



Consiglio Nazionale delle Ricerche

PIANO ANNUALE 2007

Preliminare

Scienze della Vita

Elenco dei Progetti:

Funzione, regolazione ed evoluzione dei genomi eucariotici

Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari

Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare

Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e del comportamento

Meccanismi di adattamento a stress e biodiversità

Bioinformatica e biologia computazionale



Funzione, regolazione ed evoluzione dei genomi eucariotici



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:	Funzione, regolazione ed evoluzione dei genomi eucariotici
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di genetica molecolare
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	GIUSEPPE BIAMONTI

Elenco dei partecipanti

Bagarotti Cristina	liv. VII	Gallo Balma Maria Fede	liv. V	Lussignoli Stefano	liv. III
Biamonti Giuseppe	I	Ghigna Claudia	III	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				

Tem

Tematiche di ricerca

A- Studiare la modulazione dello splicing in seguito a stress. La ricerca si occuperà di chiarire i seguenti punti:

- 1) caratterizzare i ncRNA codificati dal DNA satellite III in cellule normali e stressate;
- 2) identificare per analisi in silico clusters di Satellite III nel genoma e studiare il profilo di espressione/splicing dei geni associati;
- 3) definire i tipi di stress in vitro ed in vivo che attivano la trascrizione di Satellite III;
- 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 tumorigenesi: 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 l'insorgenza delle metastasi; 3) studiare la possibilità di correggere lo splicing alternativo di Ron

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 tumorigenesi. 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 cellule tumorali sono sottoposte. Alcuni tipi di stress inducono la formazione di compartimenti nucleari detti "stress bodies" che si formano su regioni eterocromatiche del genoma e che sono siti di trascrizione di RNA non-codificanti. Questi ncRNA reclutano specifiche RNA binding proteins negli stress bodies, alterando il programma di splicing alternativo dei geni.



Azioni

Attività da svolgere

A- Caratterizzazione dei SatIII RNA.

- 1) Studio dell'espressione, dello stato cromatinico e dello splicing alternativo dei geni associati a cluster di SatIII nel genoma umano. Lo studio verrà fatto in cellule normali e in cellule con alterazioni della struttura cromatinica (es. Progeria con mutazioni della lamina A).
- 2) Studio dei complessi nucleoproteici associati ai trascritti di SatIII.
- 3) Isolamento e caratterizzazione di piccoli RNA di SatIII.

B- Splicing alternativo del proto-oncogene Ron.

- 1) Identificazione di nuovi fattori che regolano lo splicing di Ron.
- 2) Sviluppo di farmaci e di molecole oligonucleotidiche in grado di regolare lo splicing del gene e di correggere il fenotipo metastatico delle cellule.
- 3) Analisi di segnali che modulano lo splicing alternativo del gene Ron.

Punti critici e azioni da svolgere

A- Caratterizzazione dei SatIII RNA. Un punto critico per lo studio dei complessi nucleoproteici assemblati sul SatIII RNA è lo sviluppo di un clone che esprima il fattore di splicing SRp30c fuso al Tap-Tag. Questa tag permette di purificare su 2 successive colonne di affinità complessi multiproteici. I complessi verranno poi analizzati tramite mass spec. in collaborazione con il gruppo del Prof. Baralle a Trieste.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

La commessa ha competenze in:

- 1) metodiche relative allo studio dell'RNA (isolamento di RNA, Northern blotting, trascrizione in vitro, purificazione e clonaggio di small RNA);
- 2) biologia cellulare (colture cellulari in varie condizioni di crescita, transfezioni transienti e stabili, immunofluorescenza, ibridazioni in situ, analisi al microscopio confocale di cellule fissate ed in vivo, marcature in vivo);
- 3) biologia molecolare (clonaggi, espressione di proteine in sistemi eterologhi, RT-PCR e real-time PCR, Immunoprecipitazione, traduzione in vitro, western blotting, marcatura di proteine in vivo, vaglio di collezioni di cDNA con anticorpi o con saggi funzionali tipo One- Two- e Three- hybrid in lievito);
- 4) analisi biochimiche (purificazioni di enzimi e frazionamenti cellulari).

Strumentazione

Strumenti per gel elettroforesi (proteine ed acidi nucleici), termociclatori, microscopio a fluorescenza dotato di CCD camera e termostato, confocale Leica, centrifughe ed ultracentrifuga, camera radioattiva, camera sterile per colture cellulari, laboratorio attrezzato per esperimenti di Biologia Molecolare, Typhoon GE a tre canali per l'analisi di campioni radioattivi e fluorescenti.

Tecniche di indagine

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof. F. Baralle ICGB - 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 cellulare

Prof. Michael Green - Howard Hughes Medical Institute, University of

Massachusetts Medical School, USA. Interazione tra SF2/ASF e trascritti di Ron

Prof. Jamal Tazi, Université Montpellier II- Métabolisme des ARN messagers. Sviluppo di inibitori dello splicing alternativo di specifici geni da utilizzare per approcci terapeutici

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Verrà valutata la possibilità di applicare al 7 Programma Quadro di Ricerca e Sviluppo Tecnologico dell'UE. Si cercherà di stabilire un network all'interno del Network of Excellence di cui questa unità fa parte.



Finalità

Obiettivi

- A- 1) Messa a punto di metodiche di quantificazione dei trascritti di Satellite III in cellule stressate o cresciute in condizioni normali;
3) Caratterizzazione dei complessi ribonucleoproteici associati ai trascritti;
4) Ruolo dei trascritti indotti da stress nella regolazione dello splicing alternativo.
5) Identificazione dei tipi di stress da cui vengono indotti.
5) Studio del possibile processamento dei trascritti in piccoli RNA;
6) Ruolo del DNA e dell'RNA satellite III nel controllo epigenetico di geni associati ai cluster di satellite III nel genoma.
- 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 l'ipossia e la densità cellulare 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, RNAi o farmaci per curare lo splicing alternativo di Ron in vitro ed in vivo.

Risultati attesi nell'anno

A- Caratterizzazione dei SatIII RNA.

- 1) Pubblicazioni scientifiche. Un lavoro che descrive l'effetto dei vari stress su l'espressione di SatIII è in preparazione.
- 2) Creazione di un clone cellulare per l'espressione di SRp30c fuso a Tap-Tag.
- 3) Analisi dei livelli di espressione di geni associati a clusters di SatIII.

B- Splicing alternativo del proto-oncogene Ron.

- 1) Identificazione di molecole in grado di curare lo splicing di Ron.
- 2) Identificazione di nuove proteine che modulano lo splicing alternativo dell'esone 11 di Ron.

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 International con cui è già in corso una collaborazione. 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 si occupa un campo di analisi fino ad ora sottovalutato, ovvero il ruolo dello splicing alternativo nella progressione tumorale e nella risposta a condizioni stressanti. 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 2007

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
259	35	84	0	378	59	178	41	N.D.	478

valori in migliaia di euro



<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
3	5

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	1	1	2

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Biogenesi delle Membrane di Trasduzione dell'Energia.

Dati generali

Progetto:	Funzione, regolazione ed evoluzione dei genomi eucariotici
Tipologia 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 GDALETA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Ceci Luigi Ruggiero	II	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. È 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, dei domini della RNA polimerasi mitocondriale coinvolti nella terminazione della trascrizione in presenza del fattore mtDBP. Studio del fenotipo knock-down e di over-espressione del fattore di terminazione della trascrizione DmTTF e di suoi omologhi in cellule di *Drosophila*. Ruolo dello stress ossidativo nell'atrofia muscolare da disuso. Analisi proteomica di mitocondri di fegato ratto vecchio. Relazione tra polimorfismi, aplogruppi e contenuto di DNA mitocondriale in soggetti con diabete di tipo 2. Studio della nitrosilazione di proteine plasmatiche e lipoproteina Lp(a) in seguito a stress ossidativo. Studio dell'induzione di citochine e metalloproteasi da parte di Lp(a) in cellule nervose in coltura. Espressione e caratterizzazione (attività e dicroismo circolare) di retro-mutanti di IP selezionati per phage display. Completamento dell'analisi proteomica del batterio *R. sphaeroides* cresciuto in presenza di metalli. Ricerca delle sequenze di regolazione dei geni LHCb1 in spinacio. Produzione di bevande ad attività anti-ipertensiva. Ruolo di specifiche presequenze per aminoacil-sintetasi nell'import di tRNA in mitocondri di piante.

Punti critici e azioni da svolgere

Espressione in cellule d'insetto e purificazione del dominio C-term della RNAPol mitoc, sua caratterizzazione biochimica. Studio delle interazioni RNAPol-mtDBP con metodi immunologici. Caratterizzazione biochimica e molecolare dei fenotipi k-d e di over-espressione di DmTTF e di omologhi tramite dosaggio del DNA e dei trascritti mitoc; studio della sintesi proteica. Analisi dei livelli proteici mediante western blot e elettroforesi bidimensionale differenziale di mitocondri e di tessuti di ratto. Misura dei livelli di mtDNA in soggetti



diabetici. Analisi western blot del pattern di nitrosilazione delle proteine in campioni di plasma e liquor. Studi di espressione in cellule in coltura di citochine e metalloproteasi mediante real-time PCR e ELISA. L'analisi per retromutazione dei mutanti di MTI2 interesserà codoni intorno al sito reattivo. Verranno adottate tecniche di genome walking per identificare regioni a monte dei geni Lhcb1. La produzione di peptidi bioattivi sarà modificata per di produrre quantità idonee alla produzione di bevande. Clonaggio ed espressione di cDNA di aminoacil-sintetasi; test di import in-vitro di tRNA marcati in presenza di pre-aminoacil sintetasi ricombinanti.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Competenze di biochimica, biologia molecolare, biologia cellulare, genomica, proteomica e bio-informatica sono largamente rappresentate tra i ricercatori partecipanti.

Strumentazione

Strumentazione di base per studi di biochimica, biologia molecolare, biologia cellulare, genomica, proteomica e bio-informatica. Strumenti di particolare rilievo sono: ultracentrifuga, Real-time PCR (Applied Biosystem, 7000), microscopi a luce trasmessa e fluorescenza con sistema di acquisizione di immagini mediante CCD camera (Zeiss), sistema di analisi di immagini KS300 (Zeiss), microtomo criostato (Microm), sistema per elettroforesi bidimensionale (GE healthcare).

Tecniche di indagine

Tecniche di indagine dell'espressione genica (macro- e micro-arrays, Real-time PCR, 2D elettroforesi); tecniche di indagine della funzione genica (mutanti con perdita di funzione, RNA interference, dominanti negativi e positivi); tecniche di indagine dell'interazione proteina-proteina (two hybrid in lievito, phage display).

Tecniche di purificazione delle proteine; 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; Ingegnerizzazione di sequenze geniche identificate e loro utilizzo per l'espressione in sistemi procariotici (batteri) ed eucariotici (lieviti e piante); Saggi biochimici per determinare l'attività di enzimi e peptidi attivi. DNA uptake, run-on e run-off. Trascrizione in organello.

Tecnologie

Tecnologia del DNA ricombinante; Tecnologie dell'RNA; Biotecnologie vegetali.

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.

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Trasferimento delle conoscenze acquisite alle industrie del settore biotecnologico e farmaceutico ed acquisizioni di eventuali brevetti. Partecipazione a programmi di ricerca nazionali e internazionali.

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

Identificazione dei domini enzimatici responsabili della terminazione della trascrizione. Definizione del ruolo di DmTTF e dei suoi omologhi nella biogenesi mitocondriale. Fattori coinvolti nella stimolazione della biogenesi mitocondriale modulati da acetil-L-carnitina e dalla restrizione calorica. Associazione tra polimorfismi e quantità di mtDNA nel diabete di tipo 2. Valutazione dello stato di ossidazione dei campioni di plasma e liquor mediante l'individuazione di un profilo di nitrosilazione delle proteine, e degli effetti di Lp(a)



sulle cellule nervose. Sviluppo di nuovi inibitori di proteasi efficaci contro le proteasi di insetto. Acquisizione di conoscenze sull'organizzazione del fotosistema II nello spinacio. Identificazione proteine coinvolte nella resistenza ai metalli in batteri. Produzione di alimenti funzionali ad attività anti-ipertensiva. Definizione del ruolo della pre-glycyl tRNA sintetasi per l'import del tRNA-Gly (GCC).

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Alimenti funzionali, Purificazione, Sintesi, Proteine.

