identificare delle molecole in grado di inibire l'attivita' chinasica con una IC50 non superiore a 500nM e di testare queste molecole per la loro capacita' di bloccare l'attivita' trasformante degli oncogeni derivanti da RET in sistemi cellulari in vitro e ove possible in modelli animali in vivo. Intendiamo inoltre delucidare il meccanismo attraverso il quale gli anticorpi anti-RET sono in grado di indurre internalizzazione e/o degradazione del recettore e testare la loro capacita' di bloccare la trasformazione cellulare indotta da forme oncogene di RET. Intendiamo inotre testare vari mutanti puntiformi di RET per verificare se alcune mutazioni possano mediare resistenza farmacologica alle molecole su descritte. Ci aspettiamo di caratterizzare a livello molecolare e funzionale alcuni dei geni NF-kB-dipendenti eventualmente espressi differenzialmente nel nostro sistema cellulare e di analizzarne in dettaglio il ruolo nel processo di trasformazione neoplastica delle cellule tiroidee.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Sviluppo di kit diagnostici per testare l'attività chinasica di RET e di altri recettori da utilizzare per screenare in vitro molecole inibitrici di chinasi o per validare in vivo l'attività di un farmaco antichinasi. Produzione di farmaci anti-RET per terapie innovative per tumori tiroidei. Produzione di anticorpi monoclonali anti-RET per terapie innovative e per l'imaging dei tumori tiroidei Utilizzo di NF-kappaB e dei geni NF-kappaB-dipendenti come nuovi markers per la diagnosi dei tumori tiroidei e sviluppo di nuove molecole farmacologiche che possano interferire con l'attività di geni NF-kappaB-dipendenti in grado di regolare l'apoptosi nelle cellule neoplastiche tiroidee.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi



Moduli

Modulo: Individuazione di bersagli molecolari per lo sviluppo di terapie per i

tumori

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore¹

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo: Meccanismi di controllo dell'apoptosi e sviluppo di terapie

antineoplastiche innovative

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore¹

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

	Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	l da Konti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
	1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
ĺ	317	122	255	0	694	44	421	34	N.D.	772

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
4	9

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato							
0	0	0	0				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Meccanismi di trasmissione e trasduzione di segnali biologici



Funzioni del S.N./Neurotrofine

Dati generali

Progetto: Meccanismi di trasmissione e trasduzione di segnali biologici

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto di neurobiologia e medicina molecolare

Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
LUIGI ALOE

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Allegria Leda	IV	Del Soldato Rosina	VII	Pelliccia Mario	IV
Aloe Luigi	I	Di Luzio Anna	IV	Perretta Gemma	Ш
Aloise Ugo	IV	Dominici Roberto	V	Procida Paola	VII
Battaglia Massimo	П	Febbraro Cardello Vincenzo	VIII	Quaresima Stefania	V
Bernardini Aurelio	VII	Fiorani Anna Rita	VIII	Re Patrizia	VII
Bracci Laudiero Luisa	Ш	Galli Cinzia	III	Ridolfi Alessandro	IV
Capozzoni Antonella	Ш	Grassi Marisa	VI	Riviello Maria Cristina	Ш
Casalbore Patrizia	Ш	Guidi Giovanna	VII	Ruberti Francesca	Ш
Ciotti Maria Teresa	\mathbf{V}	Liuzzi Antonia	II	Severini Cinzia	Ш
Colasuonno Marisa	VII	Maresci Americo	IV	Subania Bruno	VII
Corvo Luciano	VI	Mercanti Delio	I	Tirassa Paola	Ш
Davoli Camilla	П	Mirabelli Angela Maria	V	Vaccaro Domenico	VII
De Cresci Patrizia	VII	Nunzi Biagio	IX	Vaccaro Romeo Aldo	VII
Dejana Remo	V	Papa Pamela	VII	Volonte' Cinzia	Ш

Temi

Tematiche di ricerca

La tematica principale della ricerca è mirata alla identificazione e messa a punto (a) di modelli animali in vivo e in vitro per studiare meccanismi patologici del sistema nervoso centrale e periferico, del sistema immunitario e del tessuto cutaneo; (b) identificazione e utilizzo di metodologie innovative per approfondire le conoscenze sui meccanismi cellulari, biochimici e molecolari coinvolti in patologie di natura nervosa e neuroimmune, correlabili a disfunzioni di sintesi e/o utilizzo di fattori neurotrofici, in particolare NGF e altri mediatori biologici endogeni; (c) produzione e purificazione della molecola NGF, del suo anticorpo e del recettore a bassa affinita; (a) indagine sul potenziale risvolto terapeutico della molecola NGFsu patologie del sistema nervoso e del tessuto cutaneo; (d) identificare meccanismi molecolari che regolano gli effetti neurotossici del peptide Amiloide in modelli cellulari della malattia di Alzheimer e sviluppare terapie ad essa mirate.

Stato dell'arte

Il fattore neurotrofico nerve growth factor (NGF) prototipo della famiglia molecolare delle neurotrofine, e i suoi recettori, TrkA, e p75, costituiscono un sistema biologico ad azione pleiotropica. La molecola NGF agisce particolarmente su cellule del sistema nervoso centrale e periferico regolandone il differenziamento, la crescita, la sopravvivenza e il recuperone del danno neuronale a seguito di insulti tossici, chirurgici e patolologici. L'azione della molecola si estende anche al di fuori del sistema nervoso e cio' la rende una molecola chiave nelle complesse interazioni tra sistema nervoso, endocrino e immunitario. Alterazione della sintesi e/utilizzo di alcune neurotrofine, incluso l'NGF, caratterizzano alcune patologie a carico del sistema nervoso centrale (invecchamento, sclerosi multipla), quello periferico (neuropatie periferiche) e di quello cutaneo (ulcere della cornea e della cute). Il responsabile della commessa ha una consolidata conoscenza scientifica del ruolo e dei meccanismi della molecola NGF, possiede una estesa rete di rapporti nazionali e internazionali ed ha evidenziato una piattaforma terapeutica attorno alla neurotrofina NGF.

Azioni

Attività da svolgere

Sulla base delle conoscenze acquisite della molecola NGF in condizioni normali e in patologie a carico del sistema nervoso, visivo, neuroimmune e del tessuto cutaneo, l'attività della commessa sarà mirata ad estendere i risultati dell'attività precedente (vedi pubblicazioni recenti). In particolare l'attività della commessa sara mirata all'indagine sullo spettro di azione della molecola NGF su modelli animali di patologie del sistema nervoso centrale (invecchiamento, Alzheimer, Sclerosi multipla, Schizofrenia), sistema nervoso periferico (neuropatie periferiche, retinite pigmentosa) ulcere cutanee (ulcere neurotrofiche, ulcere



da decubito). Inoltre l'attivita' della commessa prevede anche la produzione di NGF murino (e ricombinante umano in collaborazione con l'Universita' di Milano Bicocca), anticorpi contro l'NGF e contro il recettore p75 seguendo metodi consolidati nel nostro istituto.

Punti critici e azioni da svolgere

Sostituzione delle medie e grandi apparecchiature ormai obsolete e l'impossibilità di utilizzare i fondi esterni per l'acquisto di strumentazioni tecnologicamente avanzate. Carenza di fondi destinati alla ricerca e carenza di finanziamenti per l'inserimento di collaboratori qualificati e giovani ricercatori. Assenza di personale tecnico qualificato.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

I ricercatori della commessa hanno competenze a livello cellulare, biochimico e molecolare acquisite in Italia e all'estero e sono inoltre in grado utilizzare tecniche di indagine sviluppate piu' recentemente. Il responsabile della commessa ha acquisito una notevole competenza ed esperienza scientifica nel campo delle neurotrofine, avendo svolto attività scientifica in Italia e all'estero per oltre 35 anni in stretta collaborazione con la Prof. R.Levi-Montalcini. Una competenza specifica della commessa riguarda la messa a punto di tecniche di indagine per un potenziale utililizzo della molecola NGF nell'ambito veterinario/clinico. Il responsabile della commessa ha organizzato recentemente in Italia il congresso Internazionale e pubblicato un libro sul ruolo del "NGF and related Molecules" nella ricerca di base e nella clinica.

Collaborazioni (partner e committenti)

Università 'La Sapienza', Roma, Università di Bologna, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Casa di Cura S. Raffele, Roma, Campus Biomedico, Roma Karolinska Institutet, Stockholm, Svezia. Varna Medical School, University of Varna, Bulgary, Universita' Magna Graecia, Catanzaro, Policlinico Annunziata, Cosenza, Universita' di Milano Bicocca.

Finalità

Objettivi

L'obiettivo della commessa e' lo studio dei meccanismi che regolano l'azione a livello cellulare e sistemico dell' NGF e/o altre neurotrofine mirato a una maggiore comprensione delle interazioni cellulari nel sistema nervoso e tra questo e gli altri sistemi per un possibile utilizzo clinico. Un altro obiettivo della commessa e' identificare meccanismi molecolari che regolano gli effetti neurotossici del peptide Amiloide in modelli cellulari della malattia di Alzheimer e sviluppare terapie ad essa mirate. I ricercatori della commessa hanno una consolidata competenza in queste tematiche e rappresentano un punto di riferimento importante nella ricerca neurobiologica Nazionale e Internazionale.

Risultati attesi nell'anno

Una maggiore conoscenza dei meccanismi di neuroprotezione e di neuro-immunoregolazione dei fattori neurotrofici e piu specificatamente della molecola NGF. Identificazione e caratterizzazione dei meccanismi differenziativi di cellule staminali nei vari distretti dell'organismo e in particolare di quelle localizzate nel sistema nervoso centrale e immunitario. Maggiore conoscenza sulla senescenza genomica e cellulare. Una piu' ampia conoscenza delle possibili correlazioni anatomiche e funzionali tra la deposizione di amiloide e la memoria a lungo termine.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

I partecipanti alla commessa hanno consolidate competenze nel campo delle neurotrofine, neuropeptidi e nella purificazione della proteina NGF e del suo anticorpo. L'uso di NGF, anticorpi policionali e monocionali puo essere potenzialmente utile per le ricerche descritte nella commessa. La commessa ha la possibilità e le competenze di produrre in larga scala la molecola NGF e il suo anticorpo da inserire in processi produttivi per un eventuale utilizzo commerciale nei centri di ricerca e/o come prodotto per la ricerca di base nei laboratori e come prodotto per studi pre clinici o per animali domestici.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

La recente pubblicazione, in collaborazione con ricercatori clinici, di uno studio pilota che dimostra l'azione terapeutica della molecola NGF nelle ulcere neurotrofiche della cornea, nelle ulcere da decubito, e la collaborazione con l'Università di Milano "Bicocca" per la produzione di NGF ricombinante umano, mirato a risvolti di natura terapeutica, puo' rivelarsi utili per bisogni individuali e collettivi .

Moduli

Modulo: Funzioni del S.N./Neurotrofine

Istituto esecutore: Istituto di neurobiologia e medicina molecolare

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
643	300	113	0	1056	103	516	91	N.D.	1250

Unità di personale di ruolo*					
ricercatori	Totale				
7	14				

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo										
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
0	0	2	2	0	0	0	0	1	5	

Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale						
0	0	0	0			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Segnali molecolari che controllano e regolano patways intracellulari

Dati generali

Progetto: Meccanismi di trasmissione e trasduzione di segnali biologici

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano Salvatore'

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita

Responsabile indicato: VITTORIO DE FRANCISCIS

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Cassano Silvana	Ш	Galli Paolo	VI	Salzano Salvatore	V
Chiariello Mario	Ш	Gallo Adriana	III	Speranza Giulia	VII
De Franciscis Vittorio	II	Montuori Nunzia	III	· ·	
Galiano Nicola	V	Ragno Pia	III		
		Romano Gennaro	V		

Temi

Tematiche di ricerca

a) Un grosso numero di fattori di crescita, citochine e mitogeni è in grado di indurre l'attività di proteine appartenenti alla famiglia delle MAPK. Tali proteine sono poi necessarie per l'espressione di diversi proto-oncogeni e per la proliferazione cellulare indotta da numerosissimi stimoli. Infatti, l'overespressione o l'attivazione di proto-oncogeni a monte (Ras, B-Raf) sono frequenti cause di numerosi tumori umani e sono dipendenti dall'attivazione di diverse MAPK. In tale ambito, la presente commessa studia la regolazione della funzione della MAPK Erk3.b) Il 67LR,un recettore non integrinico per la matrice extracellulare,l'uPA ed il suo recettore (uPAR) sono molto espressi nei tumori umani. Essi mediano eventi cruciali della cascata metastatica:il legame alle membrane basali, la degradazione della matrice extracellulare e la migrazione delle cellule tumorali. La presente commessa pertanto si propone la caratterizzazione delle interazioni strutturali e/o funzionali di uPAR e 67LR con i propri ligandi, uPA e laminina, e con altri recettori di membrana quali integrine, recettori di chemochine e di fattori di crescita e la valutazione del segnale intracellulare da esse generato

Stato dell'arte

a)Utilizzando il cDNA di ratto di Erk7 per effettuare uno screening di una libreria di cDNA di molteplici tessuti umani, è stato identificato un nuovo membro della famiglia delle MAPK, Erk3. Tale chinasi, il cui gene è localizzato sul cromosoma 8, pur essendo presente a bassi livelli in numerosi tessuti, raggiunge la sua massima espressione nel rene e nel polmone. Erk8 ha una attività basale minima fortemente inducibile in seguito a stimoli specifici quali il siero e c-Src.b)Abbiamo dimostrato che il taglio proteolitico dell'uPAR ne regola l'interazione con le integrine e con il recettore ad alta affinità per l'fMLP. La mobilizzazione in circolo delle CSE con G-CSF provoca l'incremento sierico di una forma tronca di uPAR (csuPAR),dotata di attività chemotattica e in grado di inattivare il recettore di chemochine CXCR4.Abbiamo dimostrato inoltre che il 67LR è molto espresso nelle leucemie mieloidi acute, mentre è assente nelle CSE midollari normali.La sua espressione è notevolmente incrementata anche nelle CSE mobilizzate con G-CSF,di cui media l'adesione agli endoteli.In modelli murini,l'aumentata espressione di 67LR indotta dal G-CSF è implicata nella mobilizzazione delle CSE.

Azioni

Attività da svolgere

a)Avendo a disposizione cDNA di proteine costitutivamente attive, verificheremo quali sono in grado di attivare Erk8. Effettueremo inoltre uno "screening" di tipo "doppio-ibrido" per capire gli interattori molecolari in grado di modulare e trasdurre i segnali di Erk8; inseriremo così Erk8 in specifiche vie di trasduzione del segnale e attribuiremo la sua funzione alla regolazione di specifici segnali biologici. Produrremo anche un anticorpo che riconosca la forma endogena della proteina. Dimostreremo la partecipazione di Erk8 a determinate funzioni biologiche cellulari con la tecnologia dell'iRNA.b)Dato il coinvolgimento del 67LR e dell'uPAR nella mobilizzazione delle CSE indotta da G-CSF, analizzeremo il ruolo di ambedue i recettori nell'homing" e nell'attecchimento al midollo osseo delle CSE, sia in vivo, in modelli animali opportuni, sia in vitro, in colture di CSE su stroma midollare, trattate con ligandi e anticorpi specifici per i due recettori. Analizzeremo inoltre le vie di trasduzione del segnale attivate nei suddetti processi e



mediate dal 67LR e dall`uPAR. I risultati ottenuti saranno poi comparati a studi analoghi effettuati in cellule tumorali.