I biopeptidi ad azione anti-ipertensiva (coperti da brevetto) potranno essere utilizzati per la preparazione 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 2007

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
177	19	76	0	272	21	116	24	N.D.	317

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
3	4

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	3	0	3

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Plasticità genomica: dal genoma ai sistemi biologici

Dati generali

Progetto:	Funzione, regolazione ed evoluzione dei genomi eucariotici
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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	ALFREDO CICCODICOLA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Aliperti Anna Maria	VII	Di Giulio Massimo	III	Miele Elia	VI
Andone Silvia	V	Esposito Bruno	IV	Morelli Francesco	III
Baiano Salvatore	VII	Esposito Teresa	III	Noviello Ciro	V
Beato Antonio	IV	Forlani Giovanni	IV	Pellicano' Domenico	VIII
Bellopede Annunziata	VII	Franco Alfredo	VII	Pinto Anna Maria	IV
Ciccodicola Alfredo	II	Franze' Annamaria	III	Ragosta Giuseppe	VII
Cozzuto Luigi	VIII	Gianfrancesco Fernando	III	Rallo Claudia	VI
DEsposito Maurizio	II	Grimaldi Giovanna	I	Russo Alessandra	VII
De Falco Antonio	VI	Imperato Giovanni	VI	Sarracino Fabiana	VIII
De Falco Vincenzo	VII	Imperiali Lauretana	IV	Secondulfo Antonietta	VI
De Luise Bruno	IV	La Volpe Adriana	II	Tuorto Francesca	III
Desideri Carmela	IV	Lauro Pasquale	VII	Vado Luciano	V
Di Giacomo Alfredo	VII	Manna Filomena	V		

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 di meccanismi molecolari che determinano condizioni patologiche monogeniche e/o multigeniche.
- Studi sul ruolo del epigenoma nei meccanismi di memoria ed identità cellulare.
- Studi sulla 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 l'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

Analisi dell'evoluzione del genoma in organismi modello, con particolare riguardo alle famiglie multigeniche. Caratterizzazione di trascritti, promotori e sequenze conservate non codificanti. Studio dei meccanismi di silenziamento genico e imprinting epigenomico, di splicing alternativo, di ricombinazione e riparazione omologa e conseguenti alterazioni di tali processi. Studi molecolari alla base di processi patogenetici e comprensione dei meccanismi di deregolazione genetica. Studio di networks molecolari e patterns di espressione nella determinazione e mantenimento dell'identità cellulare e di funzioni complesse. Studi sui geni evolutivamente conservati coinvolti nella sensibilità al danno da agenti ICL e intearzioni con checkpoint durante lo sviluppo di *C. elegans*. Studi di topologia nucleare, modulazione farmacologica in patologie genetiche. Diagnostica molecolare non invasiva in patologie genetiche.

Punti critici e azioni da svolgere

Reperimento di ulteriori fondi necessari al completo svolgimento delle ricerche pertinenti alla presente commessa. Disponibilità di nuove unità di personale.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Competenze nel campo della biologia molecolare e cellulare, anche comprovata dalle numerose pubblicazioni dei ricercatori afferenti alla presente commessa. Tali competenze scientifiche riguardano: lo studio dell'espressione genica e della regolazione cellulare nei processi molecolari. L'analisi del mantenimento dell'inattivazione del cromosoma X a livello cromatinico. Studi di correlazione tra la metilazione del DNA e topologia nucleare in malattie genetiche umane. Diagnosi non invasiva di patologie genetiche tramite applicazioni della metilazione del DNA. Studi di genetica molecolare e citogenetica sul genoma di *C. elegans*. L'analisi bioinformatica del genoma, del trascrittoma e del proteoma. L'analisi dei meccanismi molecolari di patologie genetiche. L'analisi di processi molecolari coinvolti nella trasformazione neoplastica. Analisi filogenetiche.

Strumentazione

Strumentazione di base in uso in laboratori di biologia molecolare e cellulare. In particolare le seguenti apparecchiature sono essenziali per lo svolgimento delle attività della presente commessa:

Apparecchi per la PCR.
Apparecchi per la Real Time PCR.
Microscopi ottici per DNA FISH (localizzazione nucleare 3D) e RNA FISH (espressione genica).
Sequenziatori automatici del DNA.
Dispositivi per l'ibridazione di microarray e loro analisi.
Servers locali e remoti; rete Lan e Wan su nodo GAR e computers dedicati ad analisi bioinformatiche.
Locali per la stabulazione di animali modello.

Tecniche di indagine

Tecniche di indagine comunemente in uso in laboratori di biologia molecolare e cellulare. Particolari metodologie impiegate per lo svolgimento delle attività della presente commessa sono:
Purificazioni di DNA, mRNA e sintesi di cDNA da batteri non patogeni, tessuti e linee cellulari.
Clonaggio di frammenti genomici.
Analisi dell'espressione genica.
Immunoprecipitazione della cromatina.
Analisi della metilazione del DNA a livello genomico.
Analisi della localizzazione nucleare e dell'espressione allele specifica.
Sequenziamento del DNA.
Ibridazione in situ.
Analisi di genotipizzazione e linkage.
Analisi per l'identificazione di alterazioni genetiche.
Analisi dell'espressione di specifiche sequenze geniche durante la progressione tumorale.
Set-up di procedure bioinformatiche riguardanti l'analisi su larga scala di dati relativi a famiglie di sequenze nucleotidiche e proteiche.
Set-up di procedure bioinformatiche per l'identificazione ed estrazione di informazioni da banche dati di sequenza e uso softwares per analisi di clusters filogenetici e fisici.
Analisi filogenetiche, test statistici, comparazione di proteine, analisi evolutive.



Tecnologie

Le tecnologie che potrebbero essere impiegate per il conseguimento degli obiettivi della presente commessa, prevedono lo sviluppo di modelli animali o cellulari ricombinanti per l'analisi di patologie genetiche e terapie farmacologiche.

Collaborazioni (partner e committenti)

Le ricerche in oggetto sono frutto della collaborazione con:

Divisione di Neurologia, Ospedale Civile di Verona.

Ospedale San Giovanni di Roma.

Unità di Neurologia Pediatrica del Dip. di Neuroscienze dell'Univ. 'Tor Vergata' di Roma.

Istituto di Biochimica delle Proteine (CNR) di Napoli.

Istituto TIGEM di Napoli.

Università di Benevento.

ITB, Sez. Bioinformatica e Genomica, CNR-Bari.

Ospedale Cardarelli di Napoli.

PRIMM sezione di Napoli.

Dip. di Neuroscienze-Unità di Audiologia, Dip. di Medicina Clinica e Sperimentale, Univ. 'Federico II', Napoli.

Ist. VIMM, Padova.

IRCCS Burlo Garofolo, Trieste.

IRCCS Neuromed-Unità di Neurogenetica, Pozzilli (IS).

IRCCS G. Pascale, Napoli.

Azienda ospedaliera ASLSA1 e ASLSA3.

Univ. of North Carolina, Durham, NC, USA.

Griffith Univ. Dep. of Health Science, Gold Coast, Australia.

Dip. di Neurologia e Dip. di Patologia, Seconda Univ. di Napoli.

Dep. of Molecular & Cellular Biology, Harvard Univ. Cambridge, MA, USA.

MRC-Human Genetics Unit Edimburgo e Londra.

Univ. Cattolica, Roma.

Univ. of Warwick, UK.

Institut Monod, France.

Università di Padova.

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Ciascun partecipante alla presente commessa ha presentato nel 2006 e presenterà durante il corso del 2007 proposte di finanziamento a agenzie nazionali ed estere per la prosecuzione delle attività della presente commessa.

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, Annamaria Franzè, Teresa Esposito, Fernando Gianfrancesco, 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).

- Studi molecolari alla base di processi patogenetici e comprensione dei meccanismi di deregolazione genetica (Alfredo Ciccodicola, Maurizio D'Esposito, Annamaria Franzè, Teresa Esposito, Fernando Gianfrancesco e Adriana La Volpe).

- Studio di networks molecolari e patterns di espressione nella determinazione e mantenimento dell'identità cellulare e di funzioni complesse (Francesco Morelli, Alfredo Ciccodicola e Maurizio D'Esposito).

Risultati attesi nell'anno

Pubblicazione dei risultati derivanti dalle attività della presente commessa su riviste scientifiche internazionali con Impact Factor e presentazione di dati in congressi nazionali ed internazionali.

Sviluppo di kit diagnostici e brevetti.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Il potenziale impiego delle attività di ricerca della presente commessa che potrebbero essere utilizzate in processi produttivi sono:

Clonaggio di sequenze geniche per industrie biotecnologiche di interesse in campo biosanitario.

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



Sviluppo di plasmidi e/o virus ricombinanti per l'allestimento di terapie preventive per la cura di patologie genetiche e neoplasie.

Sviluppo di protocolli per il trattamento farmacologico di patologie genetiche.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Il potenziale impiego delle attività di ricerca della presente commessa che potrebbero essere utilizzate in risposta a bisogni individuali e/o collettivi sono:

Clonaggio di sequenze geniche di interesse biosanitario.

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

Sviluppo di plasmidi e/o virus ricombinanti per l'allestimento di terapie preventive per la cura di patologie genetiche e neoplasie.

Sviluppo di protocolli per il trattamento farmacologico di patologie genetiche.

Moduli

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

Risorse commessa 2007

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
548	79	60	1	688	95	234	193	N.D.	976

valori in migliaia di euro

Unità di personale di ruolo*	
ricercatori	Totale
7	11

*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	6	0	6

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



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

Dati generali

Progetto:	Funzione, regolazione ed evoluzione dei genomi eucariotici
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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	MATILDE URSINI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Acampora Dario	II	Di Giacomo Alfredo	VII	Noviello Ciro	V
Aliperti Anna Maria	VII	Di Giulio Massimo	III	Pellicano' Domenico	VIII
Andone Silvia	V	Esposito Bruno	IV	Pinto Anna Maria	IV
Beato Antonio	IV	Forlani Giovanni	IV	Porzio Concetta	VII
Bellopede Annunziata	VII	Imperato Giovanni	VI	Ragosta Giuseppe	VII
Cavaliere Daniela	V	Imperiali Lauretana	IV	Rallo Claudia	VI
Cermola Michele	V	Lacerra Giuseppina	III	Russo Alessandra	VII
Cozzuto Luigi	VIII	Lauro Pasquale	VII	Sarracino Fabiana	VIII
De Angioletti Maria	III	Manna Filomena	V	Secondulfo Antonietta	VI
De Falco Antonio	VI	Matarazzo Maria Rosaria	III	Simeone Antonio	I
De Falco Vincenzo	VII	Miano Maria Giuseppina	III	Ursini Matilde	II
De Luise Bruno	IV	Miele Elia	VI	Vado Luciano	V
Desideri Carmela	IV				

Temi

Tematiche di ricerca

La finalità della presente commessa attiene alla identificazione delle alterazioni genomiche e/o della variabilità allelica di geni responsabili dei 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 quali l'interrogazione di banche dati di più recente generazione.

Stato dell'arte

Nei laboratori afferenti alla presente commessa sono in corso studi numerose malattie genetiche monogeniche e multifattoriali.

Una vasta casistica è già stata raccolta per quel che riguarda le talassemie, le displasie ectodermiche (con particolare riguardo all'Incontinentia Pigmenti), ritardo mentale associato al cromosoma X, riarrangiamenti cromosomici dell'X, immunodeficienze X-linked,

Sindrome autistica, Sindrome di Down, malattia di Alzheimer (AD) e malattia coronarica (CAD).

Azioni

Attività da svolgere

Combinazione di approcci di studio genomico, proteomico, biochimico-molecolare e morfo-strutturale in una sequenza operativa ben definita di analisi tra di loro strettamente correlate:

-analisi epidemiologica patologica per ampliare la casistica di soggetti affetti dalle patologie in studio nella commessa.

- analisi genetico-molecolare a livello germinale e somatico, mediante analisi mutazionale e citogenetica dei geni candidati coinvolti nelle patologie.

Identificazione delle alterazioni genomiche ed epigenomiche e della variabilità allelica di geni responsabili dei difetti ereditari elencati precedentemente, sviluppo di appropriati ed affidabili strumenti diagnostici, definizione dei network regolativi all'interno dei quali agisce il prodotto genico (analisi di trascritti e di trascrittori); definizione di nuovi marcatori della variabilità fenotipica; identificazione di bersagli terapeutici. Un ulteriore approccio metterà in correlazione la variabilità genetica con la suscettibilità all'azione di farmaci. Un punto critico consisterà nell'analisi e nella validazione di una grande quantità di dati prodotta per ciascuno dei disordini monogenici o complessi in studio nella commessa. Tutte le attività proposte nella commessa richiedono l'applicazione di tecnologie high throughput con conseguente notevole impiego di fondi ma che portano alla produzione di una grande quantità di dati di alto interesse genetico.



Punti critici e azioni da svolgere

Una migliore comprensione dei meccanismi molecolari alla base delle patologie genetiche in studio nella commessa sarà ottenuta dal confronto dei risultati provenienti dall'analisi di ogni singolo componente della sequenza operativa:

- Analisi proteomica e profili di espressione proteica
- Analisi trascrittomiche e profili di espressione di RNA
- Biologia cellulare ed analisi funzionale dei bersagli terapeutici

L'architettura di tale sequenza mira a creare un database integrato, nel quale vengono raccolte e correlate tutte le osservazioni analitiche ottenute nelle diverse fasi di studio: dati epidemiologici, clinico-patologici, genetici, molecolari, di espressione. Questa è la premessa per lo sviluppo di metodiche e kit diagnostici, prognostici e terapeutici per il trattamento delle patologie.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

La commessa si avvale delle seguenti collaborazioni internazionali:

Hôpital Saint-Louis, Paris, France; University of Helsinki FINLAND ;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

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Poiché l'impegno scientifico dell'intero gruppo costituito nell'ambito della Commessa è basato sia su ricerca di base che su ricerca applicata alla diagnostica (cosiddetta translational research) in ambito genetico, saranno ulteriormente sostenute le richieste di finanziamento da parte di istituzioni pubbliche (Ministero della Salute, Istituto Superiore di Sanità, Assessorati regionali) o private (Telethon, Associazione Italiana Ricerca sul Cancro, Fondazioni, Ditte operanti nel settore farmaceutico e/o biotecnologico).

Un punto di forza per sostenere con maggior vigore tali richieste è dato dal fatto che i laboratori della Commessa hanno a disposizione la strumentazione necessaria ed il personale specializzato adeguato per svolgere le più comuni attività di biologia molecolare, biologia cellulare, analisi immunoistochimica e citogenetica, analisi trascrittomiche e proteomiche.

Finalità

Obiettivi

Obiettivo principale della proposta è l'identificazione delle alterazioni genomiche e della variabilità allelica dei geni responsabili di difetti ereditari dell'uomo quali: le talassemie, le displasie ectodermiche, in particolare l'Incontinentia Pigmenti, ed altre patologie X-linked.

Si stabiliranno nuovi metodi di indagine molecolare e s'indagheranno le diverse correlazioni regolative allo scopo di stabilire la relazione causa-effetto tra alterazioni patologiche e processi cellulari implicati.

Risultati attesi nell'anno

- Ampliamento della genoteca di DNA/RNA da campioni ematici ed istopatologici dei pazienti affetti dalle varie patologie genetiche in studio nella commessa
- Ulteriore preparazione di linee cellulari primarie da tali pazienti per le analisi proteomiche e funzionali
- Identificazione di mutazioni genetiche in geni noti e nuovi coinvolti nelle patologie genetiche elencate
- Definizione dei pattern di espressione genica a livello dei trascritti e delle proteine (profili biomolecolari) in cellule sane e alterate
- Studi su proteine bersaglio candidate al fine di definire nuovi protocolli per il riconoscimento molecolare e l'interazione con molecole a putativa attività farmacologica

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 2007

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
368	75	70	1	514	117	262	166	N.D.	797

valori in migliaia di euro

Unità di personale di ruolo *	
ricercatori	Totale
4	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	3	0	1	0	3	0	3	0	10

Richiesta nuove unità di personale			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	7	2	9

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Regolazione dell'espressione genica e sua integrazione con la rete di segnalazione cellulare

Dati generali

Progetto:	Funzione, regolazione ed evoluzione dei genomi eucariotici
Tipologia di ricerca:	Progetti di sviluppo competenze
Istituto esecutore:	Istituto di biologia e patologia molecolari
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	IDA RUBERTI

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 con l'obiettivo di decifrare la funzione dei geni nelle reti complesse che regolano il processo di differenziamento cellulare e la risposta a stimoli esterni (ambientali e chimici) in organismi animali e vegetali.

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 maggiori risorse gioverebbe grandemente alla prosecuzione dei progetti per apportare nuove, più sofisticate tecnologie genetico-molecolari. I ricercatori proseguiranno nella attività di elaborazione e proposta di progetti di ricerca in ambito nazionale ed europeo.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Competenze di biologia molecolare, biologia cellulare, genomica ed informatica sono largamente rappresentate tra i ricercatori partecipanti.

Strumentazione

I ricercatori si avvalgono della strumentazione di base per studi di biologia molecolare, biologia cellulare, genomica ed informatica. Tra le attrezzature di particolare rilievo: Real-time PCR (Applied Biosystem, 7000), sistema biolistico (BioRad), luminometro (Turner Design), microscopi DIC e fluorescenza, sistema per analisi di immagini, camera P2 sterile per cellule animali, camera di crescita per le piante con sistema di illuminazione LED (Percival Model E30 Led Trichromatic).

Tecniche di indagine

Tecniche di indagine dell'espressione genica (macro- e micro-arrays, Real-time PCR); tecniche di immunostochimica diretta e indiretta (produzione di anticorpi, analisi con microscopio a fluorescenza e confocale); tecniche di indagine della funzione genica (mutanti con perdita di funzione, RNA interference, dominanti negativi e positivi); tecniche di indagine dell'interazione proteina-proteina (two hybrid in lievito, phage display).



Tecnologie

Tecnologie per l'analisi della regolazione genica (trascrittoma, proteoma) durante il processo di differenziamento e nella risposta a stimoli esterni in sistemi vegetali e animali. Tecnologie per l'espressione inducibile e transiente in sistemi vegetali.

Collaborazioni (partner e committenti)

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

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Le risorse disponibili si possono ricondurre al progetto MoMa (ASI) al FIRB 2003 Piattaforma per la genomica nel settore vegetale e zootecnico HIGH THROUGHPUT², Proteo-stress, Agronanotech.

Con l'obiettivo di acquisire ulteriori risorse, nel corso del 2006, i ricercatori si sono impegnati nell'elaborazione di proposte di ricerca recentemente presentate al MUR, all'AIRC e a Telethon. L'esito sarà noto nei primi mesi del 2007.

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. Le conoscenze acquisite sulla regolazione dell'espressione genica in organismi animali e vegetali saranno utilizzate per applicazioni in terapia genica e in piante di interesse agro-industriale.

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 genica e sua integrazione con la rete di segnalazione cellulare

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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	0	262	0	262	56	318	0	N.D.	318

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
0	0

*equivalente tempo pieno



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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Meccanismi molecolari della plasticità genomica e loro deregolazione

Dati generali

Progetto:	Funzione, regolazione ed evoluzione dei genomi eucariotici
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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	MAURIZIO DESPOSITO

Temi

Tematiche di ricerca

Studio della componente genetica di malattie 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

Punti critici e azioni da svolgere

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

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.

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Le risorse disponibili si possono ricondurre al progetto MoMa (ASI) al FIRB 2003 Piattaforma per la genomica nel settore vegetale e zootecnico HIGH THROUGHPUT, Proteo-stress, Agronanotech.

Con l'obiettivo di acquisire ulteriori risorse, nel corso del 2006, i ricercatori si sono impegnati nell'elaborazione di proposte di ricerca recentemente presentate al MUR, all'AIRC e a Telethon. L'esito sarà noto nei primi mesi del 2007.

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

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

Risorse commessa 2007

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	9	0	0	9	0	9	0	N.D.	9

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
0	0

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari



Interazione proteine-acidi nucleici ed organizzazione sopramolecolare della cromatina

Dati generali

Progetto:	Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto per lo studio delle macromolecole
Sede principale svolgimento:	Sede di Genova
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	ANGELO PERICO

Elenco dei partecipanti

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

Interazioni DNA-proteine. Il modello elettrostatico DNA-contromacroioni verrà esteso a spiegare l'azione dei fattori di rimodellazione negli eucarioti e la condensazione del DNA nei procarioti. Saranno fatti modelli della struttura della cromatina in condizioni fisiologiche con simulazioni di Monte Carlo basate su interazioni repulsive-dispersive anisotropiche tra nucleosomi, su dati topologici e sul bending del linker a causa dell'interazione con H3. Sarà fatta la analisi proteomica e dei pathway metabolici nelle malattie cardiovascolari. Saranno avviati studi di interazione DNA nanoparticelle (di silicio, nanotubi di carbonio, copolimeri anfifilici biodegradabili) per drug delivery, terapia genica e diagnostica medica.
Aggregazione. Sarà concluso lo studio sperimentale e modellistico delle cinetiche di aggregazione di diversi peptidi beta-amiloidei e della loro correlazione con il morbo di Alzheimer. Correlazione tra neurotossicità e variazioni conformazionali in prioni: sarà studiata la cinetica di aggregazione della proteina ricombinante hPrP90-231 in condizioni fisiologiche. Parallelamente sarà determinata l'evoluzione della tossicità di hPrP90-231 in linee cellulari.

Punti critici e azioni da svolgere

Il problema principale è la mancanza di turn-over che porterà la commessa in condizioni critiche alla fine del triennio 2006-2008 se non interverranno urgenti assunzioni a tempo indeterminato e determinato. Il personale della commessa che era di 9.5 nel 2003 è stato 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. Poiché, inoltre, è in corso il trasferimento per motivi familiari di



uno dei più giovani e capaci ricercatori, col quale verrà mantenuta la collaborazione all'interno della commessa, si può concludere che la commessa, molto produttiva scientificamente, si esaurirà entro il 2008. Si richiede pertanto l'urgente programmazione dell'assunzione a tempo indeterminato o a tenure-track di 5 ricercatori ed 1 tecnico.

La continua decurtazione dei fondi ordinari porta principalmente all'esaurimento delle risorse strumentali in assenza di possibilità di implementazioni e innovazioni.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze presenti nella commessa sono ben articolate per gli scopi della commessa:

Teoria e modellistica: meccanica statistica e dinamica dei sistemi condensati, dei polimeri e di proteine e acidi nucleici; interazioni proteine acidi nucleici. Interazioni elettrostatiche tra polielettroliti mediate da controioni mono e multivalenti. Calcolo della cinetica delle transizioni conformazionali in biopolimeri ed aggregazione.

Simulazioni di dinamica molecolare e di Monte Carlo atomistiche, effettive, canoniche e multicanoniche.

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 e morfologica mediante microscopia elettronica a trasmissione. Conformazione di peptidi e biopolimeri in funzione delle condizioni ambientali: transizioni conformazionali, aggregazione.

Caratterizzazione del DNA, della sua organizzazione nel nucleo e della sua funzione e disfunzione lungo il ciclo cellulare.

Strumentazione

Calcolo:

Cluster di 10 processori.

Cromatografia:

Cromatografo liquido HPLC Beckman System Gold.

Cromatografo ad esclusione sterica (SEC) Perkin Elmer.

Spettroscopia:

Spettrofotometro Lambda 2 UV/Vis Perkin Elmer.

Spettrofotometro UV/Vis Varian 400 Bio Cary.

Spettrofotometro FT-IR Bruker IFS 28.

Spettrofluorimetro Perkin Elmer LS 50 B.

Spettropolarimetro JASCO J-500 (CD).

Sistema per misure cinetiche veloci con dicroismo circolare (stopped flow).

Calorimetria:

Microcalorimetro a titolazione isoterma Microcal ITC.

Microcalorimetro a scansione termica Microcal DSC.

Microcalorimetro a scansione termica Microcal VP-DSC.

Microscopia:

Microscopio elettronico a trasmissione (TEM) Zeiss Leo EM 900.

Cannone elettronico Edwards.

Ultramicrotomo Leica Ultracut UCT.

Camera oscura per sviluppo di lastre TEM.

Microscopio ottico Leica DM-RXP.

Varie:

Ultracentrifuga preparativa Beckman.

Soncatore Labsonic U.

Elettroforesi mono e bidimensionale.

Camera fredda.

Tecniche di indagine

1) Laboratorio di estrazione, separazione, purificazione e caratterizzazione di molecole biologiche.

2) Metodologie di analisi al TEM. Immunoelettromicroscopia: uso di anticorpi coniugati con particelle d'oro per l'identificazione di proteine in sezioni ultrasottili di campioni inglobati in resina.

Metodologie per l'osservazione di molecole isolate (cromatina, DNA, proteine) mediante ombreggiatura o colorazione negativa con metalli pesanti; di materiale biologico (nuclei, cellule) mediante inglobamento in



resina, taglio di sezioni ultrasottili e colorazione con metalli pesanti. Analisi morfometrica di micrografie TEM mediante l'impiego di software dedicato.

3) Analisi della composizione in struttura secondaria di proteine da misure CD mediante software dedicato.

4) Programmi propri per il calcolo della dinamica di macromolecole in soluzione nell'ambito della teoria diffusiva mode-coupling (MCD) da noi sviluppata: calcolo di grandezze caratterizzanti la viscoelasticità, il rilassamento NMR e la anisotropia di fluorescenza

5) Programmi propri per lo sviluppo di simulazioni vincolate a dati teorici o sperimentali col metodo della massima entropia.

Tecnologie

Abbiamo sviluppato un sito web aperto al pubblico, biocomp.ge.ismac.cnr.it, per l'analisi di testi biomedici (apartire da PubMed) e per la ricerca di sequenze di DNA che governano la regolazione dell'espressione genica.

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.

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Il problema principale è organizzare la nostra partecipazione ai bandi europei del PQ7 e dell'ERC. Ciò si sta perseguendo sia nell'ambito delle nanoscienze con finalità biomediche sia nell'ambito del progetto salute nei settori delle malattie conformazionali, della nanomedicina e della bioinformatica. Questo implica la connessione sia con altre commesse di ISMAC, sia una azione di intensificazione delle relazioni con altri gruppi italiani e soprattutto europei.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo è 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

Ci si aspetta di pubblicare nel 2007 i lavori scientifici: una estensione del modello elettrostatico DNA-contromacroioni per spiegare l'azione dei fattori di rimodellazione negli eucarioti e la condensazione del DNA nei procarioti; un modello della struttura della cromatina in condizioni fisiologiche ottenuto mediante simulazioni di Monte Carlo di polinucleosomi; uno studio sperimentale delle cinetiche di aggregazione di diversi peptidi beta-amiloidei e della loro correlazione con il morbo di Alzheimer; un modello delle transizioni conformazionali diffuse in peptidi beta-amiloidei; uno studio della cinetica di aggregazione della proteina ricombinante hPrP90-231 in condizioni fisiologiche e della evoluzione della tossicità di hPrP90-231 in linee cellulari; un calcolo di MD ab initio del gruppo eme nel citocromo c; un calcolo di MD ab initio del legame tra Cu e la proteina prionica.

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: Sede di Genova

Risorse commessa 2007

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
345	85	53	56	539	138	276	94	N.D.	771

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
3	6

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
2	4	6	12

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Applicazioni innovative di enzimi e biotrasformazioni

Dati generali

Progetto:	Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
Tipologia di ricerca:	Progetti di sviluppo competenze
Istituto esecutore:	Istituto di biochimica delle proteine
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	MOSE' ROSSI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Cannio Raffaele	III	Fiume Immacolata	VI	Palmieri Gianna	III
Capasso Antonio	II	Ionata Elena	III	Raia Carlo Antonio	II
Carrara Adriana	V	La Cara Francesco	II	Ruggiero Giuseppe	III
Del Rio Antonio	IV	Morana Alessandra	III		

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 specificità 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

Individuazione, caratterizzazione e produzione di nuove attività enzimatiche, isolate anche da organismi che vivono in ambienti estremi, per biotrasformazioni da utilizzare in chimica fine, chimica farmaceutica, nel comparto agro-alimentare ed in diagnostica. Le attività saranno concentrate sul clonaggio ed espressione in vari ospiti di proteasi con speciali caratteristiche e di enzimi per la degradazione di polisaccaridi da biomasse rinnovabili per la produzione di etanolo.