Punti critici e azioni da svolgere

Punto critico è rappresentato dalla impossibilità di avere "nuovi" collaboratori per il blocco delle assunzioni di giovani ricercatori. a) - identificare proteine attivatrici di Erk8 utilizzando una batteria di oncogeni - individuare le vie di trasduzione del segnale che partecipano all'attivazione di Erk8 mediante farmaci inibitori di specifiche chinasi- valutare l'effetto dell'eliminazione di domini proteici sull'attività e sulla localizzazione di Erk8 mediante clonaggio di mutanti di delezione- identificare molecole che interagiscono con Erk8 mediante screening di tipo "doppio-ibrido- produrre un anticorpo specifico anti-Erk8 endogena - selezionare iRNA specifici in grado di inibire l'espressione di Erk8.b) - analizzare il coinvolgimento del 67LR e delle varie forme di uPAR nell'attecchimento al midollo osseo di CSE umane mobilizzate e nella diffusione metastatica, mediante l'impiego di modelli murini - definire le vie di trasduzione del segnale attivate da uPAR e 67LR nei suddetti processi e analizzare i meccanismi molecolari che ne sono alla base, con particolare riguardo alla regolazione dell'attività integrinica e dei recettori di chemochine.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Per lo studio di Erk8 sono necessarie competenze biochimiche e di biologia molecolare quali: Western blot, Immunoprecipitazione della cromatina (ChIP), Northern Blot, DNA ricombinante, immunofluorescenza, saggi di kinasi. Saranno inoltre generati anticorpi policionaliLe competenze necessarie allo studio delle funzioni di uPAR e 67LR includono saggi di adesione e migrazione cellulare in vitro su cellule transfettate con forme native e mutate dei recettori. Saranno generati anticorpi policionali ed adoperate metodiche immunochimiche (immunoprecipitazione, Western Blot, ELISA) e di biologia molecolare (clonaggio di geni bersaglio, PCR, RT-PCR). Le ipotesi formulate saranno verificate in modelli murini.

Collaborazioni (partner e committenti)

Dr. Silvio J.Gutkind, NIDCR, National Institutes of Health (NIH), MD, USA.Dr. Maria Julia Marinissen, Universidad Autónoma de Madrid, Spain.Dr. C. Selleri, Prof. B. Rotoli, Divisione di Ematologia; Prof. P. Formisano, Prof. F. Beguinot, Prof. Massimo Santoro, Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare "L. Califano"; Dr. A. de Paulis, Prof. G. Marone, Divisione di Immunologia Clinica, Università "Federico II", Napoli. Dr. N. Sidenius, Prof. F. Blasi, Dipartimento di Biologia Cellulare e Genomica Funzionale, Università "Vita-Salute San Raffaele" e IFOM, Milano. E` inoltre in corso un progetto finanziato dall` European Union Framework Program 6 (LSHC-CT-2003-503297).

Finalità

Obiettivi

a)Il nostro obiettivo e` quello di identificare proteine in grado di attivare Erk8. Vogliamo inoltre caratterizzare le vie di base della trasduzione di tali segnali ad Erk8. Infine, vogliamo definire il ruolo di Erk8 nella crescita cellulare indotta da c-Src e da diversi fattori di crescita.b)Altra azione sarà quella di valutare il ruolo degli interattori strutturali per le molecole che rappresentano segnali extracellulari:veranno sviluppate due linee progettuali : 1. sviluppo di piattaforme tecnologiche ad alto livello di risoluzione specificamente dedicate alle molecole indicate;.2. analisi funzionale e molecolare dei singoli interattori in modelli specificic)Vorremmo inoltre determinare la funzione del 67LR e dell'uPAR nell'attecchimento delle CSE al midollo osseo. Ci proponiamo di caratterizzare il segnale generato dall'interazione del 67LR e dell'uPAR con in rispettivi ligandi, con i recettori integrinici e con i recettori per la chemotassi. Lo scopo finale è valutare l'importanza, nella diffusione tumorale e nel "traffiking" delle CSE, del 67LR e dell'uPAR e verificare la possibilità di interferire con i segnali da essi attivati.

Risultati attesi nell'anno

a) identificazione di oncogeni in grado di aumentare l'attività basale della MAPK Erk8 - identificazione dei meccanismi mediante i quali tali oncogeni agiscono su Erk8 - identificazione dei domini di Erk8 che controllano la sua attivazione da parte di stimoli a monte - identificazione di trasduttori a valle dei segnali di Erk8 - preparazione di vettori di espressione per l'analisi dell'interazione proteina-proteina.b- dimostrazione del coinvolgimento del 67LR e dell'uPAR nell'attecchimento al midollo osseo di CSE umane mobilizzate e definizione delle vie di trasduzione del segnale da essi attivate. Dimostrazione di meccanismi analoghi nella diffusione metastatica.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

a)Identificazione di bersagli molecolari per lo sviluppo di nuove strategie farmacologiche in grado di colpire tumori la cui patogenesi dipende completamente o in parte da segnali modulati da Erk8.b)Sviluppo e studio dell`efficacia in vitro e in vivo di anticorpi in grado di rilevare le molecole in esame nella malattia tumorale



(utilizzo di forme solubili di uPAR e 67LR come marcatori di malattia) sia di molecole capaci di interferire con il suo andamento (antagonisti chimici e/o peptidici).

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Impiego potenziale nella diagnosi e nella terapia della malattia tumorale e potenziale impatto nelle problematiche di salute pubblica connesse a tale patologia.

Moduli

Modulo:Meccanismi di controllo della trasmissione dei segnali intracellulariIstituto esecutore:Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore["]

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo:Fattori che promuovono o controllano i meccanismi delle metastasiIstituto esecutore:Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore¹

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
392	115	65	0	572	75	255	39	N.D.	686

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
6	9

^{*}equivalente tempo pieno

	Unità di per	sonale non d	li ruolo							
	associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
Ī	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Richiesta nuove unità di personale				
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale	
0	0	0	0	

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Meccanismi di adattamento a condizioni estreme ed allo stress



Stress Cellulare ed Ambiente

Dati generali

Progetto: Meccanismi di adattamento a condizioni estreme ed allo stress

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"

Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
VALERIA MATRANGA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Bonsignore Giovanni	DIRE	Parisi Pietrina	V	Spera Donatella	VII
Cavoli Francesca	VIII	Riccobono Daniela	VII	Tarantino Provvidenza	VII
Costa Caterina	III	Sanzone Sabrina	VII	Turatto Rosa	VII
Matranga Valeria	II	Sciarrino Serafina	III	Zito Francesca	III

Temi

Tematiche di ricerca

Lo studio è mirato a proporre il sistema modello del riccio di mare per l'individuazione dei meccanismi di risposta a perturbazioni ambientali chimiche, fisiche e bio-molecolari. In particolare saranno valutati: 1) gli effetti tossici di metalli pesanti (cadmio cloruro) in cellule ed embrioni di invertebrati marini (Paracentrotus lividus, Asteria Rubens); 2) gli effetti tossici di radiazioni in UV-B cellule ed embrioni di riccio di mare.

Stato dell'arte

La presenza in ambienti marini di molecole ad azione tossica è monitorata a livello nazionale ed europeo da commissioni tossicologiche che tuttavia incoraggiano la messa a punto di metodologie idonee ad identificare specifici 'bio-markers'. Ciò allo scopo di consentire l'individuazione delle prime reazioni a livello cellulare e molecolare, in modo che queste acquisiscano un valore predittivo in termini sia di protezione degli ecosistemi marini che di eventuale impatto sulla salute umana.

Azioni

Attività da svolgere

Le attività da svolgere possone essere così riassunte: a) definizione dei meccanismi di base della risposta cellulare allo stress in invertebrati marini, b)analisi della correlazione tra stress causato da fattori ambientali esterni ed immunità, c) stress cellulare come fattore di sopravvivenza nello sviluppo e nella riproduzione, d) rapporto tra stress cellulare, molecole di adesione e trasduzione del segnale.

Punti critici e azioni da svolgere

Non si prevedono particolari ostacoli al raggiungimento dei risultati previsti. La attività proposta non presenta problematiche di natura scientifica.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof. Y.Yokota-Department of Applied Information Technology and Biological Laboratory-Aichi Prefectural University-Nagakute-Japan/Dr. M. Kiyomoto-Tateyama Marine Laboratory-Ochanomizu University-Tateyama- Japan/Prof. W. E.G. Müller-Abteilung Angewandte Molekularbiologie Institut für Physiologische Chemie-Johannes Gutenberg-Universität-Mainz- Germany/ Prof. C. Falugi-Dipartimento di Biologia Sperimentale Ambientale ed Applicata-Genova-Italia

Finalità

Obiettivi

1) Definizione dei meccanismi di base della risposta cellulare allo stress in invertebrati marini. 2) Analisi della correlazione tra stress causato da fattori ambientali esterni ed immunità. 3) Stress cellulare come fattore di sopravvivenza nello sviluppo e nella riproduzione. 4) Rapporto tra stress cellulare, molecole di adesione e traduzione del segnale. Le competenze da utilizzare riguardano tecniche acquisite di biologia cellulare e molecolare.



Risultati attesi nell'anno

1) Determinazione dell'espressione di marcatori molecolari (hsp70, p38MAPk, Pl-MT, AchE) in risposta a stress indotti sperimentalmente in cellule ed embrioni-1 anno; 2) analisi della fosforilazione di chinasi (ERK1-2, p38MAPk), dell'espressione di fattori trascrizionali (msx, otp) e di proteine territorio-specifiche (SM30, SM50) in risposta a segnali extracellulari in embrioni normali o esposti a: metalli pesanti, radiazioni (UV-B) ed McAbs che inibiscono la scheletogenesi-1 anno.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Stress Cellulare ed Ambiente

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare 'Alberto Monroy'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
214	66	8	66	354	14	88	41	N.D.	409

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
4	5

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
1	1	1	1	1	1	2	0	4	12	

Richiesta nuove unità di personale				
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale	
2	2	2	6	

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Studio dei processi cellulari in estremofili

Dati generali

Progetto: Meccanismi di adattamento a condizioni estreme ed allo stress

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine

Sede principale svolgimento: Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza: Scienze della Vita

Responsabile indicato: FRANCESCA MARIA PISANI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Cannio Raffaele	Ш	De Felice Mariarita	Ш	Pisani Francesca Maria	II
Ciaramella Maria	II	Jesu Amedeo	IV		
Cobucci Ponzano Beatrice	Ш	Labella Tullio	П		
		Pipola Beatrice	VI		

Temi

Tematiche di ricerca

Il programma di ricerca prevede: analisi delle relazioni struttura-funzione e delle interazioni fisiche e/o fisiche di fattori di replicazione/riparazione/ricombinazione del DNA; studio della regolazione e funzione di geni implicati nella risposta ad agenti mutageni; messa a punto di sistemi genetici vettore/ospite per lo studio dell'espressione genica e la produzione di proteine omologhe ed eterologhe in via ricombinante; studio della regolazione traduzionale in S. solfataricus.

Stato dell'arte

La ricerca proposta e' in parte finanziata dal Progetto U. E. 'DNA replication and biotechnological applications' (VI Programma Quadro; Settore 'Quality of life'), nel cui ambito e' stata creata una rete di laboratori europei all'avanguardia nello studio della replicazione del DNA sia in organismi archeobatterici che eucariotici. Inoltre, tutti i ricercatori coinvolti hanno stabilito una ampia rete di collaborazioni con Universita' ed Istituti di Ricerca nazionali ed internazionali.

Azioni

Attività da svolgere

La ricerca proposta è mirata alla analisi dei processi cellulari informazionali di organismi estremofili. Il sistema prevalentemente studiato è l'archaeon iper-termofilo Sulfolobus solfataricus. Le attività previste comprendono:1. Analisi delle relazioni struttura-funzione e delle interazioni fisiche e/o funzionali di fattori di replicazione/riparazione/ricombinazione del DNA di S. solfataricus. In particolare, si intende studiare la DNA elicasi di tipo MCM e paragonarne le proprietà biochimiche con quelle dei fattori omologhi di Homo sapiens.2. Studio dei meccanismi che assicurano la stabilità genomica in S. solfataricus mediante analisi della regolazione di geni implicati nella risposta ad agenti mutageni e caratterizzazione biochimica dei fattori proteici coinvolti (DNA polimerasi, DNA topoisomerasi, DNA glicosilasi, DNA elicasi e proteine cromatiniche).3. Studio della regolazione traduzionale in S. solfataricus. 4. Messa a punto di sistemi per la manipolazione genetica di S. solfataricus.

Punti critici e azioni da svolgere

Gli Archaea iper-termofili costituiscono un utile modello per lo studio in vitro di processi cellulari complessi anche in considerazione della elevata stabilità delle loro proteine. L'archaeon iper-termofilo S. solfataricus è stato scelto per i seguenti motivi:1. Il genoma di tale organismo è stato completamente sequenziato. 2.

Protocolli per la coltura di tale specie sono stati messi a punto nei nostri laboratori.3. Numerosi componenti dei sistemi di replicazione/riparazione/ricombinazione del DNA, proteine cromatiniche, regolatori trascrizionali, elementi genetici di tale specie sono stati da noi caratterizzati.La ricerca proposta richiede competenze avanzate in Biochimica, Biologia Strutturale, Biologia Molecolare, Microbiologia. Queste sono disponibili tra i ricercatori dell'Istituto coinvolti e/o i loro collaboratori esterni. La ricerca finora svolta si è avvalsa prevalentemente di finanziamenti esterni e della collaborazione di Borsisti e Dottorandi. Il raggiungimento dei risultati attesi dipenderà dal sostegno derivante da nuove fonti finanziarie. Si richiedono 2 Ricercatori di III livello (1 con contratto a tempo determinato ed 1 con contratto a tempo indeterminato).



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

S. Onesti (Londra, Regno Unito); R. Ladenstein (Stoccolma, Svezia); T. Nohmi (Tokyo, Giappone); E. Mathur (San Diego, USA); P. Forterre (Parigi, Francia); M. F. White (St Andrews, Regno Unito); M. Nadal (Versailles, Francia); Q. She and R. A. Garrett (Copenaghen, Danimarca); G. Lipps (Bayreuth, Germania); C. Schleper (Darmstadt, Germania); D. Prangshvili (Parigi, Francia); D.Tsernoglou (Roma, Italia); P. Londei (Roma, Italia); P. Contursi, G. Fiorentino and S. Bartolucci (Napoli, Italia).

Finalità

Obiettivi

La ricerca proposta richiede competenze avanzate in Biochimica, Biologia Strutturale, Biologia Molecolare, Microbiologia. Queste sono disponibili tra i ricercatori dell'Istituto coinvolti e/o i loro collaboratori esterni.Obiettivi proposti: studio dei meccanismi di replicazione/riparazione/ricombinazione del DNA; analisi della risposta ad agenti mutageni; messa a punto di sistemi genetici vettore/ospite e controllo della espressione genica in S. solfataricus.

Risultati attesi nell'anno

1. Identificazione di residui aminoacidici del complesso MCM di S. solfataricus critici per il legame al DNA e/o la attività elicasica. 2. Produzione e caratterizzazione del complesso di inizio della replicazione GINS di H. sapiens.3. Studio della interazione tra le DNA polimerasi B1 e Y1 di S. solfataricus e individuazione delle sequenze aminoacidiche responsabili della interazione. 4. Definizione degli effetti di agenti alchilanti sulla stabilità del genoma, sulle DNA topoisomerasi e su componenti della cromatina in S. Studio dell'espressione in S. solfataricus delle ORF SSO11867 e SSO3060 codificanti per una alpha-fucosidasi; analisi mediante mutagenesi sito-diretta delle sequenze che regolano il frameshifting -1 Caratterizzazione degli elementi genetici pIT3, SSV2 e pSSVx di per la espressione in vivo di tali ORFs.6. Sulfolobus. Costruzione di vettori shuttle Sulfolobus/Escherichia coli basati sul fasmide pSSVx, mediante complementazione di funzioni difettive in ceppi mutanti di Sulfolobus.7. Pubblicazioni su riviste scientifiche Formazione di Laureandi, Dottorandi e Borsisti. "peer-reviewed".8.