Ottimizzazione dell'espressione di 'oligopeptide binding proteins' (Opp) in mesofili e studio della loro specificità costruendo eventualmente mutanti.

Sono in programma anche attività nel campo della metagenomica per la ricerca di enzimi da microrganismi non necessariamente ottenibili in laboratorio da siti di interesse.

Isolamento e produzione di proteine ed enzimi da utilizzare in metodologie analitiche innovative di elevata sensibilità.

Punti critici e azioni da svolgere

Uno dei punti critici è l'individuazione di nuovi enzimi in termofili per l'innovazione e l'ottimizzazione della produzione di antibiotici con la Dobfar Spa e per la produzione di intermedi chirali di interesse industriale. Qualora non fossero trovati, si dovrà operare per stabilizzare opportunamente anche mediante ingegneria proteica gli enzimi già esistenti ed in uso per la produzione di antibiotici e individuare, sfruttando la biodiversità, altri microrganismi che contengano le attività di interesse.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Il personale afferente alla commessa ha comprovata competenza nel campo dell'enzimologia, la biochimica, la biologia molecolare e la biotecnologia molecolare e la biofisica. Tali competenze sono riconosciute a livello internazionale dalle pubblicazioni su riviste peer-reviewed e dal coinvolgimento in convegni nazionali ed internazionali.



Strumentazione

Tra le apparecchiature all'avanguardia disponibili nella commessa si annoverano: fluorimetro per esperimenti di fluorescenza statica, robot per micro e macro-array, spettrofotometri, spettrofluorimetri, spettropolarimetri, sistemi cromatografici FPLC ed HPLC, sequenziatori automatici di proteine, assorbimento atomico, spettrometro di massa SELDI, scintillatori, sistemi di acquisizione/analisi di immagini.

Tecniche di indagine

Le metodologie utilizzate per lo studio di applicazioni innovative di enzimi e proteine comprendono: tecniche di purificazione delle proteine, saggi enzimatici, mutagenesi sito-diretta e random, genomica e proteomica di procarioti ed eucarioti, immobilizzazione di biomolecole, chimica di superficie e nanodeposizioni per la preparazione di chip e nanochip.

Tecnologie

Le metodologie impiegate in questa commessa sull'identificazione mediante genomica e proteomica di biomolecole di possibile applicazione e sulla loro espressione in diversi organismi per uno scale-up produttivo. Le metodologie includono anche tecnologie di Labeling per la derivatizzazione di proteine ed anticorpi con sonde fluorescenti e tecnologie di chimica di superficie per la produzione di proteine immobilizzate e microchip.

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.

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Progetto FIRB B.TRA.S Biocarburanti per trasporto sostenibili (Approvato ed in valutazione)

Progetto FIRB Proteomica;

Progetto legge 297: Produzione di pasta innovativa (Approvato dal Mur). Contatti con vari gruppi europei per progetti collaborativi nell'ambito del 7 Programma quadro.

Progetti PON e POR

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

Espressione in opportuni ospiti e produzione degli enzimi e proteine di interesse (idrolasi, proteine che legano gli zuccheri ed oligopeptidi, ossidoreduttasi). Tali biomolecole saranno caratterizzate ed eventualmente utilizzate per biotrasformazioni e nuove applicazioni industriali. Determinazione della struttura primaria e terziaria della Opp in collaborazione con il gruppo della Prof E.Chiancone .Ottimizzazione di nuovi processi mediante fermentazione. Trasferimento tecnologico a PMI.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo:	Applicazioni innovative di enzimi e biotrasformazioni
Istituto esecutore:	Istituto di biochimica delle proteine
Luogo di svolgimento attività:	Sede principale Istituto



Risorse commessa 2007

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
344	75	215	0	634	83	373	95	N.D.	812

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
5	7

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



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, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
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	Oreste Umberto	II
Ciardello Maria Antonietta	III	Jesu Amedeo	IV	Urbaniello Pasquale	IV
Coscia Maria Rosaria	III				

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 sottopopolazioni cellulari e di compartimenti intracellulari tramite inserimento di sequenze bersaglio nella proteina minore pIII del capsido 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

Si valuterà la capacità di legame alle cellule dendritiche da parte dei virioni batteriofagici da noi ingegnerizzati per esprimere sequenze bersaglio in grado di legare molecole specificamente espresse sulla membrana di cellule dendritiche murine. Per tale scopo si utilizzeranno particelle fagiche fluoresceinate e la linea dendritica murina immortalizzata 'CB1' esprime gli specifici recettori di membrana. Si valuterà inoltre "in vitro" e "in vivo" sia la funzionalità delle suddette particelle fagiche sia la funzionalità di vettori batteriofagici contenenti cassette geniche di espressione in cellule eucariotiche.

Si valuterà inoltre la capacità di costrutti E2, esperimenti antigeni di HIV-1, di indurre anticorpi neutralizzanti il virus. Questi ultimi studi saranno effettuati in collaborazione con N. Haigwood (Seattle Biomedical Research Centre) e G. Scala (Università della Magna Grecia).

Verranno infine studiate le proprietà immunologiche di nuove proteine allergeniche dal frutto di Kiwi.



Punti critici e azioni da svolgere

In questa fase della ricerca non siamo in grado di prevedere se gli studi sulla funzionalità dei nostri costrutti dimostreranno una loro possibile applicazione in diagnostica ed in terapia umana.

E' auspicabile l'acquisizione di finanziamenti da parte dell'Ente realmente destinabili all'attività di ricerca, nonché la stabilizzazione di personale precario.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze possedute dai partecipanti alla commessa includono Immunologia, Biochimica, Biologia Strutturale e Biologia Molecolare.

Strumentazione

Nell'Istituto e nei laboratori proponenti la presente commessa vi sono le attrezzature per svolgere esperimenti di Biochimica, Biologia Molecolare, Immunologia Molecolare e stanze attrezzate per studi di Immunologia Cellulare. Disponiamo inoltre di: Citofluorimetro; Biacore; Bioreattore per crescite massive; Spettrometro di massa; servizio per sequenziamento di proteine. Nell'area di ricerca in cui è situato l'Istituto sono presenti ed accessibili: un servizio di sequenziamento di DNA e uno stabulario.

Tecniche di indagine

Si effettueranno studi di immunogenicità ed antigenicità sia in vitro che in modelli animali. Studi di microscopia elettronica serviranno ad analizzare la struttura dei complessi E2. Infine ci si avvarrà di un approccio immunochimico per definire il livello atomico delle strutture da noi generate.

Tecnologie

Il sistema 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 capsido di virioni batteriofagici fd. Mentre la proteina E2 di *B. Stereothermophilus* 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.

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; M. Rescigno Istituto europeo di Oncologia, Milano; G. Casorati, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano.

Committenti: MIUR; NIH, USA.

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

E' stato presentato a NIH (USA), in collaborazione con N. Haigwood, il grant 'Novel antigen display system to present multiple antigens as HIV vaccines', per ottenere fondi nelle annualità 2007-2011. E' in corso di presentazione un progetto di ricerca (collaborazione con A. Mari) relativo al bando MIUR finalizzato alla realizzazione della rete italiana di proteomica.

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 microrganismi patogeni e/o di allergeni. Valutazione di struttura, antigenicità ed immunogenicità.

Risultati attesi nell'anno

Valutazione della funzionalità e delle possibili applicazioni terapeutiche dei nuovi vettori fd ed E2. Inserimento di proteine allergeniche del frutto di Kiwi in nuovi kit diagnostici per effettuare diagnosi allergene-specifiche. Si prevede di ottenere almeno 3 pubblicazioni su riviste internazionali. E' stata inoltre effettuata (in collaborazione con i colleghi del 'Seattle Biomedical Research Centre') un' applicazione provvisoria di brevetto USA relativa ai costrutti E2/HIV-1. Si spera di poter regolarizzare tale brevetto nel corso del 2007.

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 2007

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
176	50	92	0	318	36	178	85	N.D.	439

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
2	3

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Studio del Rapporto Struttura-Funzione e progettazione di Enzimi e Proteine

Dati generali

Progetto:	Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
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:	MARCO MORACCI

Elenco dei partecipanti

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

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

Studio del programmed -1 frameshifting in *S. solfataricus* in vivo e di altri geni interrotti in archaea. Analisi enzimatica e biofisica dei determinanti molecolari della stabilità di enzimi termofili e comparazione strutturale di modelli molecolari di proteine a struttura nota. Caratterizzazione biofisica di proteine che legano molecole odoranti. Studio di enzimi termofili coinvolti nel metabolismo dei carboidrati (a-fucosidasi, a-mannosidasi, b-mannanasi, b-galattosidasi, a-arabinosidasi, xilanasi) per protocolli di sintesi chemoenzimatica e biotrasformazioni. Ricerca di nuove attività coinvolte nella degradazione di polisaccaridi in microrganismi (iper)termofili. Studio della PME, del suo inibitore proteico e del complesso PME/PMEI in specie vegetali. Caratterizzazione di due polipeptidi derivati dal processamento in vivo di una proteina allergenica da kiwi (kiwellina). Regolazione dell'espressione di recettori ed enzimi del sistema endocannabinoide. Confronto delle proprietà cinetiche e chimico-fisiche delle due isoforme di aspartico proteasi ricombinanti. Ingegnerizzazione di fibroblasti bovini per aumentare la sintesi di collagene.

Punti critici e azioni da svolgere

Fino al 2006 e' stato possibile svolgere le attività previste principalmente grazie a finanziamenti esterni ottenuti dai partecipanti alla commessa e dall'impegno di personale precario che, per la mancanza di prospettive lavorative stabili, è in continuo turn-over. Questo ha rallentato il raggiungimento degli obiettivi prefissi. Oltre a questo, la mancata assunzione di personale già risultato vincitore di concorsi per ricercatore CNR a tempo indeterminato ha impegnato delle risorse economiche per i salari che si sarebbero potute utilizzare per la ricerca. E' auspicabile che nel 2007 si proceda all'assunzione di questi giovani ricercatori ed all'acquisizione di finanziamenti da parte dell'Ente realmente destinabili all'attività di ricerca.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Il personale afferente alla commessa ha comprovata competenza nel campo dell'enzimologia, la biochimica, la biologia molecolare e la biotecnologia molecolare. Tali competenze sono riconosciute a livello



internazionale dalle pubblicazioni su riviste peer-reviewed e dal coinvolgimento in convegni nazionali ed internazionali.

Strumentazione

La commessa dispone di apparecchiature all'avanguardia per lo svolgimento delle ricerche descritte. Tra esse: spettrofotometri, spettrofluorimetri, spettropolarimetri, sistemi cromatografici FPLC ed HPLC, Biacore per misure di risonanza plasmonica superficiale, PCR real time, sequenziatori automatici di proteine, assorbimento atomico, spettrometro di massa SELDI, scintillatori, sistemi di acquisizione/analisi di immagini.

Tecniche di indagine

Le metodologie utilizzate per lo studio del rapporto struttura/funzione di enzimi e proteine comprendono: tecniche di purificazione delle proteine, saggi enzimatici, mutagenesi sito-diretta e random, genomica e proteomica di procarioti ed eucarioti, modelling molecolare, immobilizzazione di enzimi e proteine.

Tecnologie

Le metodologie impiegate in questa commessa si basano su analisi di strutture tridimensionali di enzimi e proteine per la comprensione dei meccanismi di catalisi e di riconoscimento di ligandi. Tali metodologie sono supportate da modelling molecolari per la preparazione di mutanti utili a migliorare le prestazioni dei catalizzatori.

Collaborazioni (partner e committenti)

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

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Nel 2007 verrà valutata la possibilità di applicare a progetti nell'ambito del 7 Programma Quadro della Comunità Europea, della Regione Campania, del MUR, e di altre agenzie nazionali ed internazionali. La possibilità di ottenere finanziamenti dipenderà dalle capacità manageriali dei singoli ricercatori partecipanti alla commessa.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo generale di questa commessa è lo studio del rapporto struttura/funzione di alcune proteine ed enzimi che permetterà di chiarirne le caratteristiche biofisiche i meccanismi di azione, le specificità 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

Identificazione e caratterizzazione di nuovi geni interrotti in archaea e acquisizione di nuove conoscenze sul meccanismo di programmed -1 frameshifting in *S. solfataricus*. Identificazione di motivi strutturali responsabili della stabilità di termozimi e produzione di glicosidasi modificate per mutagenesi per la produzione di oligosaccaridi. Individuazione di almeno una nuova attività glicosil-idrolasica di interesse applicativo nel settore della degradazione di cellulosa ed emicellulose. Caratterizzazione della PME di kiwi, modello del complesso PME/PMEI. Identificazione della sequenza amminoacidica completa e delle possibili azioni biologiche di almeno uno dei due polipeptidi della kiwellina. Nuove informazioni sui meccanismi di regolazione dell'espressione nel sistema endocannabinoide. Identificazione della specificità di taglio dei due isoenzimi mediante spettrometria di massa. Produzione di fibroblasti bovini modificati per la produzione di collagene.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Biotrasformazioni, sintesi chemo-enzimatica, bioconversioni, diagnostica

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Le proteine e gli enzimi sono le biomolecole che attuano il disegno biologico custodito nei geni ed il loro studio permette di comprendere i meccanismi molecolari del funzionamento dei viventi. L'aumento di conoscenza porterà allo sviluppo di strumenti (farmaci, kit diagnostici, trasformazioni industriali) utili alla salute dell'uomo ed alla qualità della vita.



Moduli

Modulo: Studio del Rapporto Struttura-Funzione e progettazione di Enzimi e Proteine
Istituto esecutore: Istituto di biochimica delle proteine
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
251	63	39	0	353	32	134	90	N.D.	475

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	5

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Sistemi bioenergetici di membrana: meccanismi funzionali e fisiopatologia.

Dati generali

Progetto:	Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
Tipologia 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:	SERGIO PAPA

Elenco dei partecipanti

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

Temi

Tematiche di ricerca

Analisi dei complessi respiratori e dell'ATPasi in mitocondri umani, animali 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 mitocondriali. Ruolo dei mitocondri nella cascata apoptotica. Genomica, proteomica e biochimica di geni candidati in malattie mitocondriali di interesse pediatrico e neurologico.

Stato dell'arte

L'analisi cristallografica, spettroscopica e biofisica dei sistemi di membrana trasduttori di energia fornisce nuovo know how per la definizione dei meccanismi molecolari dei sistemi di trasferimento di energia nelle membrane biologiche, settore nel quale IIBBE è particolarmente attivo. Avanzamenti di genomica e proteomica hanno rivelato un ruolo centrale dei mitocondri nella crescita, differenziamento e morte cellulare. La biogenesi e funzionalità dei sistemi della fosforilazione ossidativa risulta controllata dalla cascata dell'AMP ciclico. È aumentato il numero di patologie con un ruolo determinante dei mitocondri (malattie monogeniche) o complementare (malattie neurodegenerative e cardiovascolari). Dati recenti suggeriscono che il non sense mediated mRNA decay (NMD) agisce da sistema di sorveglianza di mRNA contenenti mutazioni nonsense e modula il turnover e la traduzione di mRNA normali. L'espressione e l'attività delle catene respiratorie batteriche dipendono dalle condizioni di crescita. La conoscenza del metabolismo primario è di fondamentale importanza ai fini del miglioramento dei processi biotecnologici.

Azioni

Attività da svolgere

Verranno studiati i processi di regolazione della biogenesi e funzione mitocondriale da parte dell'AMP ciclico. Si condurranno analisi strutturali e funzionali di complessi della catena respiratoria e ATP sintasi mitocondriali e batteriche. Verrà studiato il ruolo delle subunità costituenti l'ATP sintasi ectopica, presente sulla membrana plasmatica di alcune cellule eucariotiche. Sarà caratterizzato lo stato di fosforilazione di Nam7p/Upf1p in vari contesti genetici e ne verrà valutata la relazione fenotipica con NMD e biogenesi mitocondriale. Si studierà il ruolo della cardiolipina integra e perossidata sulla funzionalità di componenti lipidici e proteici delle membrane mitocondriali. Sarà studiata la regolazione del poro di transizione di permeabilità mitocondriale e la sua tessuto-specificità. Si valuterà il rendimento energetico del sistema NADH/cito-c citosolico. Verranno condotte analisi genetico-molecolari e mutazionali in pazienti affetti da miopatie mitocondriali e/o di interesse pediatrico e neurologico. Verrà studiata la bioenergetica di batteri aerobi produttori di antibiotici al fine di implementare la produzione di molecole bioattive.

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 FATTIBILITÀ:** 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

Competenze nel campo della Biologia cellulare, Biochimica, Biologia Molecolare e Genetica Molecolare con particolare riferimento a:

Allestimento e mantenimento di colture di cellule umane, murine e di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*).

Allestimento e mantenimento di colture batteriche ad habitus unicellulare e miceliale.

Bioenergetica e biogenesi mitocondriale.

Studio dell'espressione genica in colture cellulari e batteriche.

Caratterizzazione strutturale e funzionale dei sistemi OXPHOS mitocondriali e batterici.

Proteomica e fosfoproteomica.

Meccanismi di regolazione della via mitocondriale dell'apoptosi.

Meccanismi di trasduzione del segnale.

Analisi mutazionale di geni nucleari e mitocondriali.

Strumentazione

Spettrofotometri

Spettrofluorimetri

Ossigrafo

Incubatori per colture batteriche

Cappe a flusso laminare per colture cellulari

Incubatori CO₂

Thermal Cycler per PCR e Real Time PCR

Sequenziatore DNA

Apparati per elettroforesi e trasferimento di proteine ed acidi nucleici

Densitometro Bio-Rad

Laboratorio attrezzato per esperimenti di ibridazione molecolare con sonde radioattive

Scintillatore in fase liquida

HPLC

Microscopio ottico

Microscopio a contrasto di fase

Spettrometro di massa

Tecniche di indagine

Misure spettrofluorimetriche e potenziometriche su complessi respiratori mitocondriali e batterici.

Saggi di funzionalità mitocondriale (indice di controllo respiratorio, dosaggi di attività enzimatica, produzione di ROS, poro di transizione di permeabilità).

Trasfezione di cDNA.

Sequenziamento del DNA.

Analisi dell'espressione genica e della biosintesi delle proteine.

Northern Blotting, Western Blotting, Southern blotting.

Analisi dell'immagine.

Analisi quantitativa di trascritti in cellule eucariotiche e batteriche tramite real-time RT-PCR.

Spettrometria di massa.

Tecnologie

Manipolazione genetica di cellule umane in coltura (linee cellulari) mediante trasfezione. Manipolazione genetica di cellule di lievito.

Collaborazioni (partner e committenti)

Biozentrum der Universitaet, Germany

Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

Northwestern Medical School, USA Dept of Cellular and Structural Biology, Health Science Center University of Texas, USA

Centre de Genétique Moléculaire, CNRS, France.

U.O. Medicina Molecolare, I.R.C.C.S. Ospedale pediatrico Bambini Gesù, Roma.

Div. Neurogenetica molecolare, Istituto Neurologico 'C. Besta', Milano.

Laboratori del Sincrotrone di Grenoble.

Sanofi Aventis.

Istituto di Genetica e Microbiologia, Università di Bari.



Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Proposte progettuali per partecipazione a programmi di ricerca nelle scienze biomediche e nel settore biotecnologico di interesse industriale in Italia, UE e altri paesi. Convenzioni con industrie nel campo della produzione di sostanze bioattive (antibiotici).

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. Impatto della cascata dell'AMP ciclico sul sistema della fosforilazione ossidativa. 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 strutturale e funzionale dei meccanismi molecolari della cooperatività allosterica nella ossidasi terminale ad eme e rame. Caratterizzazione genetico-molecolare di pazienti affetti da miopatie mitocondriali. Caratterizzazione biochimica e/o molecolare del sistema respiratorio di *Attinomiceti* produttori di antibiotici. Identificazione della(e) chinasi di Nam7p/Upf1p. Comprensione del ruolo della cardiolipina nella transizione di permeabilità, rilascio del citocromo c dai mitocondri, attività dei complessi respiratori e relative implicazioni per il processo apoptotico e necrotico. Definizione dei parametri energetici del trasporto elettronico NADH/cito-c citosolico e loro impatto sull'apoptosi. Chiarimento del ruolo della fosforilazione di fattori proteici coinvolti nella transizione di permeabilità mitocondriale. Caratterizzazione delle subunità componenti il complesso ATP sintasico ectopico e ruolo del complesso nei processi angiogenici ed ischemici. Impatto dell'AMP ciclico nell'import mitocondriale di subunità di complessi respiratori ed ATP sintasi.

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. Lo sviluppo di sonde e nuove metodologie per 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 nonsense.

Moduli

Modulo:	Sistemi bioenergetici di membrana: meccanismi funzionali e fisiopatologia.
Istituto esecutore:	Istituto di biomembrane e bioenergetica
Luogo di svolgimento attività:	Sede principale Istituto



Risorse commessa 2007

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
422	17	24	0	463	23	64	48	N.D.	534

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
5	9

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
5	0	0	0	0	0	0	0	0	5

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	4	0	4

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Biotechnologie Molecolari per la Progettazione di Vaccini Innovativi

Dati generali

Progetto:	Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
Tipologia di ricerca:	Progetti di sviluppo competenze
Istituto esecutore:	Istituto di biomedicina e immunologia molecolare 'Alberto Monroy'
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	PAOLO COLOMBO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Bonomolo Anna	III	Colombo Paolo	III	Sanzone Sabrina	VII
Bonsignore Giovanni	DIRE	Di Blasi Francesco	III	Scatassa Valentina	VII
Bonura Angela	III	Geraci Domenico	I	Spera Donatella	VII
Cavoli Francesca	VIII	Parisi Pietrina	V	Tarantino Provvidenza	VII
Ciacco Mirella	III	Riccobono Daniela	VII	Turatto Rosa	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 terapie immunosoppressive del polline della Parietaria.

Azioni

Attività da svolgere

Nel corso del 2007 questa commessa si propone di implementare lo studio dei meccanismi cellulari e molecolari che sono alla base della patogenesi delle malattie allergiche. Tale approccio ha come finalità lo sviluppo di nuovi approcci integrati di immunodeviiazione, con i quali individuare modalità di vaccinazione profilattica o immunoterapeutica capaci di contrastare l'insorgenza e/o controllare la progressione delle patologie allergiche. In tal senso, verranno studiate:

- 1) nuove forme di molecole a ridotta allergenicità
- 2) l'uso di batteri probiotici e/o loro derivati per la formulazione di adiuvanti per la terapia delle patologie allergiche.

Nell'ambito relativo alla realizzazione di ceppi attenuati di *Leishmania infantum*, i ceppi silenziati (double knockout) caratterizzati nel 2006 verranno iniettati in cavie di laboratorio a dosi differenziali. Nel 2007 verrà studiata la risposta anticorpale indotta da tali mutanti nel sistema murino.

Per quanto concerne il progetto relativo alla induzione di citochine proinfiammatorie (NFkB), nell'anno in corso sarà valutata la presenza di un trascritto relativo ad una nuova isoforma di NFkB in differenti tessuti di topo.

Punti critici e azioni da svolgere

Il principale punto critico è rappresentato dall'assenza di uno stabulario nella nostra Area della Ricerca. Ciò rende più complesse tutte le operazioni relative all'utilizzo di animali da laboratorio.

Un ulteriore problema è rappresentato dal numero del personale di ruolo. Infatti, nella nostra Commessa, nel 2005 un ricercatore a tempo indeterminato ed un ricercatore a tempo determinato (Art.36) sono stati posti in



quiescenza. Allo stesso modo, nel 2004 un Collaboratore Tecnico Enti di Ricerca è andato in pensione. Questo personale non è stato sostituito con nuove assunzioni ma con personale a contratto gravante su fondi esterni. La strumentazione in dotazione all'Istituto è in gran parte obsoleta ed i tagli alla dotazione ordinaria non consentono il loro ammodernamento.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze specifiche di tale commessa si basa sulla tecnologia del DNA ricombinante.

Strumentazione

Laboratorio colture cellulari, citofluorimetro, termociclatori, sistemi di elettroforesi per acidi nucleici e proteine, sistemi cromatografici per la purificazione di proteine.

Tecniche di indagine

Produzione di allergeni ricombinanti per lo sviluppo di nuove forme di vaccini per la cura delle patologie allergiche. Studio dei meccanismi molecolari della risposta allergica mediante real-time PCR e secrezione di citochine. Identificazione di mutanti attenuati di *Leishmania* mediante esperimenti di knock-out genomico. Identificazione di nuovi partner proteici del fattore di trascrizione NFκB

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

Collaborazioni con Istituzioni Italiane:

- 1) Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immuno-mediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma
- 2) Unità Operativa di Allergologia ed Immunologia Clinica dell'Ospedale Civico di Palermo,
- 3) ENEA, Casaccia, Roma
- 4) Istituto Zooprofilattico di Sicilia, Palermo
- 5) Dipartimento di Biologia Cellulare e dello Sviluppo, Università degli Studi di Palermo
- 6) Dipartimento di Zoologia Animale, Università degli Studi di Palermo

Collaborazioni con Istituzioni Straniere:

- 1) Università di Southampton, School of Medicine, Inghilterra,
- 2) Istituto di Patologia Sperimentale, Università Nazionale di Salta, Argentina.

Collaborazioni interdipartimentali

- 1) Istituto di Biofisica del Consiglio Nazionale delle Ricerche, sez. di Palermo,

Collaborazioni intradipartimentali:

Commessa ME.P07.002 (Epidemiologia delle Broncopneumopatie)

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Si prevedono ulteriori entrate grazie alla partecipazione al cofinanziamento dei Centri di Competenza Tecnologica del MIUR e alla partecipazione ai Distretti Tecnologici della Regione Sicilia. Sono in corso di definizione convenzioni con altri Enti di Ricerca per lo sviluppo di tematiche di ricerca interdisciplinari.

Finalità

Obiettivi

- 1) Caratterizzazione della reattività immunologica di forme ricombinanti di allergeni da pollini. Messa a punto di un sistema murino per studi pre-clinici
- 2) Caratterizzazione di ceppi attenuati di *Leishmania infantum* da utilizzare in protocolli di immunizzazione.

Risultati attesi nell'anno

La ricerca si propone i seguenti obiettivi:

- 1) Caratterizzazione biochimica e valutazione del rapporto tra struttura tridimensionale, attività allergenica e funzione biologica degli allergeni maggiori della *Parietaria judaica*;
- 2) Induzione e studio di modelli murini di sensibilizzazione allergica in cui validare approcci di immunomodulazione;
- 3) Analisi dell'induzione della risposta anticorpale in ceppi murini immunizzati con mutanti attenuati del parassita *Leishmania infantum*;
- 4) Analisi del profilo d'espressione di una nuova isoforma di NF-κB in tessuti murini ed analisi dell'attività trascrizionale su sequenze consensus specifiche di fattori di trascrizione.