Potenziale impiego - per processi produttivi

Moduli

Modulo: Studio dei processi cellulari in estremofili Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
237	112	114	0	463	115	341	68	N.D.	646

Unità di personale di ruolo*					
ricercatori	Totale				
4	5				

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo											
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale		
0	2	0	1	0	0	0	0	0	3		

⁻ per risposte a bisogni individuali e collettivi



Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
1	1	4	6					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Basi molecolari dell'adattamento di cellule e proteine alle condizioni estreme: aspetti applicativi

Dati generali

Progetto: Meccanismi di adattamento a condizioni estreme ed allo stress

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:MARIA CIARAMELLA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Aurilia Vincenzo	III	D'Avino Rossana	П	Margarucci Sabrina	III
Carginale Vincenzo	III	Febbraio Ferdinando	Ш	Nucci Roberto	I
Carrara Adriana	V	Maiello Aniello	VII	Peluso Gianfranco	II
Ciaramella Maria	II	Manco Giuseppe	П	Raia Carlo Antonio	II

Temi

Tematiche di ricerca

Produzione, studio e strutture 3D di esterasi e fosfotriesterasi termofile Studio della cooperatività, deamidazione e termoinattivazione in ADH termofile Studio di polisaccaridasi da batteri anaerobi del tratto gastrointestinale Elucidazione dei meccanismi cellulari di risposta al danno al DNA Caratterizzazione della risposta 'ferita-attivata' in diatomee e produzione di molecole di interesse economico-scientifico- ambientale Identificazione di geni indotti da metalli pesanti in piante

Stato dell'arte

Le ricerche sugli estremofili sono attivamente finanziate negli Stati Uniti (da NSF, NASA, Environmental Protection Agency, National Cancer Institute, Department of Energy) e in Giappone (Marine Science and Technology Center). In Europa esse sono state finanziate nel Terzo, Quarto e Quinto Programma Quadro, oltre che livello nazionale, soprattutto in Francia, Regno Unito e Germania, interi Istituti e Dipartimenti dedicati. Notevole e', in questi paesi, il coinvolgimento industriale.

Azioni

Attività da svolgere

Produzione, studio e strutture 3D di esterasi e fosfotriesterasi termofile. Approccio proteomico allo studio comparativo dell'interazione proteina-proteina in estremofili e mesofiliProduzione e studio di mutanti dell'alcool deidrogenasi di S. solfataricus designati a esplicare specificità ed enantioselettività migliorate. Identificazione e caratterizzazione di nuove alcool deidrogenasi attive su chetoni aromatici e alogeno derivatiOttimizzazione dell'espressione e purificazione della transglutaminasi dal batterio anaerobio R.flavefaciens e sua caratterizzazione enzimaticaAnalisi dell'espressione del gene Sso1353 codificante una glicosil idrolisi di S.solfataricus e ulteriore caratterizzazione della proteinaAnalisi differenziale dell'espressione genica in piante esposte ad agenti patogeniAnalisi, in diatomee marine, del metabolismo delle ossilipine, enzimi alla base della risposta al danno indotto dai predatoriAnalisi delle cinetiche di riparo elica-specifica (TCR) in singoli geni in Archaea ipertermofiliIdentificazione e regolazione da stress di chaperoni di Archaea ipertermofiliCostruzione del modello molecolare del dominio elicasico della Reverse gyrase da S.solfataricus

Punti critici e azioni da svolgere

Bisogna segnalare ancora una volta le difficoltà dovute alla mancanza di piani di finanziamento a lungo termine, alla assenza di sbocchi occupazionali e al ritardo nei pagamenti di progetti già approvati dal MIUR.Le attività riguardanti lo studio della risposta al danno cellulare da predatori in diatomee sono subordinate all'ottenimento di finanziamenti. Tale studio, in cui siamo pionieri, è inoltre complicato dalle difficoltà di reperimento della biomassa necessaria.Inoltre la proteomica, lo studio delle interazioni proteina/proteina e l'analisi dei profili di espressione genica sono approcci innovativi che richiedono attrezzature sofisticate che l'IBP ha recentemente acquisito grazie al centro di competenza BioTeKnet di cui fa parte. Sarà però necessario fornire a giovani ricercatori la possibilità di acquisire conoscenze e capacità operative in questi ambiti strategici. E auspicabile pertanto lo sblocco dei concorsi da tempo programmati per l'assunzione di ricercatori e tecnologi a tempo indeterminato e l'attuazione di nuovi concorsi per l'assunzione



di personale a tempo determinato. Si richiedono N 1 ricercatore a tempo determinato e N. 1 ricercatore a tempo indeterminato.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

G. Barone e P. Del Vecchio Università Federico II Napoli C. Pedone e G. De Simone IBB-CNR Napoli G. Graziano Università di Benevento D. Ollis Università di Canberra CanadaG. Maglione ISPAM-CNR Napoli H. J. Flint Aberdeen UK P. Forterre Institut Pasteur France M. F. White St Andrews UK M Nadal Versailles France A. Cutignano ICB-CNR Napoli A. Fontana ICB-CNR Napoli G. Romano Stazione Zoologica A. Dohrn Napoli A. Zagari Università Federico II Napoli A.Basile Università Federico II Napoli

Finalità

Obiettivi

Identificazione dei determinanti di termostabilità, folding, termofilia e attività in esterasi, fosfotriesterasi, alcool deidrogenasi e polisaccaridasi da estremofili Elucidazione dei meccanismi cellulari di risposta al danno al DNA, ai metalli pesanti e alla predazione Le competenze richieste (in biochimica, biologia molecolare, microbiologia, genetica, bio-computing, molecular modelling, chimica, chimico-fisica, biologia strutturale) sono in gran parte in possesso del personale della commessa

Risultati attesi nell'anno

Caratterizzazione di mutanti dell'esterasi termostabile EST2 (valutazione della stabilità termica/caratterizzazione 3D e cinetica)Analisi termodinamica e risoluzione della struttura 3D di una paraoxonasi termostabile Studio dell'interazione proteina-proteina e stabilità termica di AesProduzione di alcool deidrogenasi specifiche per substrati di interesse applicativo (chetoni prochirali, alcoli e aldeidi)Purificazione della transglutaminasi dal batterio anaerobio R. flavefaciensCaratterizzazione e regolazione della glicosilidrolasi termofila Sso1353Analisi comparativa del modello molecolare della Reverse gyrase da S. solfataricus con omologhi a struttura 3D notaCaratterizzazione e regolazione da stress di chaperoni di S. solfataricusDeterminazione del TCR in specifici geni di S. solfataricusIdentificazione di geni coinvolti nella risposta ad agenti patogeni in piantePurificazione e caratterizzazione di galattolipasi e messa a punto di saggi per la sua individuazione in estratti di diatomee marineDeliverables:PubblicazioniEnzimi mutanti con alterate proprietà Proteine ed enzimi purificatiModelli molecolari e strutture 3DNuovi protocolli

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Basi molecolari dell'adattamento di cellule e proteine alle condizioni

estreme: aspetti applicativi

Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
281	112	240	0	633	2	354	70	N.D.	705

Unità di person	nale di ruolo*
ricercatori	Totale
4	5

^{*}equivalente tempo pieno



Unità di per	Unità di personale non di ruolo											
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale			
0	1	2	1	0	0	0	0	0	4			

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale				
1	1	3	5				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Progettazione di banche dati biologiche e programmi di analisi



Bioinformatica e genomica comparata per lo studio funzionale dei geni e delle famiglie geniche.

Dati generali

Progetto: Progettazione di banche dati biologiche e programmi di analisi

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di tecnologie biomediche

Sede principale svolgimento:Sezione di BariDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:CECILIA SACCONE

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Balice Vito	I	Liuni Sabino	П	Tullo Apollonia	III
D'Elia Domenica	III	Morea Veronica	Ш	•	
Grillo Giorgio	Ш	Sbisa' Elisabetta	II		
		Tricarico Anita	VII		

Temi

Tematiche di ricerca

Applicazioni di tecnologia GRID Sviluppo di banche dati e di procedure di text e data-mining Sviluppo di software per l'analisi linguistica ed evolutiva delle biosequenze Analisi comparativa ed evolutiva di genomi Caratterizzazione strutturale di motivi funzionali e studi d'interazione tra molecole biologiche Analisi dell'espressione genica e studio del ruolo funzionale di geni coinvolti nella regolazione del ciclo cellulare Servizi di Bioinformatica e Formazione

Stato dell'arte

L'era Post-genomica, che stiamo vivendo, è dettata dall'esigenza di gestire ed interpretare l'enorme mole di dati provenienti dai progetti di sequenziamento di interi genomi e le l'informazioni biologiche e molecolari ad esse associate. La Bioinformatica insieme alla Biologia Computazionale, è rivolta alla gestione e all'analisi dei dati biologici provenienti dalla Genomica, dalla Trascrittomica e dalla Proteomica per lo sviluppo di applicazioni pratiche in campo medico e biotecnologico.

Azioni

Attività da svolgere

Realizzazione di un Laboratorio Internazionale di Bioinformatica (LIBI) a carattere pubblico e privato con i seguenti obiettivi specifici:definizione e realizzazione di un Grid Portal a supporto di servizi caratterizzanti un ambiente collaborativo bioinformatico; uso di servizi avanzati e realizzazione degli strumenti. Obiettivi del LIBI saranno: la costruzione e mantenimento di banche dati di interesse genomico e proteomico, progettazione e implementazione di nuovi algoritmi e software per l'analisi dei genomi e dei loro prodotti di espressione (trascrittoma e proteoma). Inoltre le tematiche riguarderanno le applicazioni di tecnologia GRID, e di procedure di text e data mining. Sviluppo di software per l'analisi linguistica ed evolutiva delle biosequenze. Analisi comparativa ed evolutiva di geni e genomi. Caratterizzazione funzionale e studi di interazione tra molecole biologiche. Analisi dell'espressione genica studio del ruolo funzionale di geni coinvolti nella regolazione del ciclo cellulare.

Punti critici e azioni da svolgere

Il punto critico fondamentale per la realizzazione del laboratorio sarà l'integrazione delle varie attività sia a livello locale che con gli altri gruppi partecipanti al LIBI. A tale scopo dovranno essere programmati frequenti incontri tra i partecipanti nonchè lo scambio di informazioni e la struttura di un portale Web.Aspetto fondamentale in questo contesto sarà la puntualità nelle erogazioni da parte degli Enti.Altri punti critici fortemente condizionanti la fattibilità dei progetti riguardano la mancanza di personale strutturato sia per l'amministrazione che per la ricerca; difficoltà nel pronto utilizzo dei fondi dovuta ad una eccessiva burocratizzazione difficoltà nell'instaurare collaborazioni fra istituzioni diverse, per esempio tra Università e CNR. Punto cruciale è l'ampliamento ed adeguamento degli spazi.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine



Collaborazioni (partner e committenti)

EMBL 'Heidelberg - Germany LION Biosciences - Heidelberg - Germany ULB 'Bruxelles 'Belgio EBI 'Hinxton 'UK IBM Semea Sud, Java Technology Center CASPUR e il CINECA Università di Milano, Bologna, Padova, Roma e Bari INFN sezione di Bari SPACI Lecce

Finalità

Objettivi

Sviluppo di metodologie innovative per la gestione e l'analisi massiva dei dati biologici Trasferimento tecnologico Formazione in Bioinformatica Computazionale Condurre linee di ricerca sperimentali fortemente integrate e supportate dall'analisi in silico. Competenze Database Specialist Software Specialist Bioinformatici Biologi molecolari con specifiche competenze nell'applicazione delle più moderne tecnologie di analisi sperimentale e in-silico

Risultati attesi nell'anno

Analisi dei requisiti per i servizi che saranno parte integrante del laboratorio Analisi degli schemi e dei contenuti delle diverse basi di dati da integrare nel LIBIDisegno di un modello per l'integrazione efficace delle banche dati laboratorio. Identificazione di nuovi target trascrizionali coinvolti nel ciclo cellulare.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Moduli

Modulo: Bioinformatica e genomica comparata per lo studio funzionale dei

geni e delle famiglie geniche.

Istituto esecutore: Istituto di tecnologie biomediche

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo: Bioinformatica e genomica comparata per lo studio funzionale dei

geni e delle famiglie geniche.

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

	Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
	1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
Ī	382	97	102	500	1081	390	589	44	N.D.	1515

Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale					
7	8					

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
1	1	0	4	0	1	0	0	1	8

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
2	3	0	5					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca

⁻ per risposte a bisogni individuali e collettivi



Processi microevolutivi del Paracentrotus Lividus nel golfo di Anvrakikos

Dati generali

Progetto: Progettazione di banche dati biologiche e programmi di analisi

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monrov"

Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
MARTA DI CARLO

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

La biodiversità indica una misura della varietà di specie animali e vegetali nella biosfera ed è il risultato di lunghi processi evolutivi. La biodiversità è quindi intesa non solo come il risultato dei processi evolutivi, ma anche come il serbatoio da cui attingere l'evoluzione per attuare tutte le modificazioni genetiche e per dare origine a nuove specie viventi. La biodiversità si può considerare almeno in tre livelli diversi: di geni di una specie (o popolazione) di specie o di ecosistemi.

Stato dell'arte

Il golfo greco di Amvrakikos può essere considerato un ambiente stressato ed instabile a causa dell'inquinamento prodotto da scarichi domestici e di industrie limitrofe. Questo ha portato ad un aumento della temperatura delle sue acque, alla variazione dei valori di salinità ed un aumento dei valori della clorofilla delle alghe. In tale golfo sono stati riscontrati delle popolazioni 'nane' e 'medio-nane'del riccio di mare Paracentrotus lividus.

Azioni

Attività da svolgere

Punti critici e azioni da svolgere

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

National Centre for Marine Research Atene, Grecia; Dip. Biologia Cellulare e Sviluppo Università di Palermo;. Lab of Developmental Biology, CNRS Villefranche-sur-Mer, France ; EU - NoE Marine Genomics.

Finalità

Obiettivi

Identificare set di geni e proteine che hanno subito variazioni nella loroespressione che sono collegabili alle variazioni dell'ecosistema. Tali geni potranno essere utilizzati come marcatori di processi microevolutivi.

Risultati attesi nell'anno

Potenziale impiego - per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi



Moduli

Modulo: Processi microevolutivi del Paracentrotus Lividus nel golfo di

Anvrakikos

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	tempo Invest. da Fonti sci		Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo	
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9	
0	0	0	0	0	0	0	0	N.D.	0	

Unità di personale di ruolo*					
ricercatori	Totale				
7	8				

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo										
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale				
0	0	0	0				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Studio della variabilità intra e inter specie basata su geni e genomi mitocondriali nucleari nei metazoi

Dati generali

Progetto: Progettazione di banche dati biologiche e programmi di analisi

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di tecnologie biomediche

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sezione di Bari
Scienze della Vita
CECILIA LANAVE

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Lanave Cecilia III Tricarico Anita VII

Temi

Tematiche di ricerca

Le attività produttive moderne di una data regione non possono prescindere dall'analisi della diversità biologica autoctona, la sostenibilità biologica delle pratiche colturali e di allevamento deve basarsi sulla conoscenza dei sistemi animali e vegetali, e quindi trovare sostegno nella raccolta, caratterizzazione e valorizzazione delle risorse genetiche animali e vegetali, comprendendo la valorizzazione del germoplasma di specie mediterranee.

Stato dell'arte

Lo studio e la tutela della biodiversità possono essere condotti a tre livelli: genico, specifico ed ecosistemico. Risulta quindi rilevante analizzare non solo le informazioni provenienti da approcci non molecolari (indagini tassonomiche morfologiche su campo o su esemplari presenti nelle collezioni), ma soprattutto considerare i dati molecolari, che si sono rivelati estremamente utili come 'barcodes' per identificare in modo rapido ed efficace animali e piante tramite brevi sequenze di DNA.

Azioni

Attività da svolgere

Bioinformatica e biologia computazionale applicata allo studio dell'evoluzione molecolare. Studio della Biodiversità nelle specie nell'ambito agro-alimentare. Caratterizzazione genomica del locus TRG2@ nei ruminanti. Analisi comparata della distribuzione genomica di geni strutturali nei diversi organismi. Calcolo delle distanze evolutive, della velocità di evoluzione, relazioni filogenetiche; analisi comparativa, e filogenetica dei membri delle famiglie geniche

Punti critici e azioni da svolgere

Difficoltà nell'instaurare collaborazioni proficue tra ricercatori con differente formazione, ossia tra tassonomi classici e molecolari, a causa della diffusa mancanza di apertura verso posizioni differenti dalle proprie; mancanza di software adeguato, di standards e le barriere all'accesso dei dati, che impediscono fortemente l'applicazione dell'informatica allo studio e all'organizzazione delle risorse offerte dalla Biodiversità; richiesta di risorse umane, già specializzate o da formare.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

IGV-CNR Bari; IGB-CNR Napoli; IBBA-CNR Milano; Dipartimento di Anatomia Patologica e di Genetica, Sezione di Genetica, Università di Bari; Dipartimento di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Bari; Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie Università di Milano; IPP-CNR Bari; IAMC-CNR Taranto; collaborazioni nell'ambito del network per la biodiversità GBIF (http://www.gbif.org) e della federazione di banche dati Species 2000 (http://www.species2000.org).

Finalità

Obiettivi

Sequenziamento di geni e genomi. Utilizzo di brevi sequenze di DNA mitocondriale come marcatori (barcodes) sia per discriminare specie animali note anche molto vicine dal punto di vista evolutivo che per identificare in modo preciso ed univoco nuove specie, creando quindi nuovi criteri diagnostici destinati ad



affiancarsi ai tradizionali caratteri morfologici. Sviluppo di algoritmi e produzione di softwares per la gestione ed analisi dei dati ottenuti su scala tassonomica ed evolutiva.

Risultati attesi nell'anno

Definizione delle regioni del DNA di diversi genomi (mitocondriale, nucleare, plastidiale) più adatti per compiere identificazioni certe a livello specifico (barcodes). Definizione degli strumenti di indagine molecolare maggiormente utili per lo studio della biodiversità. Studio degli algoritmi più adeguati per l'uso del sequenziatore '454 Life Science Instrument System'.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Studio della variabilità intra e inter specie basata su geni e genomi

mitocondriali e nucleari nei metazoi

Istituto esecutore: Istituto di tecnologie biomediche

Luogo di svolgimento attività: Sezione di Bari

Risorse commessa 2006

	Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
Ī	1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
Ī	64	63	325	500	952	300	688	24	N.D.	1276

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
1	1

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo										
	associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale				
1	3	0	4				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Metodologie per lo studio di popolazioni biologiche



Approccio multidisciplinare per la definizione di networks molecolari regolanti tratti ad eredità mendeliana e multifattoriale

Dati generali

Progetto:Metodologie per lo studio di popolazioni biologicheTipologia di ricerca:Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategicoIstituto esecutore:Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
MARIA PERSICO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Angelini Claudia	Ш	De Feis Italia	Ш	Marra Stefania	VII
Carfora Maria Francesca	m				

Temi

Tematiche di ricerca

1) Analisi di linkage e di associazione per identificare loci e geni causativi dei fenotipi sotto analisi in popolazioni isolate; 2) analisi di database per definire relazioni tra i geni identificati e altri già noti; costruzione di grafi; 3) analisi fenotipica di topi mutanti (embrioni ed adulti); 4) Identificazione di varianti alleliche dei geni globinici in portatori dell'Italia Meridionale e studio dei meccanismi di patologia molecolare associati ai nuovi alleli.

Stato dell'arte

La disponibilità di banche-dati riguardanti: sequenze del DNA di uomo e topo; l'espressione genica di diversi tipi cellulari, di stadi di sviluppo embrionale, di tessuti normali e tumorali; i fenotipi e la variabilità genetica in topi transgenici, popolazioni umane; nonchè la disponibilità di softwares sofisticati apre l'opportunità per uno approccio nuovo allo studio di tratti o fenotipi soggetti alla variabilità genetica dell'uomo o topo studiabili anche mediante ipotesi di networks (grafi).

Azioni

Attività da svolgere

1) Costruzione di un database contenente la genealogia, descrizione dettagliata di tratti riguardanti il sistema cardiovascolare (CVS), ematopoietico e CNS e la genotipizzazione del DNA degli abitanti di tre isolati genetici; 2) Identificazione mediante biotecnologie delle mutazioni alfa talassemiche in popolazioni dell'Italia meridionale e costruzione di un database; 3) Descrizione dettagliata dei fenotipi di topi mutanti nei geni cripto e Plgf in diversi background genetici.

Punti critici e azioni da svolgere

Vi è all'IGB e all'IAC o presso i collaboratori la disponibilità di attrezzature (DNA-microarray, Realtime PCR, FACS, Microscopi, server) e facilities (stabulario, sequencing, mapping) adeguate a portare avanti la commessa. Inoltre le popolazioni interessate hanno già accettato di partecipare al progetto. Punto critico è il relativo alto costo della ricerca. Per questodiverse richieste di finanziamento sono state fatte ad enti pubblici e privati in Italia e all'estero.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Esistono le competenze per lo studio dei fenotipi murini (Liguori, diporzio, Filosa) e dell'analisi del database delle popolazioni umane (Ciccodicola, Ciullo, Franzè) nonchè di biologia molecolare acquisiste negli anni e come dimostrato dalle numerose pubblicazione. Recentemente sono state acquisite competenze per la costruzione e amministrazione di data base, analisi di associazione e/o linkage e uso di PERL, LINUX microsoft, visual basic, postgreSQL, SOLAR.Inoltre sono ben documentate dalle nostre pubblicazioni le competenze nell'analisi di fenotipi murini durante lo sviluppo embrionale e nell'animale adulto.

Collaborazioni (partner e committenti)

Collaboratori a tempo definito (12 pagati dall'IGB ed oltre 20 da altri enti) con esperienza pluriennale sugli argomenti trattati, con competenze di informatica, statistica, biologia molecolare, genetica, medicina e management. Sono in corso collaborazioni con istituzioni sanitarie del Mezzogiorno e con i principali centri di genetica e di modello di topo (Edimburgo, Toronto, Helsinki, Leuven, Napoli, Salerno, Benevento, Roma, Genova), Neuromed (Isernia), TIGEM (Napoli), e DIBIT



Finalità

Obiettivi

obiettivi: costruzione di modelli di networks e studio della variabilità fenotipica accoppiata a mutazioni a plgf, cripto e alfa-globine; modelli di networks di geni coinvolti in sviluppo embrionale precoce (SEP), tumori, CVS e CNS competenze: variabilità fenotipica e mutazioni plgf e cripto (Liguori, Minchiotti, Persico, DeFalco) globine (Carestia, Lacerra); networks SEP e CVS (Liguori, Persico, Angelini, Carfora, De Canditiis, De Feis), tumori (De Angioletti), CNS (Ciccodicola, di Porzio)

Risultati attesi nell'anno

Mesi 1-12:Identificazione di almeno tre loci umani nuovi e di varianti dei geni cripto e Plgf umani. Mesi 13-24:Identificazione di almeno tre nuovi geni e loro varianti. Mesi 25-36:Definizione di almeno tre grafi. Mesi 1-36:Caratterizzazione molecolare, funzionale e fenotipica dell'intero pannello di alleli alfa-globinici nelle popolazioni dell'Italia Meridionale; espressione di geni correlati; biotecnologie innovative applicative; costruzione di un software per elaborare i dati genetici

Potenziale impiego

- per processi produttivi

non si prevedono processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Oltre all'evidente utilità di un chek up medico fatta alle popolazione dei paesi in esame nel Cilento e UFITA, è da evidenziare la possibilità di definire nuovi SNPs causativi di o associati a tratti fenotipici caratteristici di alcune malattie umane da poter in seguito essere considerati in kit diagnostici.

Moduli

Modulo: Approccio multidisciplinare per la definizione di networks molecolari

regolanti tratti ad eredità mendeliana e multifattoriale

Istituto esecutore: Istituto per le applicazioni del calcolo 'Mauro Picone'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo: Approccio multidisciplinare per la definizione di networks molecolari

regolanti tratti ad eredità mendeliana e multifattoriale

Istituto esecutore: Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	da Honti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
38	76	924	1	1039	310	1310	144	N.D.	1493

Unità di person	nale di ruolo*
ricercatori	Totale
1	1

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	Unità di personale non di ruolo											
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale			
0	2	1	0	0	0	0	13	0	16			

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale				
1	3	0	4				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Identificazione di fattori genetici associati a malattie multifattoriali comuni tramite un originale approccio allo studio di isolati genetici

Dati generali

Progetto: Metodologie per lo studio di popolazioni biologiche **Tipologia di ricerca:** Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di genetica delle popolazioni

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:MARIO PIRASTU

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Casu Giuseppina	VI	Guiso Lucia Anna	V	Pistidda Paola Matilde	Ш
Casula Stefania	VI	Lamon Clelia Cristina	VIII	Sanna Cosetta	VII
Doro Maria Grazia	Ш	Maestrale Giovanni Battista	VI		
Frogheri Maria Laura	Ш	Melis Paola Maria	III		
~		Piractu Mario	I		

Temi

Tematiche di ricerca

L'identificazione di geni e varianti geniche associate a tratti complessi, sia qualitativi ("malattie") che quantitativi (per es. fenomeni fisiologici misurabili) è il primo passo per la cura e la prevenzione di malattie complesse comuni. La comprensione dell'interazione tra geni e ambiente sono fondamentali per migliorare le condizioni di vita dell'uomo in particolare nel campo della salute. Le malattie multifattoriali ed i tratti quantitativi richiedono peraltro un approccio particolare data la loro inerente complessità. Sono stati creati i "Parchi Genetici", cioè un modello di studio multidisciplinare di popolazioni isolate e del contesto ambientale in cui esse vivono. Tali popolazioni devono possedere peculiari caratteristiche: antiche origini, un numero molto ridotto di fondatori (poche decine), bassa immigrazione (tra 5 e 10%), lenta crescita demografica, alta endogamia (90%) e consanguineità (35%), possibilità di accurate ricostruzioni genealogiche per almeno 400 anni (fino a 17 generazioni), omogeneità ambientale e degli stili di vita. Banche dati correlate permettono l'integrazione di tutte queste informazioni.

Stato dell'arte

Nonostante per merito del il grande progetto internazionale Hap-Map si conoscano milioni di varianti genetiche del genoma umano, si sono incontrate innumerevoli difficoltà nell'associare tali varianti con tratti complessi. Oltre alla complessità dei sistemi biologici in questione, vi si aggiunge la complessità derivata dalla disomogeneità dei campioni che si studiano. Pertanto la selezione da parte nostra di una decina di paesi isolati "inbred" della regione Ogliastra nella Sardegna centro orientale si è rivelata la soluzione ideale per ottenere una popolazione modello da sottoporre a studi multidisciplinari. L'elevata omogeneità della popolazione oggetto di studio ed il suo alto grado di consanguineità facilita l'identificazione dei fattori genetici coinvolti in malattie complesse. La condivisa omogeneità ambientale e comportamentale di tali popolazioni offre un ulteriore vantaggio a tali studi.

Azioni

Attività da svolgere

L'attività di ricerca è rivolta ad indagini clinico epidemiologiche da svolgere in cinque nuovi paesi (~5000 individui) dell'Ogliastra che includono sia visite generali che specialistiche e analisi di chimica clinica. Saranno costruite le intere genealogie degli ultimi 400 anni di questi paesi. L'analisi statistico epidemiologica verrà applicata per definire la prevalenza delle patologie oggetto del nostro studio e per identificare le famiglie multigenerazionali più informative. Molte attività verranno svolte sul campo sia da personale dell'Istituto sia da contrattisti e consulenti (per esempio medici e infermieri) del territorio. Nel 2006 verrà completata la genotipizzazione con ~1500 marker multiallelici di un secondo intero paese (Urzulei). Inoltre, verranno studiate varianti bioalleliche intrageniche (cSNP) di geni candidati per verificare l'associazione con malattie quali, per esempio, ipertensione essenziale e obesità. Per il mappaggio fine di loci associati a patologie utilizzeremo SNPs ad alta densità. Geni/malattia saranno identificati tramite analisi di linkage parametrico e non parametrico e studi di associazione caso-controllo.



Punti critici e azioni da svolgere

Il Progetto è totalmente dipendente dall'attività che si svolge sul campo, che include sia gli aspetti organizzativi che la partecipazione delle popolazioni. Uno dei motivi del ritardo nel raggiungimento degli obiettivi, è stato la difficile reperibilità di spazi da adibire ad ambulatori-laboratori (aule scolastiche in disuso o appartamenti privati) in ogni paese ed i tempi lunghi necessari alla ristrutturazione adeguata di essi. L'attività continuativa nei paesi (mesi o anche anni) coinvolge la popolazione in modo costruttivo e consapevole ed è garanzia di crescita del progetto. L'altra importante problematica riguarda la genotipizzazione e, in particolare, la scelta dei markers genetici da utilizzare: multiallelici o biallelici (SNP). Gli SNPs si preferiscono oggi per la possibilità di utilizzare mappe ad altissima densità. La nostra scelta è di utilizzare chip da 500K che consentano, insieme al LD molto esteso, di applicare uno studio di associazione genome wide per la ricerca di geni per tratti complessi. Dobbiamo fornirci di strumentazioni adeguate che non sono in nostro possesso.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

La fattibilità del progetto è garantita dalle competenze di genetica, analisi epidemiologica e statistica e dall'esperienza di ricerca archivistica e sul campo che i ricercatori dell'IGP hanno accumulato negli ultimi dieci anni. Il progetto è reso possibile anche dalle competenze informatiche apportate ad esso dal partner privato, la società Shardna, che ha assunto ingegneri e tecnici informatici, statistici e analisti per la creazione della struttura informatica ed elaborazione degli algoritmi necessari alle analisi complesse da condurre su dati molto eterogenei. Le piattaforme tecnologiche disponibili sono le seguenti: un Biomek NX, un Biomek FX e 18 Termociclatori con due ABI PRISM 3130 ed un ABI PRISM 3730 DNA Analyzer per l'analisi di marcatori polimorfici e sequenze di DNA; due sistemi Affymetrix GCS3000 7G e MegaAllele GCS3000 per l'utilizzo di chips ad alta densità di SNPs (microarray systems).

Collaborazioni (partner e committenti)

Il progetto si svolge in collaborazione con il Parco Genos, Consorzio formato da alcuni paesi ogliastrini ed enti pubblici e privati della Sardegna che svolgono funzioni di supporto logistico mettendo a disposizione spazi attrezzati, personale tecnico locale e persino investimenti effettuati a favore della ricerca. Il CNR ha firmato un Protocollo d'Intesa con la Società Shardna spa per lo sfruttamento economico dei risultati della ricerca al fine di sviluppare mezzi diagnostici e farmacologici per la cura e la prevenzione di malattie multifattoriali. La società Shardna agisce da partner privato nell' attuazione della commessa dell'IGP.Il committente della commessa è il MIUR attraverso il fondo per l'agevolazione della ricerca previsto dalla legge 297/99.

Finalità

Obiettivi

Sviluppo di metodologie statistiche e computazionali per l'analisi di dati complessi con la finalita' di identificare i fattori genetici ed ambientali associati a malattie multifattoriali comuni e fenotipi semplici e complessi. Tale obiettivo si otterra' attraverso l'utilizzo di una piattaforma tecnologica integrata comprendente sia i dati derivanti dall studio di popolazioni omogenee sia dal punto di vista genetico che ambientale sia gli applicativi per detta analisi. Il sistema di informazioni integrato potrà essere utilizzato per la definizione di strategie e di gestione ottimale delle risorse e dei servizi per la salute attraverso l'individuazione di programmi sia di prevenzione che di diagnosi e terapia finalizzati alla massima efficienza ed al minimo costo. Potranno essere prodotto kit diagnostici e sistemi farmacologici personalizzati. Il progetto è modulare ed i paesi vengono studiati in sequenza dai vari team multidisciplinari di studio.