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 immunodeviiazione, 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'
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
333	52	9	85	479	17	78	55	N.D.	551

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
5	6

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	1	0	0	0	0	0	2	6	9

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	2	0	2

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Trasportatori mitocondriali: struttura e meccanismi funzionali

Dati generali

Progetto:	Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
Tipologia 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:	FERDINANDO PALMIERI

Elenco dei partecipanti

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

Temi

Tematiche di ricerca

Analisi trascrittomica e proteomica dei trasportatori mitocondriali nel lievito e nell'uomo. Studi struttura-funzione 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 è 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.

Si porteranno avanti studi volti a comprendere i rapporti struttura-funzione dei trasportatori mitocondriali mediante approccio mutagenetico e mediante modificazione chimica. I dati saranno interpretati in termini di topografia dinamica di alcuni domini proteici, in particolare dei carrier del chetoglutarato e della carnitina/acilcarnitina.

Analisi filogenetica e analisi molecolare dei carrier mitocondriali di *A.thaliana*. 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 strumentazione.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Strumentazione



Tecniche di indagine

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof. Vito Iacobazzi (Università degli studi di Bari) Prof. Ramon De Lucas (Facoltà di Farmacia di Alcalá 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)

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Si potranno prendere contatti con aziende del settore biotecnologico per il trasferimento delle competenze, acquisite mediante la ricerca di base, alle industrie che operano nel settore. Nell'ambito di queste attività alcuni dei processi biotecnologici messi a punto potrebbero essere oggetto di brevetti mirati all'acquisizione di nuove entrate finanziarie.

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

Pubblicazioni scientifiche su riviste nazionali e internazionali.

Studio del sito attivo e del meccanismo della traslocazione di carrier con particolare attenzione alla topologia dinamica di alcuni domini dei trasportatori.

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* mediante over-espressione eterologa, purificazione dei prodotti genici e ricostituzione funzionale nei liposomi. Analisi trascrittomiche dei trasportatori mitocondriali in diversi tessuti in diverse condizioni fisiologiche/ambientali. Generazione di tools e modelli cellulari per la diagnostica molecolare. Analisi mutazionale e studi patogenetici di malattie ereditarie associate. 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 2007

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	13	9	0	200	19	41	29	N.D.	248

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	4

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
3	0	0	0	0	0	0	0	0	3

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	3	0	3

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



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

Dati generali

Progetto:	Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di biologia e patologia molecolari
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	EMILIA CHIANCONE

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Allegria Vanda	IV	Foppoli Cesira	III	Peresempio Vincenzo	VI
Antolini Rachele	V	Gianni Stefano	III	Pistolesi Gabriella	IV
Antonucci Antonio	II	Giuffrè Alessandro	II	Savino Carmelinda	III
Ballini Amleto	IV	Iani Paola	V	Tramonti Angela	III
Colotti Gianni	III	Ilari Andrea	III	Verzili Daniela	II
Federici Marco	VI	Morea Veronica	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 reductasi); - 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 tutto 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

Le attività di ricerca proseguiranno secondo le linee previste e le nuove prospettive aperte dai risultati conseguiti nel 2006; altri eventuali progetti potranno essere iniziati in base all'esito delle richieste di finanziamento inoltrate.



Punti critici e azioni da svolgere

Carenza di fondi istituzionali da utilizzare sia per il funzionamento della struttura che per rinnovare apparecchiature ormai obsolete.

Mancato inserimento di giovani formati nell'Istituto in sostituzione del personale di ricerca andato in pensione e scarse prospettive di avanzamento di carriera per il personale meritevole.

Alla carenza di fondi si cercherà di ottemperare inoltrando richieste di finanziamento a committenti esterni. Tramite il finanziamento di borse di studio ed assegni di ricerca si potrà proseguire anche la formazione di giovani ricercatori.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

La ricerca presuppone competenze scientifiche e tecnico-metodologiche complementari e l'utilizzo di strumentazione avanzata per la caratterizzazione chimico-fisica di proteine. Il personale CNR coinvolto si avvale anche di competenze ed attrezzature disponibili presso il Dipartimento di Scienze Biochimiche dell'Università di Roma 'La Sapienza', che ospita la Sede dell'IBPM.

Il personale ha competenze ed esperienza pluriennali e qualificate nello studio della struttura e funzione di proteine, studio affrontato con metodologie e tecniche avanzate proprie della biologia molecolare, della biologia strutturale (cristallografia a raggi X e spettroscopie di assorbimento, dicroismo circolare, fluorescenza, infrarosso) e della biochimica.

Strumentazione

Le principali apparecchiature sono costituite da:

- Anodo rotante RX-Rigaku per cristallografia a raggi X di proteine
- Ultracentrifuga analitica Beckman Optima-XLI
- Apparecchi di mescolamento rapido a flusso interrotto (stopped flow, Applied Photophysics) per misure tempo-risolve in fluorescenza ed assorbimento a lunghezza d'onda singola e multipla.
- Workstation Linux box per la modellizzazione di strutture proteiche
- Spettropolarimetro di dicroismo circolare Jasco
- Spettrofluorimetro Fluorolog Jobin Yvon

A queste si aggiungono apparecchiature del Dipartimento di Scienze Biochimiche dell'Università di Roma 'La Sapienza':

- Strumentazione per laser-fotolisi (HYL200 5ns-pulsed laser, Quanta Systems)
- Spettrometri di massa ESI, MALDI-TOF, Gas/Massa
- Apparecchi di mescolamento rapido a flusso interrotto (stopped flow, Applied Photophysics) ed a flusso continuo per misure tempo-risolve in fluorescenza e dicroismo circolare.
- Spettrometro infrarosso Nicolet 760

Tecniche di indagine

Le principali tecniche utilizzate comprendono:

- diffrazione a raggi X di cristalli proteici e uso dei metodi MR (Molecular Replacement) e MIR (Molecular Isomorphous Replacement)
- ultracentrifugazione analitica (velocità ed equilibrio di sedimentazione)
- tecniche del DNA ricombinante per la mutagenesi sito-diretta di proteine
- tecniche spettroscopiche (assorbimento, fluorescenza, dicroismo circolare, IR)
- sequenziamento di peptidi e proteine
- spettrometria di massa
- analisi di sequenze geniche e proteiche e di strutture tridimensionali 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)

Tecnologie

Metodi di predizione della struttura tridimensionale di proteine integrati con l'ingegneria proteica per la progettazione, sintesi e caratterizzazione di proteine mutanti di potenziale rilevanza biomedica e biotecnologia.

Applicazione di una strategia sperimentale che accoppia lo studio della cinetica di "folding" di proteine modello semplici a mutagenesi sito-specifica estensiva per definire tutte le interazioni che stabilizzano lo stato di transizione, cioè la conformazione a più alta energia nel processo che guida la catena denaturata verso la corrispondente forma nativa. Mutando sistematicamente diverse catene laterali in proteine modello semplici, e misurando la destabilizzazione introdotta nello stato di transizione rispetto a quella osservata nello stato



nativo, è infatti possibile calcolare, per ogni residuo di una data proteina, il parametro phi che rappresenta un indice di strutturazione dello stato di transizione rispetto alla struttura nativa.

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 Karlsruhe (Germania); Università di Siena e Sassari; Weizmann Institut (Israele); Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC (Spagna).

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).

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Saranno inoltrate opportune richieste di finanziamento a committenti esterni (MUR, UE in particolare) che permettano di proseguire ed ampliare le ricerche in atto ed iniziarne altre.

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

Approfondimento delle conoscenze sui diversi sistemi oggetto di studio e loro applicazione in ambito biomedico e biotecnologico. I risultati saranno oggetto di pubblicazioni, relazioni a Convegni e brevetti.

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 oggetto di studio possono trovare potenziale utilizzo come:

- nuovi peptidi antimicrobici

- bersagli farmacologici (e.g. le flavoproteine a due ferri).

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 Archaea
Istituto esecutore:	Istituto di biologia e patologia molecolari
Luogo di svolgimento attività:	Sede principale Istituto



Risorse commessa 2007

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	95	85	0	814	68	248	80	N.D.	962

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
9	13

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	1	0	1

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Struttura e funzione di acidi nucleici e cromatina. Epigenetica

Dati generali

Progetto:	Struttura, funzione e progettazione di proteine, acidi nucleici e loro complessi sopramolecolari
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di biologia e patologia molecolari
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	ERNESTO DI MAURO

Elenco dei partecipanti

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

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 lieviti e cellule in coltura sia vegetali che animali, dall'altro sulla comprensione del ruolo biologico degli RNA non codificanti. Particolare rilevanza avranno gli studi focalizzati sui meccanismi di regolazione a base epigenetica.

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

Competenze complementari nel campo della biologia strutturale e nella genetica molecolare in sistemi sperimentali modello

Strumentazione

I ricercatori si avvalgono della strumentazione di base per studi di biologia molecolare, biologia cellulare, genomica ed informatica

Tecniche di indagine

Tecniche di genomica globale al fine di ottenere modelli di analisi high throughput per l'analisi su scala genomica. Epigenomica.



<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare



Basi molecolari della cancerogenesi

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare
Tipologia di ricerca:	Progetti di sviluppo competenze
Istituto esecutore:	Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano Salvatore'
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	EDUARDO CONSIGLIO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Berardone Mario	VII	De Franciscis Vittorio	I	Mellone Stefano	VI
Berlingieri Maria Teresa	III	Desiderio Andrea	V	Montuori Nunzia	III
Cali Gaetano	III	Fedele Monica	III	Moscato Fortunato	VI
Carlomagno Francesca	III	Ferraro Paola	III	Mostardi Mario	VII
Cassano Silvana	III	Galli Paolo	VI	Occorsio Ugo	VI
Celetti Angela	III	Gallo Adriana	III	Pacifico Francesco Maria	III
Cerrato Aniello	III	Gentile Flaviana	VI	Peluso Maria	VII
Chiariello Mario	II	Kisslinger Annamaria	III	Rotoli Deborah	VI
Cirafici Anna Maria	III	Liguoro Domenico	III	Salvatore Giuliana	III
D'Agnello Francesco	VII	Mascia Anna	III	Speranza Giulia	VII
De Cristofaro Tiziana	III	Mastrocinque Michele	V	Zannini Maria Stella	II

Temi

Tematiche di ricerca

I quattro moduli di ricerca della commessa hanno lo scopo di:

- 1) Identificare e caratterizzare nuovi co-regolatori dei fattori trascrizionali tiroidei Pax8 e TTF-1 coinvolti nel differenziamento e nella tumorigenesi tiroidea.
- 2) Investigare i meccanismi della trasformazione neoplastica nei tumori tiroidei in cui è presente il riarrangiamento della proteina tirosin-chinasi RET, l'incremento dell'attività di NF-kB e di differenti chemochine, e sviluppare nuovi tools farmacologici in grado di bloccare l'attività oncogena di queste proteine.
- 3) Chiarire i meccanismi mediante i quali le proteine HMGA e PATZ sono coinvolte nello sviluppo di adenomi ipofisari e nella tumorigenesi in generale, allo scopo di sperimentare nuovi farmaci in grado di contrastare lo sviluppo e la progressione tumorale.
- 4) Sviluppare strategie terapeutiche innovative in oncologia, attraverso l'identificazione di nuovi bersagli molecolari e lo sviluppo di nuove molecole. In particolare, saranno sviluppate strategie basate sull'uso di biomolecole di RNA non codificanti (miRNA, siRNA, aptameri) validate in molteplici tumori.

Stato dell'arte

L'utilizzo di cellule tiroidee differenziate e non-differenziate ha permesso l'identificazione di diverse molecole coinvolte nel differenziamento cellulare. Mediante analisi di microarrays, studi di biologia cellulare e molecolare e di modelli animali, diverse molecole coinvolte nella trasformazione neoplastica delle cellule tiroidee sono state identificate ed alcune di queste sono state utilizzate come bersaglio per terapie antineoplastiche innovative. L'identificazione di ulteriori molecole è un presupposto necessario per ampliare le conoscenze sulla relazione esistente tra differenziamento e trasformazione cellulare. I tumori ipofisari rappresentano il 15% dei tumori intracranici. Nonostante il loro notevole impatto sociale, ancora poco si sa sugli eventi molecolari responsabili della trasformazione ipofisaria ed il loro studio è fondamentale per la ricerca di possibili strategie terapeutiche. L'uso di piccoli ncRNAs come agenti diagnostici o terapeutici è un campo di ricerca in piena espansione. Queste molecole possono regolare la trascrizione, la stabilità, la traduzione del mRNA o anche la funzione stessa delle proteine, per la capacità di alcune di esse di legarle direttamente.



Azioni

Attività da svolgere

- 1) Analisi del ruolo funzionale dei partners, ovvero dei potenziali co-regolatori, dei fattori di trascrizione Pax8 e TTF-1, sia nel differenziamento che nella tumorigenesi tiroidea;
- 2) Comprendere, utilizzando linee cellulari provenienti da carcinomi della tiroide, come la deregolazione di molecole costituenti le giunzioni aderenti possa promuovere la progressione tumorale e la formazione di metastasi;
- 3) Caratterizzazione di geni deregolati nei tumori ipofisari ed analisi del loro ruolo nella trasformazione ipofisaria. Estensione dell'analisi dell'espressione genica alla patologia ipofisaria umana;
- 4) Studio del ruolo delle proteine HMGA1 e PATZ nella tumorigenesi mediante l'utilizzo di topi knockout;
- 5) Identificazione di pathways molecolari coinvolti nella tumorigenesi tiroidea soprattutto di tipo indifferenziato, sullo sviluppo di nuovi tool per il bersagliamento farmacologico di proteine già note e sull'individuazione di nuovi bersagli;
- 6) identificazione e validazione di nuovi bersagli diagnostici e/o terapeutici;
- 7) sviluppo di biomolecole come ligandi specifici di cellule tumorali;
- 8) sviluppo di nuove modalità di 'delivery' delle molecole antitumorali al tessuto affetto.