Risultati attesi nell'anno

Realizzazione del data base completo relativo alle informazioni ottenute su 10-15 mila persone di dieci paesi ogliastrini; ricostruzioni genealogiche che collegano circa 200.000 persone; genotipizzazione completa di 2.500 persone di due interi paesi; software genealogici, statistici, genetici e di supporto ai trattamenti farmacologici; nuovi strumenti diagnostici.Completamento raccolta campioni biologici in 10 villaggi.Individuazione di 6 nuovi loci associati a patologie complesse Identificazione di 3 geni associati a malattie complesse e di almeno due proteine associate.Sottoscrizione di un accordo per lo sviluppo delle ricerche effettuate con almeno un`industria farmaceutica.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

L'integrazione dei dati in un complesso database interattivo permetterà di migliorare l'integrazione dei dati per condurre studi di "system biology" e identificare i pathways biologici coinvolti nella patofisiologia delle malattie in studio. I tools bioinformatici e di data mining che saranno ulteriormente sviluppati permetteranno di analizzare relazioni non immediatamente evidenti tra i diversi sistemi coinvolti. Questo permetterà di identificare nuovi loci, quindi i geni presenti in tali loci e successivamente le varianti geniche associate a patologie con grande impatto sociale, dando l'opportunità al CNR, insieme alla società Shardna di cui è



partner, di depositare nuovi brevetti. Verranno perfezionati i tools di ricostruzione automatica e disegno degli alberi genealogici. Questo è un prodotto estremamente importante da raggiungere dato che viene continuamente richiesto anche da altri gruppi di ricerca per le sue innovative caratteristiche uniche sul mercato.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Il progetto avrà importanti ricadute a livello locale in termini di azione di diagnostica e prevenzione in popolazioni che hanno un accesso abbastanza difficoltoso al sistema sanitario nazionale essendo molto decentrate. L'attuazione del programma di ricerca avrà anche una ricaduta in termini di "educazione alla salute" visti i protocolli che si implementano per lo studio della nutrizione, degli stili di vita e la determinazione dei fattori di rischio non genetici. Il progetto ha già ispirato molti gruppi sia a livello nazionale che internazionale a condurre studi simili in popolazioni con caratteristiche paragonabili a quelle dell' Ogliastra. Il MIUR lo ha già indicato come progetto di eccellenza con importanti ricadute sia scientifiche che sociali.

Moduli

Modulo: Identificazione di fattori genetici associati a malattie multifattoriali

comuni tramite un originale approccio allo studio di isolati genetici

Istituto esecutore: Istituto di genetica delle popolazioni

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo: Identificazione di geni-malattia mediante genotipizzazione ad alta

densità di popolazioni.

Istituto esecutore: Istituto di genetica delle popolazioni

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
469	279	1084	0	1832	0	1363	266	N.D.	2098

Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale					
5	11					

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	Unità di personale non di ruolo								
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	0	0	0	0	6	0	6

Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato	tempo indet	Totale				
1	4	0	5			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Modellizzazione quantitativa di sistemi biologici complessi

Dati generali

Progetto:Metodologie per lo studio di popolazioni biologicheTipologia di ricerca:Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategicoIstituto esecutore:Istituto per le applicazioni del calcolo "Mauro Picone"

Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
FILIPPO CASTIGLIONE

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Bernaschi Massimo	I	Pechini Cesare	VII	Pontrelli Giuseppe	Ш
Castiglione Filippo	Ш	Pedicini Marco	Ш	Succi Sauro	I
Gonnella Ilaria	VIII	Piccoli Benedetto	I	Toschi Federico	Ш
Natalini Raharta	I				

Temi

Tematiche di ricerca

La commessa si articola in diverse attivita'. Queste adottano undiverso livello di descrizione (molecolare, intracellulare, cellulare)a seconda del sistema biologico che si intende studiare. La scelta ditali livelli di descrizione dipende sia dalla disponibilia' diosservazioni sperimentali che da una certa convenienza nell'uso delmetodo matematico scelto per rappresentare il sistema. E' importantenotare che esiste una naturale corrispondenza tra la conoscenza e lecompetenze sviluppate dai gruppi di ricercatori per le diverseattivita'. Per sottolineare la capacita' di fare ricercainterdisciplinare e' importante dire che tutte le attivita' deiricercatori dell'IAC sono supportate da una collaborazione con biologisperimentali o medici clinici e che tutte le attivita' iniziano lapropria indagine da dati sperimentali. La commessa si articola nelleseguenti attivita'. (1) La risposta immunitaria in relazione apatologie virali e tumorali; (2) Dinamica molecolare intracellulare; (3) Comunicazione e interazione in sistemi biologici microscopici; (4)Dinamica di farmaci in arterie e nel tessuto biologico.

Stato dell'arte

La ricerca in biologia matematica vive un periodo di grande sviluppo alivello mondiale. Cio' e' permesso dalla congiunzione di due fattori:1) la grande disponibilita' di dati ottenuti mediante strumenti dimisura computerizzati (ivi inclusi i metodi derivanti dalla genomica);2) l'enorme capacita' di calcolo dei calcolatori moderni. Questi due fattori hanno creato le condizioni ideali per un rapidosviluppo della biologia matematica o computazionale. Le ricadutepratiche che ci si aspetta da questa area di ricerca sono enormi ecoinvolgono tutti quegli aspetti legati alla comprensione dei fenomenibiologici in senso lato, alla salute, alla biotecnologia, all'ambiente, etc.

Azioni

Attività da svolgere

Tutte le attivita' di ricerca della presente commessa sono, alla dataodierna, gia' operative e vanno nel futuro prossimo, potenziate conafflusso di risorse dedicate (post-doc, collaboratori) al fine di convertirei progressi teorico/simulativi in indicazioni pratiche per i biologi ed iclinici con i quali si collabora.Particolare necessita' in questo senso si avverte nell'areadell'immunologia teorica e computazionale, in cui e' indispensabileacquisire figurecon competenze avanzate di modellistica multiscala e di calcolo numerico edelle alte prestazioni.

Punti critici e azioni da svolgere

Le azioni critiche da svolgere sono:1) Possibilita' di acquisire personale dedicato, tipicamente post-doc,per finalizzare i progressi teorico/simulativi in progetti operativisperabilmente utilizzabili da terze parti;2) Acquisizione di personale permanente con conoscenze specifichedelle moderne tecniche di modellistica multiscala, indispensabili peraffrontare in maniera internazionalmente competitiva i complessi problemiinterdisciplinari connessi all'interfacciamento tra la matematica, ilcalcolo scientifico e la biologia;3) Inserimento delle attivita' specialistiche della commessa nel quadropiu' generale del Dipartimento di Scienze della Vita: il gruppo afferente a questa commessa puo' giocare un ruolo cruciale come polo di competenzemetodologico/simulative.



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le tecniche usate per affrontare le problematiche di ricerca sopra elencatesono diverse. Si va dalle classiche equazioni differenziali ordinarie o aderivate parziali per lo studio della dinamica delle popolazioni cellularie di quella virale nell'infezione da HIV, per la dinamica delle chinasicoinvolte nella trasduzione del segnale cellulare o per la fluidodinamicanei flussi arteriosi, ai modelli di simulazione discreti per la descrizione del sistema immunitario in relazione all'infezione da HIV e della crescitadi tumori, della dinamica molecolare nell'aggregazione di proteineper lo studio delle proprieta dinamiche delle protein-protein interactionnetworks, per finire ai linguaggi formali basati su processi mobili per ladefinizione di reti metaboliche e di interazioni molecolari e cellulari.

Collaborazioni (partner e committenti)

Istituti a carattere matematico o biologico: Ist Nazionale MalattieInfettive "L. Spallanzani' Roma; Policlinico Monteluce, Univ Studi diPerugia; Sezione di Ematologia, Univ Studi di Foggia; Inst for MedicalBio-Mathematics, Tel Aviv, Israele; Harvard Medical School, Boston; Dip Biol, Univ "Tor Vergata' Roma; Virginia Bioinf Inst, Blacksburg,USA; Tufts University, Boston; IML, CNRS, Marsiglia; PPS, CNRS,Parigi; Dip Informatica, Univ Bologna; Dip Genetica e Biol Molecolare,Univ "La Sapienza" Roma; Dip Matematica, Politecnico di Torino; IstBiologia e Patologia Molecolare CNR Roma; EPFL, Losanna, Svizzera;INRIA, Rocquencourt, Francia; Lab Ing Biomedica, Ist Sup di Sanita',Roma; MOX, Dip Matematica, Politecnico di Milano; Dip Strutture, UnivRoma III; DISAT, Facolta' Ingegneria, Univ dell'Aquila; Schoolof Crystallography, Birkbeck College, Univ of London, UK; Center forBiol Sequence Analysis, Danmarks Tekniske Univ, Danimarca; Instde la Genetique Humaine CNRS, Montpellier, Francia; Dip PatologiaSperimentale, Sez di Cancerologia, Univ Bologna; School of Land &Food Science, Univ Queensland, Brisbane, Australia; CINECABologna; Dip Matematica e Informatica, Univ Studi Catania

Finalità

Obiettivi

In relazione alle attivita' sopra elencate, si intende: 1) Affinare imodelli di simulazione per l'AIDS ed i tumori. Sviluppare metodi delcontrollo ottimo per l'allocazione ottimale delle sessioniimmunoterapeutiche. Effettuare una analisi statistico-matematica dellaviremia in pazienti siero-positivi sottoposti a terapia antivirale conabilita' predittive del suo fallimento. 2) Perfezionare la simulazionedi protein-protein interaction networks per comprendere meglio lacapacita' della cellula di creare strutture funzionali organizzate; analizzare modelli di reazioni autocatalitiche per studiare latrasduzione di segnali intracellulari come onda di attivazione o comesemplice diffusione. 3) Sviluppare un linguaggio logico di supportoalla modellizzazione di sistemi metabolici in presenza di conoscenzaincompleta che sia di aiuto a rappresentare e simulare le complesseinterazioni molecolari intracellulari. 4) Sviluppare modelli per iltrasporto di farmaci nel sangue e rilascio da parte di materialimicrostrutturati e modelli per la cinetica di un soluto disciolto nelsangue e assorbito da organi bersaglio per valutarne l'eventualeeffetto retroattivo su altri organi.

Risultati attesi nell'anno

I principali risultati attesi sono:1) Sviluppo di un prototipo di sistema di simulazione a piu' moduli(organi) all'interno del progetto ImmunoGrig;2) Mantenimento di un buon livello di produttivita' scientifica, intermini di pubblicazioni, inviti a convegni;3) Estendere i rapporti di collaborazione con istituti a caratterebio-medico e soprattutto dimostrare ulteriormente alla comunita' deibio-medici l'importanza e l'utilita' dell'utilizzo della matematica comestrumento di indagine quantitativa.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Il lavoro svolto all'interno di questa commessa ha un grosso potenzialeapplicativo per i seguenti processi produttivi:- Progettazione di software per industrie farmaceutiche per *) sistema immunitario *) protein-protein interaction networks *) trasporto di farmaci nel sangue *) linguaggi formali per su processi mobili definire reti metaboliche e di interazioni molecolari e cellulari

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Il lavoro svolto in questa commessa puo' fornire sostanziali contributi aiseguenti bisogni individuali e collettivi-Ottimizzazione di tecniche di vaccinazione contro i tumori-Ottimizzazione di protocolli clinici per la terapia antiretrovirale per HIV-Ottimizzazione di interventi clinici per disturbi cardiovascolari

Moduli

Modulo:Modellizzazione quantitativa di sistemi biologici complessiIstituto esecutore:Istituto per le applicazioni del calcolo "Mauro Picone"Luogo di svolgimento attività:Sede principale Istituto



Risorse commessa 2006

ind/det In	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
236	34	68	0	338	0	102	28	N.D.	366

Unità di person	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
3	5

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Richiesta nuove u	mità di persona	ale	
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
1	4	3	8

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Organismi modello per lo studio di processi fisiologici e patologici



Sviluppo e funzionamento dei sistemi complessi - Uso di modelli biologici

Dati generali

Progetto: Organismi modello per lo studio di processi fisiologici e patologici

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto di genetica e biofisica 'Adriano Buzzati Traverso'

Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
SILVANA GARGANO

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

L'uso di sistemi modello e` universalmente riconosciuto come un momento focale nello studio di meccanismi molecolari coinvolti nello sviluppo e differenziamento e di geni-malattia. Il continuo miglioramento degli approcci sperimentali ed il costante aggiornamento di banche dati dei sistemi modello costituiscono un imprescindibile attributo di una ricerca di alto profilo.La commessa raggruppa un insieme di ricercatori che si occupano di sistemi modelli che coprono la grande maggioranza di quelli usati nella moderna biologia: topo e ratto (di Porzio), Drosophila (Graziani, Gigliotti, Digilio), C. elegans (Bazzicalupo, La Volpe), funghi e lieviti (Gargano), Arabidopsis e L. japonicus (Chiurazzi), E. coli (Defez), culture cellulari di mammifero e di insetti (di Porzio, Graziani).

Stato dell'arte

Il genoma umano è straordinariamente simile a quello di organismi evolutivamente antichi e le varie forme di vita sono accomunate molto più di quanto atteso sulla base della enorme varietà e complessità morfo-funzionale con cui esse si presentano. Questa scoperta ha fornito una base teorica e pratica per l'uso di modelli sperimentali sia nello studio dei meccanismi molecolari dei processi di differenziamento dei tessuti, organogenesi, funzionamento dei sistemi fisiologici, sia come modelli di malattie.

Azioni

Attività da svolgere

Per tutti i sistemi modello citati vengono costantemente aggiornate le procedure per la trasformazione genetica, le collezioni di ceppi mutanti o trasformati, di librerie specifiche, di sistemi di espressione omologa ed eterologa, di reagenti quali anticorpi, vettori e cloni, specifici per ogni sistema; viene inoltre curato il perfezionamento di particolari approcci sperimentali quali RNA interferenza e microarray analysis. Vi sono inoltre collaborazioni con gruppi presso l'Università, la Stazione Zoologica ed altre istituzioni per allargare l'offerta di sistemi modello, che questa commessa è in grado di offrire alla comunità scientifica (per lo zebra fish il dott. Paolo Sordino, per lo xenopus e il riccio di mare la prof. Chiara Campanella).

Punti critici e azioni da svolgere

La commessa è in grado di offrire consulenze tecnico-scientifiche garantite dalle competenze dei ricercatori partecipanti (Tot IF 2000-04: 905) e da strumentazioni, strutture e servizi necessari presenti all' IGB. Le numerose collaborazioni scientifiche con gruppi dentro e fuori il CNR e l'Italia, assicurano un continuo aggiornamento delle competenze. All'interno di queste attività, un ruolo importante sarà la formazione di giovani scienziati e tecnici in grado di portare avanti queste tematiche e competenze.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Genetica classica e molecolare, Biologia molecolare, Biologia cellulare

Collaborazioni (partner e committenti)

Sono in corso collaborazioni e networks con i principali centri internazionali e nazionali di studio della biologia dei sistemi modello di cui il raggruppamento si occupa: Harvard, Helsinki, Leeds, Lund, Paris-sud, Toronto, Karolinska Inst, Erasmus MC Rotterdam, NRMC UK, Gulbenkian Lisboa, Emory U, TIGEM, BIOGEM, Arterra Bioscience Srl, Napoli.



Finalità

Obiettivi

Costruzione di una consolidata rete di ricercatori in grado di offrire oltre agli organismi stessi, competenze, strutture, e servizi relativi ad una vasta gamma di sistemi modello sia per ricerca di base che applicativa. Obiettivo primario di questa rete è quello di fungere da punto di riferimento per i gruppi della comunità scientifica che intendano esplorare la possibilità di utilizzare sistemi modello per affrontare problematiche di proprio specifico interesse. Questo consentirebbe di accumulare quei dati preliminari senza i quali anche il finanziamento dei progetti è impossibile.

Risultati attesi nell'anno

Acquisizione e messa a punto di metodologie atte a migliorare l'approccio sperimentale nei sistemi modello e loro applicazione alle tematiche di ricerca attualmente sviluppate dai gruppi partecipanti. Identificazione e ottimizzazione dei protocolli di impiego di reagenti biologici necessari allo studio di interazioni cellulari, sviluppo, differenziamento, organogenesi dei sistemi descritti e loro alterazioni. Attivazione di nuove collaborazioni e contratti esterni per l'uso di questo insieme di risorse e competenze.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Sviluppo e funzionamento dei sistemi complessi - Uso di modelli

biologici

Istituto esecutore: Istituto di genetica e biofisica 'Adriano Buzzati Traverso'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

ind/det Inv	Funz.+ Invest.	de Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
0	70	179	1	250	120	369	153	N.D.	523

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
3	5

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	4	1	0	0	0	0	0	1	6

Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale				
0	4	0	4				

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Modelli animali per applicazioni terapeutiche

Dati generali

Progetto: Organismi modello per lo studio di processi fisiologici e patologici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di tecnologie biomediche

Sede principale svolgimento: Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza: Scienze della Vita

Responsabile indicato: PAOLO MARIA VEZZONI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Albertini Alberto	DIRE	Frattini Annalisa	Ш	Susani Lucia	VI
Carmarino Silviana	VI	Gambirasio Francesco	VII	Torti Mariagiovanna	VI
Cerruti Claudio	I	Musio Antonio	Ш	Vezzoni Paolo Maria	III
Di Carlo Michala	VI				

Temi

Tematiche di ricerca

1. Produzione di animali transgenici 2. Screening e analisi di topi transgenici 3. Analisi di risposta del modello hsp/hGH/cMet ad agenti tossici

Stato dell'arte

Negli ultimi anni, le tecnologie di modificazione del genoma in embrioni murini (transgenesi, ricombinazione onmologa, trasferimento nucleare) ha acquisito un'importanza fondamentale nella ricerca biologica e medica. In particolare esse consentono di creare modelli animali di malattie umane, che possono poi venir utilizzate per lo studio della patogenesi delle malattie e/o per testare nuovi approcci terapeutici.

Azioni

Attività da svolgere

Tra le attività che verranno certamente perseguite nell'ambito della presente commessa, possiamo elencare: 1. validazione di un modello murino di cancro mammario per testare nuovi approcci alla terapia antitumorale. 2. sviluppo di modelli animali per la terapia di malattie genetiche ad insorgenza precoce 3. studio di modelli murini per la comprensione della progressione tumorale 4. Studio della stabilità genomica di linee staminali embrionali umane 5. Trasferimento cromosomico in linee cellulari

Punti critici e azioni da svolgere

Tutte le tecnologie necessarie sono in possesso dei ricercatori dell'ITB coinvolti in questa commessa. I progetti sono fattibili

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Oltre alle metodiche di ingegneria classica, tutte le tecnologie legate alla transgenesi murina sono disponibili presso il nostro Istituto.

Collaborazioni (partner e committenti)

1. CNR, Istituto di Biologia Cellulare e Centro EMMA di Monterotondo 2. Centro Comune di Ricerca di Ispra 3. Istituto Tumori di Milano 4. National Health Institutes di Bethesda 5. Albert Einstein University di New York

Finalità

Obiettivi

1 Definire nuovi approcci terapeutici per la terapia antineoplastica basati su metodiche di ingegneria genetica 2. Messa a punto di un test in vitro per lo screening di composti tossici. 3. Identificazione di nuovi pathway nella trasformazione tumroale.

Risultati attesi nell'anno

 Pubblicazioni scientifiche 2. Protocolli terapeutici 3. saggi in vitro per facile identificazione di composti tossici.



Potenziale impiego

- per processi produttivi

I test sviluppati per studi tossicologici risponde ad una necessità molto sentita dalle industrie chimiche che hanno la necessità di conoscere in tempi rapidi l'eventuale tossicità dei loro composti.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

La necessità di nuove terapie per la cura del cancro e delle malattie genetiche è un bisogno fondamentale nel settore della salute umana.

Moduli

Modulo:Modelli animali innovativiIstituto esecutore:Istituto di tecnologie biomediche

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
178	67	239	0	484	0	306	31	N.D.	515

Unità di persona	ale di ruolo*		
ricercatori	Totale		
2	4		

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo											
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale		
0	0	0	2	0	0	0	0	0	2		

Richiesta nuove u	Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
2	2	2	6					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Meccanismi molecolari e cellulari della determinazione neurale e patologia del sistema nervoso

Dati generali

Progetto: Organismi modello per lo studio di processi fisiologici e patologici

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico **Istituto esecutore:** Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
UMBERTO DI PORZIO

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

Delucidazione dei principi molecolari ed organizzativi dello sviluppo del cervello: studi genetici e molecolari di geni, segnali e meccanismi che regolano la specificazione e regionalizzazione del SNC; il differenziamento 1) di cellule staminali neurali, 2) di neuroni dopaminergici mesencefalici, 3) di sistemi sensoriali, 4) di crescita assonale, in modelli animali e nell`uomo. Studi genetici e molecolari delle patologie genetiche e degenerative del Sistema nervoso.

Stato dell'arte

Negli ultimi anni una enorme mole di lavoro ha generato mutanti di topo, Drosofila e C. elegans e sistemi cellulari che hanno svelato nuove e fondamentali funzioni geniche e loro interazioni molecolari nonchè i meccanismi genetici ed epigenetici che controllano il differenziamento neurale di cellule staminali e la generazione e funzione di vari sistemi neuronali, incluso quello dopaminergico. Queste informazioni hanno permesso di approfondire aspetti genetici e molecolari che sottendono importanti potologie del SNC dei mammiferi, uomo incluso.

Azioni

Attività da svolgere

Il lavoro svolto è focalizzato su analisi genetica, cellulare e molecolare del: 1.geni Otx nella morfogenesi del cervello, 2.sviluppo del sistema dopaminergico mesencafalico e sue disfunzioni (morbo di Parkinson, ADHD), 3.differenziamento delle cellule ES e uso di cellule staminali e neuroni in modelli di terapia rigenerativa, 4.meccanismi di crescita assonale, 5. chemiorecezione, 6.studio di geni malattia nelle patologie del SN, 7. Studio degli aspetti immunologici di malattie neurodegenrative.

Punti critici e azioni da svolgere

Avanzamento dei temi descritti in attività in corso. Elevato grado di FATTIBILITA' per le competenze dei singoli ricercatori nel campo della biochimica, biologia molecolare e cellulare, sviluppo (alto numero di pubblicazioni a elevato IF), unitamente alle facilities e servizi disponibili. PUNTI CRITICI: mancanza di inserimento di giovani ricercatori, grave progressiva riduzione di fondi CNR.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

biologia cellulare, colture neuronali, topi transgenici, modelli animali di malattie neurodegenerative, espressione genica, RNA interference, cellule staminali

Collaborazioni (partner e committenti)

Sono in corso e saranno ulteriormente perseguite collaborazioni e networks con i principali centri internazionali e nazionali di studio dello sviluppo, differenziamento, modelli di malattia, cellule staminali del SN, e centri clinici: Università di Alicante, Harvard, Montreal Neurological Institute, Cornell Univ NYC, Helsinki, Leeds, Lund, Toronto, Karolinska Inst, Erasmus MC Rotterdam, NRMC UK, Gulbenkian Lisboa, Emory U, TIGEM, BIOGEM, DIBIT, CEINGE, Bari, Bologna, Napoli, Roma, Torino, imprese Biotecnologiche: NSGene Copenhagen, BIOPAT Caserta, PRIMM Milano.

Finalità

Obiettivi

Si proseguirà il lavoro nelle linee programmatiche sopra descritte, per acquisire nuove e approfondite conoscenze. Saranno impiegati vari sistemi modello (C. elegans, Drosophila, topo e cellule di mammifero) e



verranno utilizzate sia metodologie classiche di genetica molecolare e biologia cellulare, sia genomiche che di studio di famiglie affette. Obiettivi sono garantiti dalle competenze, metodologie già presenti nel repertorio sperimentale e finanziamenti esterni dei ricercatori partecipanti.Risultati attesi nell'anno:

Risultati attesi nell'anno

I vari progetti di ricerca che si prevede di portare a termine permetteranno l'identificazione e la caratterizzazione di geni, segnali e meccanismi di sviluppo e differenziamento di specifici sistemi neuronali e di cellule staminali neurali, nonchè l'identificazione di geni e meccanismi causa di malattie neurlogiche e psichiatriche d'interesse. I risultati attesi hanno potenziali ricadute applicative nell'ambito della neurodegenerazione, di malattie genetiche e psichiatriche e posso contribuire all'identificazione di targets di nuovi farmaci e protocolli sperimentali in medicina rigenerativa.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Individuazione di nuovi potenziali approcci terapeutici a malattie del sistema nervoso e identificazione di target molecolari per farmacogenomica

Moduli

Modulo: Meccanismi molecolari e cellulari della determinazione neurale,

differenziamento neuronale e patologie del sistema nervoso

Istituto esecutore: Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	de Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
0	66	92	1	159	123	281	144	N.D.	426

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
2	4

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo										
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	

Richiesta nuove u	Richiesta nuove unità di personale							
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale					
0	3	2	5					

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Modelli biologici per lo studio di patologie del metabolismo ed autoimmuni

Dati generali

Progetto: Organismi modello per lo studio di processi fisiologici e patologici

Tipologia di ricerca: Progetti di sviluppo competenze

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale "Gaetano Salvatore"

Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Responsabile indicato:
Sede principale Istituto
Scienze della Vita
SILVIA FONTANA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Avitabile Alessandra	Ш	Fontana Silvia	II	Monticelli Antonella	Ш
Cinquegrani Marco	П	Galli Paolo	VI	Occorsio Ugo	VI
Cito Ciro	V	Laezza Chiara	Ш	Speranza Giulia	VII
D'Agnello Francesco	VII	Matarese Giuseppe	Ш	Úngaro Paola	III
De Simone Salvatore	V	Miele Claudia	Ш	Valentino Rossella	III
Ferraro Paola	Ш				

Temi

Tematiche di ricerca

Identificazione di nuovi geni potenzialmente coinvolti nella patogenesi del diabete di tipo 2 e di altre malattie metaboliche e dei meccanismi molecolari che vengono controllati dal prodotto dei singoli geni a livello cellulare. Generazione di animali e linee cellulari geneticamente modificati per lo studio delle funzioni dei geni-candidato nella patogenesi del diabete di tipo 2 e di altre patologie del metabolismo. Sviluppo e caratterizzazione di nuove molecole che possano interferire nella struttura e/o nella funzione dei geni-candidato, molecole che verranno successivamente testate nei modelli animali e cellulari come nuovi approcci terapeutici. In particolare, con la comprensione dei meccanismi molecolari responsabili della malattia, si potrà valutare l'opportunità di stabilire una terapia genica appropriata. Studio dei meccanismi cellulari e molecolari alla base delle patologie che coinvolgono il sistema immunitario come elemento patogenetico: studio del ruolo di ormoni e di fattori a struttura citochinica nelle patologie autoimmunitarie del sistema endocrino (Diabete di tipo 1) e di tipo neurodegenerativo (Sclerosi multipla).

Stato dell'arte

La manipolazione genetica di modelli cellulari ed animali rappresenta oggi uno strumento irrinunciabile per lo studio di malattie autoimmunitarie e metaboliche con base genetica e per la validazione di terapie innovative. Di qui, l'importanza di identificare, generare e caratterizzare modelli biologici appropriati per lo studio di nuovi geni-candidato potenzialmente coinvolti nella patogenesi del diabete di tipo 2 e di altre malattie metaboliche, per caratterizzarne la funzione e la regolazione dell'espressione e per valutare il ruolo di ormoni e di fattori a struttura citochinica nella patogenesi di malattie autoimmunitarie

Azioni

Attività da svolgere

1) Identificazione e studio della funzione di geni potenzialmente coinvolti nella patogenesi del diabete di tipo 2 e di altre malattie metaboliche; 2) studio della regolazione dell'espressione di tali geni e del loro prodotto proteico; 3) studi nell'uomo: identificazione di polimorfismi nelle regioni regolatrici, studi di espressione e funzione delle proteine; 4) sviluppo e caratterizzazione di nuove molecole, piccoli peptidi o peptido-mimetici, che possono interferire nella struttura e/o nella funzione di geni-candidato coinvolti nella patogenesi del diabete di tipo 2 e di altre malattie del metabolismo; 5) studio degli eventi molecolari in modelli animali di diabete di tipo 1 e di sclerosi multipla sperimentale dopo trattamento con antagonisti della leptina; 6) genemicroarray dei geni indotti nei linfociti patogenici dopo trattamento con anticorpi bloccanti la leptina ed altre citochine; 7) studio dei segnali biochimici indotti dal blocco della leptina, citochine e ormoni nei linfociti T e linfociti regolatori

Punti critici e azioni da svolgere

Verranno prodotti animali transgenici e knock-out per poter stabilire il ruolo di geni d'interesse nello sviluppo del diabete di tipo 2 e di altre malattie metaboliche e per valutare le quali sono le alterazioni metaboliche determinate dall'assenza del gene. Questi animali saranno adoperati come modelli sperimentali per testare nuovi approcci terapeutici. Inoltre si ritiene di potere adoperare cellule staminali per la correzione dei difetti genetici. Per la comprensione dei segnali biochimici indotti nei linfociti autoreattivi dopo



trattamento con anticorpi bloccanti ormoni e molecole a struttura citochinica verranno valutati sia a livello biochimico che a livello di espressione genica con microarrays su larga scala.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Sviluppo di linee cellulari geneticamente modificate e di modelli animali di diabete di tipo 2 e di altre malattie metaboliche; studio del metabolismo lipidico, protidico e glucidico sia in vitro che in vivo, studi di espressione e funzione genica sia in vitro che in vivo, studio della regolazione dell'espressione genica nell'uomo. Sviluppo e caratterizzazione di nuove molecole, piccoli peptidi o peptido-mimetici, che possono interferire nella struttura e/o nella funzione di geni-candidato coinvolti nella patogenesi del diabete di tipo 2 e di malattie del metabolismo. Immunologia cellulare e molecolare sia in vitro che in vivo. Sviluppo di modelli animali di malattie autoimmunitarie del sistema endocrino e nervoso; sviluppo di modelli di obesità nel topo; studio del sistema immunitario in soggetti obesi

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof.Johan Auwerx,Institut Clinique de la Souris,Francia-Prof.Fatima Bosch,CBATEG,Universitat Autonoma de Barcelona,Spagna-Prof.Markku Laakso,Dept.of Medicine,University of Kuopio,Fillandia-Dr.Nigel Levens, Biovitrum AB,Svezia-Prof.Carlo Pedone,Istituto di Biostrutture e Bioimmagini del CNR-Dr.Menotti Ruvo,Istituto di Biostrutture e Bioimmagini del CNR-Prof.Giorgio Sesti, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale,Università di Catanzaro Magna Grecia-Prof.Ulf Smith, Lundberg Laboratory for Diabetes Research, Dept. of Internal Medicine,Sahlgrenska Academy,Goteborg University,Svezia-Prof.Emmanuel Van Obberghen,Inserm U145,Faculté de Médicine, Nizza,Francia-Prof.Juleen R.Zierath,Karolinska Institutet,Section of Integrative Physiology,Dept.of Surgical Science,Svezia-La maggiore collaborazione è con l'IBB del CNR e con i Centri della Tecnogen S.C.p.A. e della Sigma Tau con cui è in corso un programma finanziato con fondi MIUR(legge 297)Vi sono inoltre collaborazioni con:Prof.Antonio La Cava(University of California Los Angeles,USA-Prof.Steve O'Rahilly(University of Sheffield,UK)Dr.Edw

Finalità

Objettivi

ObiettiviL`obiettivo generale è rivolto alla comprensione dei meccanismi patogenetici delle, delle malattie metaboliche e del diabete di tipo 2 e delle malattie infiammatorie croniche ad eziologia autoimmunitaria, con l`ausilio di modelli cellulari ed animali opportunamente generati. L`obiettivo finale è rappresentato dalla possibilità di generare molecole farmacologiche in grado di interferire nella patogenesi di malattie metaboliche e autoimmunitarie.