Punti critici e azioni da svolgere

- 1) Comprendere il ruolo e la funzione dei co-regolatori trascrizionali identificati nel differenziamento della cellula tiroidea ed allo stesso tempo determinare se essi possano avere un coinvolgimento attivo nella tumorigenesi tiroidea;
- 2) Comprendere se i geni deregolati nei tumori ipofisari dei topi transgenici per HMGA2 siano sotto il controllo diretto della proteina HMGA1;
- 3) Completare l'allestimento della collezione di reperti biotipici di patologie ipofisarie umane;
- 4) Caratterizzare il fenotipo dei topi knock-out per le proteine HMGA1 e PATZ;
- 5) Identificare gli eventi fondamentali della trasformazione tiroidea utilizzando tecnologie alternative quali di genomica e proteomica;
- 6) Identificare di interattori strutturali (legame fisico) e funzionali con specifiche molecole della trasduzione del segnale. Validazione della conseguenza biologica dell'interazione nei vari modelli in vitro (test-tube) in cellule ed in animali;

Inoltre in futuro sarà importante instaurare progetti di collaborazione con case farmaceutiche piccole biotech in grado di sviluppare farmaci in grado di bersagliare i target che si dimostreranno migliori in esperimenti preclinici.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze necessarie sono molteplici e comprendono: competenze di oncologia molecolare, di ingegneria genetica, di proteomica, di biochimica, di biologia molecolare e di biologia cellulare.

Sono state sviluppate, inoltre, competenze nell'utilizzo di oociti di *Xenopus Laevis* per lo studio di eventi legati al ciclo cellulare, nella manipolazione di cellule staminali murine e generazione di topi transgenici e knockout, nella manipolazione di lieviti e tecnologia del doppio ibrido per l'analisi delle interazioni proteina-proteina.

Per ogni tipo di tecnologia è disponibile, o è stato istruito tramite corsi specifici, personale del CNR in grado di gestire gli apparecchi e di trasferire la tecnologia ad altri ricercatori afferenti all'istituto.

Strumentazione

- Strumentazione base per laboratori di biologia e cellulare e molecolare
- Luminometro
- Citofluorimetro con sorter
- Microscopio confocale
- Scanner per microarray
- Termociclatore per PCR
- IQCycler per real time PCR
- Gamma-counter
- Microscopio a fluorescenza
- Pyrosequenziatore
- Stabulario SPF convenzionale per la stabulazione e sperimentazione animale



Tecniche di indagine

- Trasfezioni stabili e transienti
- Generazione di vettori procariotici ed eucariotici
- Estrazione di proteine, RNA e DNA da cellule e tessuti umani
- PCR e Real-time PCR
- Northern e Western blot
- Silenziamento genico (RNA interference)
- Saggi di transattivazione
- Saggi di pull-down e co-immunoprecipitazione
- Saggi EMSA e Chromatin immunoprecipitation
- Immunoistochimica,
- Citofluorimetria (FACS)
- SELEX.

Tecnologie

Saranno utilizzate tecnologie ben consolidate, come il 'gene chip microarray' per l'analisi dei profili d'espressione genica e la proteomica (elettroforesi bi-dimensionale e MALDI/MS). Inoltre sarà utilizzata la SELEX, che è una procedura di chimica combinatoriale che consente di selezionare in vitro da vaste librerie di oligonucleotidi a singolo filamento (RNA, DNA o RNA modificato) aptameri caratterizzati da un'elevata affinità di legame verso uno specifico bersaglio.

Collaborazioni (partner e committenti)

Istituzioni internazionali:

CEA / DSV / DRM / SHFJ - INSERM U 803, Francia; CNRS, Gif sur Yvette Francia; Ohio State University, Columbus, US; Dpto. Biología Molecular y Celular, Centro Nacional de Biotecnología, Madrid, Spagna; Instituto de Investigaciones Biomedicas, Madrid, Spagna; Center for Biomedical Integrated Genoproteomics, University of Liege, Belgium; National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIH, Bethesda, MD, USA; Duke University Medical Center, Durham, NC; National Cancer Institute, NIH, Bethesda, MD; Cancer Discovery, Astra Zeneca, Mereside, UK; Bayer Pharmaceuticals Corporation-West Haven, CT 06516; CNRS, Lyon, France; LRI, Cancer UK, London, UK.

Istituzioni Nazionali:

Dpt Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare, Dpt Ingegneria dei Materiali e della Produzione, Dpt Endocrinologia ed Anatomia - Università 'Federico II', Napoli; Istituto Europeo Oncologico, Milano; Istituto dei Tumori di Napoli; CIB, Trieste; Dpt di Scienze Biologiche ed Ambientali, Università degli Studi del Sannio, Benevento; Istituto per il Sistema Produzione Animale in Ambiente Mediterraneo (ISPAAM)-CNR, Napoli; Dpt di Scienze e Tecnologie Biomediche, Università degli Studi di Udine.

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Nel corso del 2006 sono stati presentati i seguenti progetti per la richiesta di finanziamenti.

Proposte di ricerca spontanea a tema libero per il CNR già valutate e giudicate finanziabili:

- 1) Studio del ruolo della proteina HMGA2 nella generazione di adenomi ipofisari
- 2) Meccanismi molecolari coinvolti nel differenziamento e nella tumorigenesi tiroidea
- 3) Un approccio combinatoriale per la selezione in vitro di acidi nucleici come nuovi agenti terapeutici per il cancro

Sottomessi alla Regione Campania (L.R. N.5 del 28.03.2002), attualmente in corso di valutazione:

- 1) Studio della proteina HMGA1 nell'ipertrofia cardiaca e nella tumorigenesi
- 2) Identificazione e caratterizzazione di nuovi partners del fattore trascrizionale Pax8 in cellule tiroidee differenziate
- 3) Sviluppo di un approccio combinatoriale per la selezione in vitro di acidi nucleici come ligandi biologicamente attivi in oncologia

Sottomessi all'Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro, attualmente in corso di valutazione:

- 1) Ruolo critico di PATZ, un nuovo potenziale oncosoppressore, nella tumorigenesi
- 2) Thyroid differentiation and tumorigenesi: role of new coregulators of the transcription factors Pax8 and TTF1



Finalità

Obiettivi

- 1) Identificazione, mediante cromatografia di affinità su estratti proteici di cellule tiroidee, di interattori biochimici dei fattori di trascrizione Pax8 e TTF-1 ed analisi del loro ruolo sia nel differenziamento che nella tumorigenesi tiroidea.
- 2) Caratterizzazione delle modificazioni post-traduzionali di Pax8 in grado di regolare l'attività trascrizionale.
- 3) Identificare più in generale le basi molecolari della cancerogenesi tiroidea e su tale conoscenza disegnare strategie terapeutiche innovative per la cura dei tumori della tiroide.
- 4) Studio del ruolo di HMGA2 nello sviluppo degli adenomi ipofisari umani ed identificazione dei geni la cui espressione è regolata da HMGA2.
- 5) Ricerca di nuovi farmaci in grado di bloccare e/o fare regredire lo sviluppo di adenomi ipofisari nell'uomo.
- 6) Sviluppo di strategie combinatoriali innovative accoppiate a piattaforme tecnologiche ad alto livello di risoluzione per il trasferimento delle conoscenze dei meccanismi molecolari della trasformazione neoplastica a strategie innovative in oncologia.

Risultati attesi nell'anno

- 1) Caratterizzazione biochimica e funzionale dell'interazione tra i fattori di trascrizione Pax8 e TTF-1 ed i loro partners identificati, in cellule tiroidee e non tiroidee. Silenziamento genico dei coregolatori trascrizionali in una linea cellulare tiroidea differenziata
- 1) Studio dei geni Pit-1 e MIA e della interazione con la proteina HMGA1
- 2) Completamento dell'analisi d'espressione differenziale nei tumori ipofisari umani rispetto ad ipofisi umana di controllo dei geni deregolati nei tumori ipofisari dei topi trasgenici per le proteine HMGA
- 3) Analisi delle suscettibilità allo sviluppo di neoplasie da parte dei topi knockout per il gene HMGA1o per il gene PATZ
- 4) Ci aspettiamo di ottenere informazioni circa il coinvolgimento di APC, TGFbetaR, ERK8, NFkappaB nella tumorigenesi tiroidea
- 5) Ci aspettiamo di individuare almeno parzialmente la funzione cellulare di NCOA4 e H4. Ci aspettiamo di individuare nuove molecole anti-RET
- 6) Coinvolgimento della fosfatasi Shp-1 nella proliferazione cellulare e suo significato biologico in carcinoma di mammella
- 7) Identificazione di attameri di RNA in grado di riconoscere epitopi di superficie di cellule di glioma del fenotipo tumorale

Potenziale impiego

- per processi produttivi

L'utilizzo di linee cellulari e di modelli animali permette l'identificazione di nuove molecole che possono risultare bersagli terapeutici per la cura dei tumori. L'uso, inoltre, di modelli animali in grado di riprodurre una patologia neoplastica umana ha la potenzialità di servire come modello pre-clinico per la sperimentazione di nuovi farmaci in grado di intervenire e bloccare un determinato processo tumorale.

La ricaduta di questo progetto sul piano applicativo, quindi, è legata all'identificazione di nuovi bersagli terapeutici e alla sperimentazione di nuovi farmaci.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

L'identificazione e la caratterizzazione di nuovi bersagli terapeutici, nonché la sperimentazione di nuove molecole in modelli animali sono il presupposto per la generazione di nuovi farmaci utilizzabili in terapia oncologica.

Moduli

Modulo:	Ruolo delle proteine cromatiniche nella tumorigenesi
Istituto esecutore:	Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale "Gaetano Salvatore"
Luogo di svolgimento attività:	Sede principale Istituto
Modulo:	Caratterizzazione di nuovi co-regolatori trascrizionali coinvolti nel differenziamento e nella tumorigenesi tiroidea
Istituto esecutore:	Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale "Gaetano Salvatore"
Luogo di svolgimento attività:	Sede principale Istituto



Risorse commessa 2007

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
1.358	131	369	0	1.858	237	737	244	N.D.	2.339

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
20	32

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
3	6	2	0	0	0	0	1	6	18

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



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

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare
Tipologia di ricerca:	Progetti di sviluppo competenze
Istituto esecutore:	Istituto di biomedicina e immunologia molecolare 'Alberto Monroy'
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	AGATA GIALLONGO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Anello Letizia	V	Giallongo Agata	I	Sanzone Sabrina	VII
Bongiovanni Antonella	III	Parisi Pietrina	V	Scatassa Valentina	VII
Bonsignore Giovanni	DIRE	Riccobono Daniela	VII	Spera Donatella	VII
Cavoli Francesca	VIII	Romancino Daniele	III	Tarantino Provvidenza	VII
Di Bernardo Maria	II	Rubino Patrizia	VI	Turatto Rosa	VII

Temi

Tematiche di ricerca

La ricerca proposta riguarda lo studio delle fasi precoci dello sviluppo embrionale e del differenziamento cellulare in condizioni normali ed alterate. Le principali tematiche sono: a) analisi funzionale di geni con homeobox in relazione alla determinazione dei destini cellulari durante lo sviluppo embrionale b) caratterizzazione della funzione di BERF-1/ZBP-89 e Ozz-E3 nel differenziamento miogenico mediante l'uso di linee cellulari, colture primarie, topi KO per Ozz, e l'analisi del proteoma.

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), nonché ad alterazioni nella trasduzione del segnale.

Nell'ambito di questa tematica i nostri risultati hanno dimostrato che il silenziamento di Ozz comporta un danno tissutale a carico del muscolo nei topi KO. Un'altra tematica affrontata ha portato all'identificazione di un effetto negativo sul differenziamento miogenico da parte di mutanti del fattore della trascrizione BERF-1/ZBP-89. Nel riccio di mare abbiamo identificato una relazione funzionale fra la perturbazione dell'espressione di specifici geni regolatori (PI0tp e PIHbox12) e, rispettivamente, l'accrescimento scheletrico e modificazioni essenziali nel pattern di sviluppo.

Azioni

Attività da svolgere

La regolazione dell'espressione dei geni HB12, almeno sei membri ordinati in un cluster, sembra guidare eventi essenziali nelle prime fasi dello sviluppo embrionale del riccio di mare. Verrà studiato il ruolo della conformazione della cromatina nella loro regolazione spazio-temporale. Si vuole inoltre ottenere un anticorpo policlonale efficace per lo studio del network genico.

Il ruolo del fattore BERF-1/ZBP-89 nel differenziamento miogenico sarà studiato avvalendosi di sistemi di espressione inducibili per analizzare gli effetti di una modulazione dell'espressione (sovradosaggio o silenziamento) e identificare targets molecolari (differential proteome analysis). Sarà condotta l'identificazione tramite spettrometria di massa delle isoforme di BERF-1/ZBP-89. Come osservato nel sistema murino geneticamente modificato, Ozz è importante per il corretto sviluppo del muscolo scheletrico. Lo studio è volto alla comprensione degli effetti di una modulazione dell'attività di Ozz sullo sviluppo del muscolo. Ci proponiamo di analizzare il ruolo di una proteina 'partner', identificata con saggio Two-Hybrid, sulla localizzazione cellulare, stabilità proteica, e attività del complesso Ozz-E3.

Punti critici e azioni da svolgere

L'analisi della struttura della cromatina verrà condotta attraverso l'uso di inibitori delle HAT e HDAC. Per lo studio del network genico tramite esperimenti di immunoprecipitazione è essenziale ottenere un anticorpo



che riconosca la proteina nativa, cosa che fino ad ora non è stata possibile. Pensiamo di risolvere il problema cambiando vettore e condizioni di espressione e purificazione.