Risultati attesi nell'anno

Si prevede di arrivare alla comprensione dei meccanismi di azione degli anticorpi bloccanti la leptina, soprattutto nell'ambito dei geni che regolano il differenziamento, la proliferazione e l'anergia dei linfociti T autoreattivi (modulo 1);Generazione e completa caratterizzazione dei modelli animali: topi Transgenici per PED/PEA-15 (TgPed); topi Knock-out per PED/PEA-15 (KOPed); topi iperesprimenti PED/PEA-15 solo nelle cellule beta del pancreas (beta-TgPed). Caratterizzazione del promotore del gene PED/PEA-15. Caratterizzazione del ruolo di PED/PEA-15 nella carcinogenesi tumorale. Generazione di molecole in grado di migliorare la sensibilità all'insulina in modelli cellulari ed animali di diabete di tipo 2 (modulo 2)

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Sviluppo e caratterizzazione di nuove molecole, piccoli peptidi o peptido-mimetici, che possono interferire nella struttura e/o nella funzione di geni-candidato coinvolti nella patogenesi del diabete di tipo 2 e di altre malattie del metabolismo. Produzione di antagonisti di ormoni e citochine o dei loro recettori (anticorpi monoclonali bloccanti, recettori solubili, molecole con azione antagonistica).

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Generazione di modelli animali e cellulari di malattie metaboliche ed autoimmunitarie.Le molecole generate potranno avere un impiego potenziale nella terapia del diabete di tipo 2 e di altre patologie del metabolismo, di patologie autoimmunitarie, nell'infiammazione cronica e nella terapia dell'obesità.Tali aspetti potranno avere un grande impatto nelle problematiche di salute pubblica connesse a tali patologie

Moduli

Modulo: Modelli biologici di patologie correlate con l'autoimmunità

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore["]

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Modulo: Modelli biologici correlati con malattie del metabolismo e per la

validazione di terapie innovative

Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano

Salvatore¹

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
634	115	1733	0	2482	400	2248	54	N.D.	2936

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
10	14

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale								
0 0 0								

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Modelli animali per lo studio del comportamento



Modelli Biologici dei Sistemi Cognitivi

Dati generali

 Progetto:
 Modelli animali per lo studio del comportamento

 Tipologia di ricerca:
 Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

 Istituto esecutore:
 Istituto di scienze e tecnologie della cognizione

Sede principale svolgimento: Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza: Scienze della Vita

Responsabile indicato: ELISABETTA VISALBERCHI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Caravita Silvia	II	Misiti Andrea	VI	Properzi Letizia	V
Cecconi Federico	V	Natale Francesco	Ш	Spinozzi Maria Giovanna	II
De Cresci Maurizio Maria	VII	Neri Mario	V	Visalberghi Elisabetta	I
Fidanza Luigi	VI	Poti' Patrizia	Ш	Vitali Isabella	VI
Mancuso Patrizia	\mathbf{V}				

Temi

Tematiche di ricerca

Studi sperimentali sull'organizzazione percettiva dei primati non umani. Analisi sperimentale sull'acquisizione e la trasmissione dell'uso di strumenti nel cebo dai cornetti, l'indagine verrà svolta sia in natura, sia in laboratorio. Studio della funzione dei neuroni specchio in diverse specie di primati. Definizione della corretta stabulazione degli animali dedicati alla ricerca ed elaborazione di protocolli atti ad ottimizzarne il benessere psico-fisico

Stato dell'arte

Per comprendere l'evoluzione comportamentale e culturale della specie umana è necessario studiare il comportamento e le capacità cognitive dei primati non umani. La comparazione dei risultati ottenuti con quelli di analoghi studi effettuati sull'uomo, in particolare, sui bambini permette di identificare uguaglianze e differenze nell'organizzazione cognitiva di diverse specie di primati e di tracciare i percorsi evolutivi che hanno portato alla nostra specie.

Azioni

Attività da svolgere

Determinazione del valore simbolico di oggetti usati in attività di scambio; analisi del fenomeno del variety seeking in contesto alimentare; caratterizzazione di strumenti (percussori e incudini) usati in natura dai cebi; censimento dei siti in cui è presente uso di strumenti; analisi delle variabili che favoriscono innovazioni e influenzano il tasso di uso di strumenti; struttura sociale dei cebi e riconciliazione in natura; attività di educazione e divulgazione diretta a bambini delle scuole elementari (progetto MIUR); studio delle capacità analogiche con diverse metodologie; livello di arbitrarietà e flessibilità nell'uso di riferimenti spaziali; analisi della capacità di sfruttare modelli in scala per guidare comportamenti di ricerca e uso di configurazioni di riferimenti in uno spazio di piccole dimensioni; sensibilità dei cebi dai cornetti ad alcuni fattori gestaltici di unificazione figurale; percezione di relazioni di tra differenti tipi di stimoli ad un livello concettuale astratto.

Punti critici e azioni da svolgere

Si dovrà procedere al rinnovo della Convenzione con il Comune di Roma e il Museo Civico di Zoologia, grazie alla quale i nostri uffici sono ospitati a condizioni per noi particolarmente vantaggiose; tale convenzione prevede che il nostro gruppo organizzi cicli di conferenze, incontri con il pubblico e, in generale, diverse iniziative di divulgazione concordate con il Museo stesso.Partecipazione all'organizzazione del XXI Congresso dell'International Primatological Society e del XXI Congresso della Società Italiana di Etologia.Completamento del Progetto FIRB (MIUR) con relativa relazione finale del lavoro svolto dalle 8 UR e rendicontazione.Contrattazione con la UE del progetto "Analogy" (VI Programma Quadro) al quale partecipiamo.Completamento delle strutture del nuovo laboratorio. Formazione di studenti, borsisti e assegnisti coinvolti nelle attività di ricerca.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine



Collaborazioni (partner e committenti)

Univ. of Kyoto, Giappone; Max-Planck Inst., Leipzig, Germania; Univ. of Georgia, Athens USA; Univ. of S. Paulo, Brasile; Goldsmiths College, UK; CNRS-Marseille, Francia; Univ. of Portsmouth, UK; Lund Univ., Svezia; Univ. of Leicester, UK; Univ. of Tel Aviv, Israele; Univ. of Louisiana, USA; Fundacao BioBrasil, Brasile; Univ. di Parma, Torino, Verona, Napoli, 'La Sapienza'-Roma; Centro di Biomedicina Spaziale, Univ. Tor Vergata, Roma; IRCCS Osp. Pediatrico Bambin Gesù, Roma;

Finalità

Obiettivi

Identificazione di uguaglianze e differenze nell'organizzazione cognitiva di diverse specie di primati, compreso l'uomo. Esame comparativo dei comportamenti e delle capacità cognitive in cattività e in natura di diverse specie di Primati non umani. Ricostruzione del percorso evolutivo che ha portato all'emergenza della specie Homo sapiens. Individuazione delle capacità di usare oggetti come punti di riferimento ambientale. Divulgazione scientifica e ricaduta didattica dei risultati di ricerc

Risultati attesi nell'anno

Caratterizzazione dell'uso di strumenti dei cebi in natura e comparazione con i dati disponibili per le antropomorfe. Dati sperimentali di comparazione fra scimpanzé e cebi sulla capacità di sfruttare l'informazione spaziale contenuta in modelli in scala per guidare una ricerca in ambiente reale. Risultati dell'esperimento effettuato con individui adulti di Cebus apella e studenti universitari, utilizzando la procedura sperimentale del "matching-to-sample". Dati sperimentali sulla capacità dei cebi di comprendere relazioni tra relazioni.Riflessioni sui temi della conservazione, benessere animale, importanza della ricerca, domesticazione con finalità di educazione scientifica.Sviluppo del modello cebo per la comprensione delle basi biologiche del comportamento alimentare umano.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Modelli Biologici dei Sistemi Cognitivi

Istituto esecutore: Istituto di neurobiologia e medicina molecolare

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Modulo:Modelli Biologici dei Sistemi CognitiviIstituto esecutore:Istituto di scienze e tecnologie della cognizione

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
364	286	73	0	723	0	359	37	N.D.	760

Unità di personale di ruolo* ricercatori Totale 4 7				
ricercatori	Totale			
4	7			

^{*}equivalente tempo pieno

Unità di per	Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
0	2	1	3	0	1	0	1	0	8	



Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale			
0	2	0	2			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Modelli animali di deficit neurocomportamentale: meccanismi di adattamento a stress

Dati generali

Progetto:Modelli animali per lo studio del comportamentoTipologia di ricerca:Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore:
Sede principale svolgimento:
Dip. di prevista afferenza:
Istituto di neuroscienze
Sezione di Roma
Scienze della Vita

Responsabile indicato: FRANCESCA ROMANA D'AMATO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Battaglia Mario	IV	Gorini Rosanna	П	Populin Roberta	V
Carrozzo Mauro Giovanni	V	Luvisetto Siro	Ш	Teule Anne Marie	П
D'Amato Francesca Romana	II	Moles Anna	Ш		
Ferri Alberto	Ш	Nucita Lorenzo	IV		
		Pavone Flaminia	II		

Temi

Tematiche di ricerca

L'utilizzo dei modelli animali per lo studio dei meccanismi di adattamento all'ambiente è fondamentale per la comprensione della fisiologia e della patologia di differenti sistemi, compreso il sistema neuro-comportamentale. Dal punto di vista dell'organismo l'adattamento assume forme diverse che sono alla base del concetto di plasticità nelle sue diverse forme, da quelle legate allo sviluppo, alla registrazione di nuove esperienze ai veri e propri meccanismi di adattamento allo stress.

Stato dell'arte

La ricerca in questo campo ha utilizzato modelli animali prevalentemente murini per evidenziare il ruolo di fattori genetici e ambientali nella espressione del comportamento spontaneo e delle capacità cognitive dell'animale, utilizzando differenti approcci sperimentali. La manipolazione delle due componenti (genetica e ambientale) e della loro interazione, permetterà di effettuare interventi terapeutici di tipo farmacologico e/o ambientale nella modulazione della risposta dell'animale.

Azioni

Attività da svolgere

1. Il ruolo dello stress sui processi di apprendimento e memoria; 2. Effetti dello stress postnatale sul profilo comportamentale, ormonale, e neurochimico in condizioni di base e in risposta allo stress; 3. Effetti dello stress postnatale sulla interazione madre-figlio e possibili deficit in età adulta; 4. Meccanismi di stress ossidativo in modelli animali per lo studio di deficit neuro-comportamentali;5) Effetti dello stress sui disturbi del comportamento alimentare e dell'obesità.

Punti critici e azioni da svolgere

La messa in funzione dei nuovi laboratori dopo il trasferimento nella nuova sede CERC rappresenta il punto critico per l'attività di quest'anno.. Dovremmo rimetterere a punto le strutture per la sperimentazione per poter terminare alcuni lavori interrotti ed iniziarne di nuovi. Stiamo progettando con un gruppo dell'EMBL la costruzione di un topo knockout che consentirebbe di approfondire la nostra ricerca sul ruolo del sistema oppioide sui disturbi del comportamento sociale.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Questa commessa si avvale sia delle compenze individuali, in termini di conoscenza, che della strumentazione a disposizione per portare avanti le ricerche di cui si occupa. L'approccio interdisciplinare e la disponibilità di attrezzature per indagare i viversi aspetti del comportamento animale ne fanno un punto di forza.

Collaborazioni (partner e committenti)

Sono in corso una collaborazioni con differenti gruppi di ricerca presso l'Università di Roma La Sapienza, e Tor Vergata, l'Università di Parma, l'Istituto Superiore di Sanità., l'Istituto San Raffaele Milano. EMBL Monterotondo. Dept Animal Physiology, Univ Groningen, The Netherlands. Dept Molecular Neuropharmacology, Krakow, Poland. CNRS ESBS Univ Louis Pasteur Strasbourg,



Finalità

Obiettivi

L'obiettivo di queste ricerche è la comprensione del ruolo dei fattori genetici e ambientali nei meccanismi di adattamento a condizioni alterate dell'ambiente interno ed esterno all'organismo. Un ambiente fisico e sociale alterato può promuovere risposte maladattative. La conoscenza di tali meccanismi di base di adattamento, può aiutare a riudurre, tramite interventi farmacologici e/o ambientali, i costi individuali e collettivi sia in termini economici che di sofferenza individuale.

Risultati attesi nell'anno

La pubblicazione di articoli scientifici su riviste basate sul criterio del peer-review, rappresenta il rsultato atteso della nostra attività di ricerca. Inoltre la presentazione della nostra attività in contesti scientifici quali convegni, seminari o altro, rappresenta il modo per presentarci sulla scena sia nazionale che internazionale per attirare l'interesse di possibili committenti.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Comprensione dei meccanismi di adattamento a stress e messa a punto di possibili terapie farmacologiche e/o comportamentali.

Moduli

Modulo: Modelli animali di deficit neurocomportamentale: meccanismi di

adattamento a stress - modelli animali

Istituto esecutore: Istituto di neuroscienze **Luogo di svolgimento attività:** Sezione di Roma

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	de Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
255	35	0	0	290	0	35	16	N.D.	306

Unità di persona	ale di ruolo*
ricercatori	Totale
4	6

^{*}equivalente tempo pieno

Un	Unità di personale non di ruolo									
as	sociato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Richiesta nuove unità di personale									
tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale									
1	1 1 0 2								

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Genomica e proteomica per lo studio e la salvaguardia della biodiversità



Analisi molecolare dell'interazione parassitaria Maruca vitrata - vigna unguiculata: la biodiversità come soluzione per produzioni vegetali sostenibili

Dati generali

Progetto: Genomica e proteomica per lo studio e la salvaguardia della biodiversità

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico **Istituto esecutore:** Istituto di genetica e biofisica "Adriano Buzzati Traverso"

Sede principale svolgimento:

Dip. di prevista afferenza:

Responsabile indicato:

Sede principale Istituto
Scienze della Vita
CATELLO POLITO

Elenco dei partecipanti

liv. liv. liv.

Temi

Tematiche di ricerca

A partire dalla vasta collezione di Vigna unguiculata valutaremo la capacità di differenti isolati del parassita Maruca vitrata di attaccare i vari cultivars. Dai dati delle biodiversità del vegetale e del lepidottero si potrà elaborare una strategia di lotta biologica integrata senza insetticidi e OGMs che, con opportuni incroci, permetta l'isolamento di piante immuni all'aggressione dei parassiti o di parassiti capaci di interferire con i meccanismi riproduttivi delle varianti più aggressive.

Stato dell'arte

Vigna unguiculata è una leguminosa coltivata principalmente in Africa come la principale sorgente di proteine, ma presente anche in Italia con il nome di fagiolo dall'occhio. Originaria della Nigeria, si caratterizza per la spiccata resistenza ai climi desertici. E' una ottima fonte di proteine e può diventare una valida alternativa alla soia nei mangimi zootecnici. Questo potenziale è limitato principalmente dal parassita Maruca vitrata che ne riduce la produttività fino all'80%.

Azioni

Attività da svolgere

Vari ceppi batterici del genere Rhizobium ed alcune linee di Vigna sono già in crescita presso le nostre strutture. Una parte dell'analisi genomica e proteomica è in corso utilizzando ceppi modello analoghi di cui sono disponibili i microarrays. Sono già in crescita larve di Maruca vitrata su cui è stata intrapresa l'anaisi del genoma. Si stanno accumulando linee clonali di cultivars di Vigna ed è in fase di allestimento una nurcery per consentire l'allevamento di vari isolati di Maruca vitrata.

Punti critici e azioni da svolgere

DNA microarray, gel bidimensionali seguiti da sequenziamento di peptidi per spettrometria di massa, saggi enzimatici, saggi di metaboliti, isolamento di mutanti nella cascata del sesso del dittero, mappatura di aree cromosomali alterate. Con queste tecnologie verranno identificati molti geni diagnostici nei vari sistemi modello. Si guardera all'interazione di vari cultivars cresciuti in serra e in campo, e vari lepidotteri di origine africana. E disponibile la strumentazione necessaria.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof. Ursula B. Priefer, Aachen, Germania. Prof Gisele Laguerre, INRA, Dijon, Francia. Dr. Adolphe Zeze, Departement Agriculture et Ressources Animales, Yamoussoukro, Cotè d'Ivoire. Dr Inamoud Ibny Yattara, Laboratoire de microbiologie des sols, Bamako, Mali. Prof Adam Toudou, Faculté d'Agronomie, Niger. Dr. Samba Sylla, Departement de Biologie Végétale, Dakar, Senegal. Organizzazioni degli agricoltori, agenzie regionali e nazionali per l'agricoltura, compagnie produttrici di sementi e piante.

Finalità

Obiettivi

Obiettivo primario è la descrizione di un protocollo operativo per consentire di proporre l'uso di Vigna unguiculata come alternativa sostenibile all'uso della soia nei mangimi zootecnici. Andranno integrate competenze di nutrizionisti zootecnici, allevatori, agronomi, genetisti vegetali, microbiologi, entomologi



molecolari con competenze nello studio della cascata del sesso in insetti dannosi in agricoltura, esperti di proteomica e genomica funzionale e nell'uso di array e e Real Time PCR.

Risultati attesi nell'anno

Otterremo protocolli per la caratterizzazione e la sensibilità di vari cultivars di Vigna unguiculata al parassita Maruca vitrata. Selezioneremo varianti selvatiche di ceppi di Rhizobi capaci di fornire composti azotati alla Leguminosa Vigna. Elaboreremo strategie di incrocio guidato dei vari cultivars e descriveremo la cascata dei geni per la determinazione del sesso in Maruca vitrtata. Verra' analizzata molecolarmente la biodiversita' dei lepidotteri, di Vigna e dei batteri azoto fissatori.

Potenziale impiego

- per processi produttivi
- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Risorse commessa 2006

ter	ers. mpo l/det	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
	1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
	0	0	0	0	0	0	0	0	N.D.	0

Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	Totale					
4	6					

^{*}equivalente tempo pieno

	Unità di personale non di ruolo									
associato dottorando borsista assegnista specializzando di ricerca visitatore professionale altro To							Totale			
	0	3	0	2	0	0	0	0	0	5

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale								
0	0 0 0							

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Liberazione, diffusione e deposizione delle componenti biologiche dell'atmosfera ed effetto sulla salute.

Dati generali

Progetto: Genomica e proteomica per lo studio e la salvaguardia della biodiversità

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare 'Alberto Monroy'

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:Giovanni Duro

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Albeggiani Giuseppe	Ш	Parisi Pietrina	V	Spera Donatella	VII
Bonsignore Giovanni	DIRE	Riccobono Daniela	VII	Tarantino Provvidenza	VII
Cavoli Francesca	VIII	Sanzone Sabrina	VII	Turatto Rosa	VII
Duro Giovanni	Ш				

Temi

Tematiche di ricerca

E in atto una collaborazione tra l'IBIM-CNR, l'ARPA Sicilia e l'UniPa, tesa a creare una rete di monitoraggio pollinico in Sicilia. La presenza nell'atmosfera di pollini derivanti dalla fioritura di piante ed erbe può causare manifestazioni allergiche in soggetti, il più delle volte predisposti, che accusano una serie di sintomi, dai più lievi (congiuntivite, rinite) ai più gravi (asma), incidendo profondamente sulla loro qualità di vita, con un importante risvolto in campo sociale e in termini di spesa sanitaria. L'interesse è oggi rivolto ai processi di rilascio, trasporto e deposito di particelle allergeniche, in modo da produrre conoscenze per interventi di prevenzione di malattie e riduzione dei rischi ambientali. Il contributo che l'Aerobiologia può dare con il monitoraggio in continuo dei pollini e delle particelle aerodisperse non è limitato soltanto al campo della medicina, e in particolare all'allergologia, con lo studio dei pollini e spore aerodiffuse, ma si estende anche ad altri settori quali l'agricoltura, la fitopatologia, la conservazione dei beni culturali nonchè allo studio della biodiversità, del clima e dell'inquinamento atmosferico.

Stato dell'arte

La rete regionale di monitoraggio dei pollini allergenici, gestita dall'IBIM-C.N.R. in collaborazione con ARPA Sicilia, ed UniPA, è costituita da n 4 stazioni localizzate nella Sicilia Occidentale e n 4 nella Sicilia orientale. I campionatori pollinici sono stati situati in area urbana, rispettando lo standard operativo messo a punto dall'Associazione Italiana di Aerobiologia (AIA). Sono stati inoltre "assunti" con contratti CNR, a tempo determinato 2005/08, tre biologi che lavoreranno al progetto.

Azioni

Attività da svolgere

2006: posizionamento "pollen traps" standardizzazione dei metodi di prelevamento, reperimento soggetti allergici e non (controlli), preparazione sieri e DNA, attivazione software analitici, estrazione delle proteine da polline studio biodiversità. 2007: identificazione e caratterizzazione di nuovi allergeni su mappe proteomiche; analisi di specifici polimorfismi genici correlabili con il fenomeno allergico; acquisizione ed elaborazione dei dati relativi al monitoraggio di pollini e spore fungine in Sicilia, dati che verranno messi a disposizione dei centri di controllo Siciliani e Nazionale.

Punti critici e azioni da svolgere

Non si prevedono particolari ostacoli al raggiungimento dei risultati previsti. Al monitoraggio pollinico è associato anche l'analisi chimico-fisica del materiale veicolato dai pollini. La determinazione analitica e quantitativa, con analisi chimica delle sostanze inquinanti presenti nei campioni di polline, mediante spettroscopia ed altre metodologie, sarà eseguita in collaborazione con i laboratori DAP dell'Agenzia Regionale Protezione Ambiente (ARPA-Sicilia).

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

In questo progetto sono previste sia competenze di Biologia molecolare che tecniche di microscopia ottica. Messa a punto in laboratorio della osservazione ed identificazione delle specie polliniche presenti nei campioni ottenuti dopo raccolta ad intervalli settimanali; Inizio raccolta dei sieri e dei DNA genomici da soggetti allergici; Messa a punto delle metodologie per la estrazione delle proteine da polline; Messa a punto



delle metodologie per l'analisi elettroforetica delle proteine estratte da polline; Identificazione e caratterizzazione di nuovi allergeni su mappe proteomiche ottenute da polline. Analisi di specifici polimorfismi genici correlabili con il fenomeno allergico. Organizzazione seminari durante lo sviluppo dell'attività progettuale ed al termine del triennio (2008). Valutazione dei dati e pubblicazione.

Collaborazioni (partner e committenti)

committenti: Agenzia Regionale Protezione Ambiente della Sicilia (ARPA SICILIA). Assessorato Pubblica Istruzione Comune di Palermo.partner: Prof. G. De Leo e Prof. Riccardo Alessandro "Dipartimento Biopatologia e Metodologie Biomediche" dell'Università di Palermo".collaborazioni: Jeffrey A. Medin, PhD, Associate Professor Department of Medical Biophysics University of Toronto. Prof. Gabriele Di Lorenzo responsible del "Laboratorio di Malattie Allergiche presso il Policlinico di Palermo"; Comune di Alcamo (Tp; Banca di credito cooperativa DonRizzo; IZP di Catania; Comune di Agira (Enna); Comune di Leonforte (Enna).

Finalità

Obiettivi

Grazie agli studi di Aerobiologia, che vengono effettuati servendosi di attrezzature specifiche, i 'campionatori pollinici', è possibile identificare i pollini e le spore fungine, studiarne i periodi di presenza nell'atmosfera, quantificarne la concentrazione. I dati relativi al campionamento sono finalizzati alla redazione ed alla diffusione di un bollettino di analisi regionale che, previa interpretazione socio sanitaria, genetica ed epidemiologica, consenta di informare i soggetti allergici ed il personale Medico, con susseguenti risvolti pratici in termini di diagnosi, terapie preventive e sintomatiche. Inoltre le conoscenze acquisite potrebbero essere utilizzate per lo sviluppo di test diagnostici e terapie mirate. Il progetto prevede inoltre : a) analisi proteomica di granuli pollinici per l'individuazione di nuovi allergeni (salvaguardia della biodiversità). b) studio dei polimorfismi genetici: variabilità individuale alla risposta immunitaria allergica.

Risultati attesi nell'anno

Durante il primo anno prevediamo: posizionamento "pollen traps" (Campionatore volumetrico), standardizzazione dei metodi di prelevamento, formazione del personale coinvolto nel progetto, reperimento soggetti allergici e non (controlli), preparazione sieri e DNA, attivazione software analitici, estrazione delle proteine da polline. Elaborazione primi dati del monitoraggio.

Potenziale impiego - per processi produttivi

Moduli

Modulo: Nuovi pollini provenienti da coltivazioni OGM? studio della

biodiversità

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Pers. tempo ind/det	Funz.+ Invest.	I de Fonti	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
115	33	122	33	303	45	200	21	N.D.	369

Unità di person	Unità di personale di ruolo*						
ricercatori	ricercatori Totale						
2	3						

^{*}equivalente tempo pieno

⁻ per risposte a bisogni individuali e collettivi



Unità di per	Unità di personale non di ruolo								
associato dottorando borsista assegnista specializzando di ricerca visitatore professionale altro Totale									
N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Richiesta nuove unità di personale								
tempo determinato tempo indet non di ruolo* Totale								
0 0 0								

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca



Individuazione, recupero e conservazione della biodiversità dei lieviti siciliani e loro catalogazione territoriale.

Dati generali

Progetto: Genomica e proteomica per lo studio e la salvaguardia della biodiversità

Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico

Istituto esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monrov"

Sede principale svolgimento:Sede principale IstitutoDip. di prevista afferenza:Scienze della VitaResponsabile indicato:FRANCESCO DI BLASI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Bonsignore Giovanni	DIRE	Parisi Pietrina	V	Tarantino Provvidenza	VII
Bonura Angela	Ш	Riccobono Daniela	VII	Turatto Rosa	VII
Cavoli Francesca	VIII	Romancino Daniele	Ш		
Di Blasi Francesco	Ш	Sanzone Sabrina	VII		
		Spera Donatella	VII		

Temi

Tematiche di ricerca

La Sicilia e le sue isole minori costituiscono una immenso serbatoio di biodiversità e cio` grazie anche alla eterogeneità del suo territorio. Ad oggi in Sicilia non è stato realizzato alcun censimento microbiologico. L'uso continuo e massivo di fitofarmaci e di fertilizzanti chimici ha determinato una diminuizione della varietà dei lieviti di alcuni habitat. Si rende necessaria l'individuazione, il recupero e la conservazione di lieviti provenienti da diverse territori siciliani. Tali lieviti saranno caratterizzati con metodologie convenzionali e molecolari. Applicando sia analisi morfologiche che tecniche di analisi molecolari, si condurranno ricerche sull'impatto che differenti pressioni antropiche hanno sulla biodiversità dei lieviti. Sarà effettuato un inventario dei lieviti in funzione dell'habitat di riferimento che potrà essere utilizzato come bioindicatore di fattori di stress ambientali.

Stato dell'arte

Tra le varie forme di ricchezza di un Paese (materiale, culturale, biologica), quella biologica (biodiversità) è stata finora sottovalutata. Tale ricchezza consiste nell'enorme numero di informazioni genetiche possedute da ciascuna specie, anche la più piccola. La varietà della vita in tutte le sue forme e combinazioni, puo` essere rappresentata in varietà dei geni, delle specie e degli ecosistemi. Con la crescita dell'inquinamento e di conseguenza delle condizioni di stress diminuisce la varietà delle specie. I microorganismi ed in particolare i lieviti contribuiscono in modo fondamentale all'equilibrio di molteplici ecosistemi. Essi possono essere utilizzati come bioindicatori, ed inoltre influenzano direttamente la qualità di alimenti e bevande trasmettendo delle caratteristiche tipiche di un determinato territorio.

Azioni

Attività da svolgere

Analisi territoriale ed identificazione di habitat specifici. Sopralluoghi e campionatura. Validazione di procedure tecniche d'isolamento di lieviti. Analisi morfologiche e molecolari di lieviti e loro classificazione. Isolamento e crioconservazione in tubi da collezione. Test fisiologici e tecnologici sugli isolati. Estrazione DNA e fingerprinting genomico di isolati con PCR. Determinazione di parametri biologici di popolazioni di lievito in condizioni di stress.

Punti critici e azioni da svolgere

Isolamento di varietà geneticamente distinte di lieviti in funzione dell'habitat di riferimento.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Il gruppo di ricerca da me diretto è impegnato in in un progetto di studio delle popolazioni di lieviti in aree specifiche della Sicila. Le tecniche di indagine prevedono metodologie convenzionali e molecolari. Isolamento di ceppi differnti in opportuni terreni selettivi. Analisi morfologica al microscopio. Analisi molecolare tramite PCR delle sequenze ITS dei DNA ribosomali per l'identificazione della specie. La distinzione dei diversi isolati verrà realizzata attraverso l'analisi dei RFLP del DNA mitocondriale. Analisi bioinformatica dei geni e delle popolazioni dei lieviti.



Collaborazioni (partner e committenti)

Committente:Assessorato Agricoltura e Foreste della Regione Sicila; Partner: Istituto di genetica vegetale (IGV)-CNR; Dip. Biologia Cellulare e Sviluppo Università di Palermo; Istituto Regionale della Vite e del Vino – Regione SiciliaCNRS Bordeaux, France; INRA Bordeaux, France. Piccole e medie imprese

Finalità

Objettivi

Isolamento di differenti colonie di lievito per habitat di riferimento. Analisi quantitativa, morfologica e molecolare. Elaborazione statistica ed analisi bioinformatica per identificare popolazioni di lieviti correlati a specifiche condizioni di inquinamento ambientale. Utilizzo dei lieviti come biosensori. Creazione di una "microbanca" di lieviti a carattere territoriale.

Risultati attesi nell'anno

Isolamento di almeno 50 lieviti isolati in due aree geograficamente distinte del territorio siciliano.Caratterizzazione morfologica e molecolare di tali isolati.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Il potenziale impiego dei risultati della ricerca per processi produttivi sono rappresentate da:utilizzo di lieviti autoctoni per la produzione di alimenti ed in particolar modo di vini. L'impronta sensoriale del vino è di fondamentale importanza per la definizione della qualità del prodotto. A parità di altre condizioni, la vinificazione con diversi ceppi di lievito determina prodotti che si distinguono tra loro all'analisi sensoriale e chimica. Poichè una parte crescente del mercato richiede vini fortemente legati al territorio di produzione ed essendo i lieviti elementi importanti nel determinare le caratteristiche qualitative del prodotto finale, risulta chiaro l'interesse per le popolazioni di lieviti autoctoni responsabili delle fermentazioni in determinate aree geografiche. Possibilità di commercializzazione di ceppi di lievito e godimento delle relative royalty.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Possibilità di utilizzo dei lieviti come bioidicatori degli equilibri naturali e delle condizioni di stress ambientale.

Moduli

Modulo: (SV.P12.003) Individuazione, recupero e conservazione della

biodiversità dei lieviti siciliani e loro catalogazione territoriale. Istituto di biomedicina e immunologia molecolare 'Alberto Monroy'

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2006

Istituto esecutore:

Pers. tempo ind/de	Funz.+ Invest.	Spese da Fonti Esterne	Spese per Infrastrutt. tecn scient a gestione accentrata	Totale	Risorse da esercizi precedenti	Massa Spendibile	Costi figurativi	Spese generali accentrate	Valore Effettivo
1	2	3	4	5=1+2+3+4	6	7=2+3+6	8	9	10=5+6+8+9
103	44	90	33	270	5	139	20	N.D.	295

Unità di personale di ruolo*				
ricercatori	Totale			
2	3			

^{*}equivalente tempo pieno

Ī	Unità di per	Inità di personale non di ruolo									
	associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale	
ĺ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	



Richiesta nuove unità di personale						
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale			
0	0	0	0			

^{*}dottorati, borse d i studio, assegni di ricerca