I dati da noi generati indicano l'esistenza di una regolazione post-trascrizionale dell'espressione del fattore BERF-1/ZBP-89 basata su una modulazione della stabilità del messaggero. Questo potrebbe costituire un problema per gli studi di espressione ectopica, probabilmente superabile con l'uso dei sistemi inducibili e di proteine di fusione ER-BERF-1/ZBP-89 ('shuttling' citoplasma/nucleo).

L'analisi del 'cross-talk' tra Ozz e la proteina 'partner' è stata condotta su linee cellulari ed in vitro. La messa a punto di tecniche che consentono il silenziamento –mediante uso della tecnica siRNA- e l'overespressione dei due geni condotta utilizzando cellule miogeniche primarie isolate da topi normali e manipolate in vitro, consentirà di utilizzare questo sistema cellulare ex-vivo per i nostri studi.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

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.

In aggiunta alla messa a punto di sistemi cellulari stabili e transienti per modulare l'espressione genica e identificare targets ed associazioni proteiche, il personale afferente alla commessa ha acquisito competenze per la generazione di topi geneticamente mutati e per la manipolazione tramite microiniezione di embrioni di riccio di mare.

Strumentazione

Microscopio a fluorescenza, termociclatore (standard e Real Time), microiniettore, citofluorimetro.

Tecniche di indagine

Bioteχνologie molecolari e cellulari: microiniezioni in embrioni, trasfezioni stabili e transienti, microscopia a fluorescenza, western blot, immunoblot, gel bidimensionali, proteomica, spettrometria di massa, RT-PCR, Realtime PCR. Strategie per la generazione di modelli animali transgenici

Tecnologie

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. 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

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Si stanno valutando le possibilità di finanziamento offerte dai bandi del VII programma quadro della UE.

Partecipazione alla selezione per finanziamento Telethon 2007.

Partecipazione alla selezione per finanziamento AIRC 2007.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo è l'identificazione di nuovi targets molecolari nel network funzionale dello sviluppo embrionale e della specializzazione cellulare con lo scopo di formulare nuovi approcci farmacologici e terapeutici.

Risultati attesi nell'anno

Non ci sono molti studi sul ruolo della struttura della cromatina nella regolazione dell'espressione nelle prime fasi dello sviluppo del riccio di mare ed il gruppo dei geni HB12 sembra un ottimo strumento. Ci aspettiamo che il pattern di espressione spazio temporale subisca modificazioni. Inoltre, gli antisieri, se ottenuti contro una proteina solubile, saranno saggiati su estratti embrionali ed embrioni (whole mount).

Per quanto riguarda lo studio di BERF-1/ZBP-89 si prevede l'identificazione di nuovi targets molecolari rilevanti per il network del differenziamento miogenico e di varianti proteiche con potenziale attività dominante negativo.

I risultati attesi riguardano la modulazione dell'attività del complesso Ozz-E3 da parte di una proteina 'partner' recentemente identificata. È possibile supporre che tale modulazione avrà delle conseguenze, che valuteremo, anche nello sviluppo del muscolo scheletrico.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Le conoscenze acquisite potrebbero in futuro essere utilizzate per lo sviluppo di test diagnostici e terapie mirate e quindi essere di particolare interesse per l'industria farmaceutica e l'industria biomedica



- per risposte a bisogni individuali e collettivi

A lungo termine, i risultati del progetto potranno contribuire al miglioramento del processo di diagnosi di patologie associate ad una alterazione dei meccanismi molecolari che regolano determinazione, proliferazione e differenziamento nelle prime fasi dello sviluppo.

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

Risorse commessa 2007

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
373	61	16	102	552	0	77	64	N.D.	616

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	7

*equivalente tempo pieno

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

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

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Interrelazione nucleo/citoplasma/mitocondri nell'omeostasi cellulare.

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare
Tipologia 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:	ERSILIA MARRA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Atlante Anna	II	Lattanzio Paolo	V	Perlino Elda	II
Bobba Antonella	II	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

Tem

Tematiche di ricerca

Studio e caratterizzazione delle vie di comunicazione citoplasma-nucleo nella risposta cellulare allo stress e di enzimi e fattori implicati nell'omeostasi di cofattori flavinici.

Identificazione di determinanti molecolari e caratterizzazione della bioenergetica mitocondriale nella morte cellulare di cellule eucariotiche animali e vegetali.

Caratterizzazione del meccanismo di morte cellulare programmata in *Saccharomyces cerevisiae*: ruolo del citocromo c, produzione di ATP, ruolo della comunicazione mitocondri-nucleo; sistemi proteolitici intracellulari.

Studio e caratterizzazione del network di interazioni intra- ed inter-cellulari nella regolazione di proliferazione, invasione e morte cellulare.

Individuazione di nuovi biomarkers tumorali per fini diagnostici e/o prognostici

Studio dei geni coinvolti nella regolazione dei processi che stimolano e/o inibiscono la proliferazione delle cellule eucarioti (omeostasi) e dei meccanismi responsabili di patologie a base proliferativa.

Stato dell'arte

Così come cellule diverse posseggono caratteristiche strutturali e funzionali differenti anche i mitocondri di varia origine si distinguono per proprietà di permeabilità e metabolismo diversi. I mitocondri si stanno rivelando fattori chiave nella regolazione della crescita/morte cellulare, nella segnalazione intracellulare e nell'integrazione dei segnali di stress. Il delicato bilancio fra morte e proliferazione cellulare è essenziale non solo nei processi di embriogenesi e omeostasi degli organismi viventi ma anche nella genesi di diverse patologie, dalle malattie degenerative al cancro. Alterazioni genetiche e/o metaboliche mitocondriali sono coinvolte nell'eziologia di diversi tumori, contribuendo sia al fenotipo invasivo delle cellule tumorali che alla resistenza ad andare incontro ad apoptosi in seguito a trattamento chemioterapico. Su queste basi, i mitocondri sono attualmente considerati potenziali targets nelle terapie oncologiche. L'alto grado di conservazione dei processi cellulari e molecolari fra lievito *S. cerevisiae* e gli eucarioti superiori rendono il lievito un sistema modello per gli studi sui geni e sulle vie metaboliche coinvolti in vari processi fisiopatologici



Azioni

Attività da svolgere

Lo studio dei meccanismi molecolari responsabili della regolazione dei processi di morte e proliferazione cellulare si avvarrà di diversi modelli: Colture di cellule neuronali, di cellule vegetali, di cellule umane normali e trasformate e di lieviti.

L'attività da svolgere comprende:

Studio del ruolo svolto dall'ossido nitrico nella progressione dell'apoptosi neuronale.

Identificazione di composti ad azione farmacologica in grado di modulare l'apoptosi e di esplicitare un effetto protettivo sulle cellule nervose

Studio del ruolo dei sistemi proteolitici nella morte cellulare programmata in colture di cellule vegetali

Studio del processo di rilascio del citocromo c e del ruolo delle specie reattive dell'ossigeno nel meccanismo di morte programmata indotta da acido acetico in *S. cerevisiae*

Analisi dell'espressione di potenziali biomarkers diagnostici/prognostici mediante Tissue microarrays

Analisi del fenotipo cellulare indotto da stress genetico e/o metabolico mitocondriale in cellule normali e tumorali di prostata

Studio della regolazione dell'espressione del gene codificante la Clusterina in vivo, nel tessuto endometriale umano in diverse condizioni fisio-patologiche

Punti critici e azioni da svolgere

PUNTI CRITICI: Si ribadisce l'esigenza di rinnovare e/o integrare la strumentazione disponibile (incubatore crio-termostato; citometro a flusso).

Ulteriore punto critico resta la difficoltà di trattenere e/o attrarre giovani ricercatori per la mancanza di concrete prospettive quali borse di studio per dottorati e post-dottorati

CONDIZIONI DI FATTIBILITÀ: 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

Competenze nel campo della Biologia cellulare, Biochimica, Biologia Molecolare e Genetica Molecolare con particolare riferimento a:

Allestimento e mantenimento di colture di cellule tumorali, di neuroni, di cellule vegetali (*Nicotiana Tabacum*) e di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*)

Bioenergetica e biogenesi mitocondriale

Studio dell'espressione genica in tessuti e/o colture cellulari umane.

Interazione delle cellule con la matrice extracellulare (adesione)

Meccanismi di regolazione dei processi di morte cellulare programmata, invasione/metastasi, proliferazione e resistenza alla morte cellulare

Meccanismi di trasduzione del segnale out-in e in-out

Meccanismi di regolazione dell'espressione genica e dell'attività di vie di segnale intracellulari

Cross-talk nucleo-citoplasma-mitocondri

Strumentazione

Spettrofotometri

Spettrofluorimetri

Elettroporatore

Cappe per colture cellulari a flusso laminare

Incubatori CO₂

Thermal Cycler per PCR

Apparati per elettroforesi e trasferimento di proteine ed acidi nucleici

Densitometro Bio-Rad GS 700

Laboratorio attrezzato per esperimenti di ibridazione molecolare con sonde radioattive

Analizzatore di fluorescenza/chemiluminescenza/radioattivo Amersham Typhoon 8600

HPLC

Microscopio ottico

Microscopio a contrasto di fase

Microscopio in epifluorescenza



Tecniche di indagine

Saggi di caratterizzazione di morte cellulare (analisi di sopravvivenza cellulare, analisi di integrità del genoma nucleare, analisi di attività proteolitica)

Saggi di funzionalità mitocondriale (attività di carrier mitocondriali, indice di controllo respiratorio, dosaggi di attività enzimatica)

Saggi di caratterizzazione del fenotipo cellulare neoplastico (espressione di geni markers tumorali, attività di vie di trasduzione del segnale, adesione, invasione, proliferazione, resistenza alla morte cellulare, ...)

Trasfezione di cDNAs, antisense oligonucleotides, small interference RNAs (siRNA)

Analisi dell'espressione genica e della biosintesi delle proteine. Northern Blotting, Western Blotting, Analisi dell'immagine

Tecnologie

Manipolazione genetica di cellule umane in coltura (linee cellulari) mediante transfezione o trattamento chimico

Manipolazione genetica di cellule di lievito

Collaborazioni (partner e committenti)

Istituto di Neurologia e Medicina Molecolare, CNR, Roma

Dip Scienze per la Salute, Univ del Molise, Campobasso

Dept of Pathology, UT Southwestern Medical Center, Dallas (TX), USA

Dept of Pathology and Laboratory Medicine, University of Rochester (NY), USA

Dept of Cancer Biology, School of Medicine, Univ Massachussets, Worcester, MA, USA

Dip di Biologia e Patologia Vegetale, Univ Bari

CIR, Università Campus Biomedico, Roma

Dept of Molecular Biology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX, USA

Dep de Biologia, Universidade do Minho, Braga, Portogallo

Biochemisches Institut der Universität Zürich, Svizzera

Medical Genetic Center, Vilnius University Hospital, Lituania

Institute Pasteur de Tunis, Tunisi, Tunisia

Dip dell'emergenza e dei trapianti di organi, Univ Bari

Dip Anatomia Patologica e di Genetica (DAPEG), Sezione di Anatomia Patologica, Univ Bari

Laboratorio di Biologia Sperimentale, Istituto Oncologico, Bari

Dip Biologia e Patologia Molecolare e Cellulare, Facoltà di Medicina, Univ Federico II Napoli

Institut fur Biochemie und Molekular Biologie, Universitat Freiburg, Freiburg, Germany

Dip Biologia Cellulare, Univ della Calabria, Arcavacata di Rende (CS)

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

L'attività di ricerca della commessa pur essendo in prevalenza orientata verso la ricerca di base è caratterizzata anche da una forte componente di trasferimento tecnologico. Alla luce di queste proprietà già da tempo sono state sviluppate linee di ricerca fortemente orientate verso il settore biomedico con notevoli potenzialità di sviluppo di protocolli diagnostici e/o prognostici in campo applicativo. Pertanto si è costituita una fitta rete di collaborazioni tale da consentire una proficua interazione con gruppi clinici che ci consentirà di presentare application per progetti finalizzati alla ricerca orientata.

Si prevede la:

Presentazione di progetti di collaborazione scientifica multilaterale presso Agenzie nazionali ed internazionali

Partecipazione a network internazionali per accedere a finanziamenti nell'ambito del VII Programma Quadro della Comunità Europea.

Progetti bilaterali

Progetti di cooperazione e trasferimento tecnologico con Paesi Terzi Mediterranei.



Finalità

Obiettivi

In diversi sistemi cellulari modello si caratterizzeranno:

La sequenza di eventi ed i determinanti molecolari coinvolti nel signaling della morte e della proliferazione cellulare

Il ruolo dei mitocondri nella risposta cellulare allo stress e nella resistenza alla morte cellulare.

Il ruolo di alcuni geni codificanti proteine di regolazione nel processo di proliferazione cellulare durante la progressione da cellula normale a cellula maligna trasformata.

I biomarkers con potenzialità diagnostica nel distinguere il tumore dalle patologie benigne dello stesso organo

Le vie di trasduzione di segnali in-out e out-in alterate durante l'inizio e/o la progressione tumorale al fine di individuare nuovi bersagli molecolari per innovative strategie terapeutiche anti-tumorali

Il ruolo dei mitocondri nella bioenergetica della morte cellulare programmata in colture cellulari di *Nicotian tabacum* sottoposte a shock termico

La sequenza degli eventi e dei determinanti molecolari coinvolti nel meccanismo molecolare della morte cellulare programmata indotta da acido acetico in *S. cerevisiae*.

Risultati attesi nell'anno

PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE su riviste nazionali ed internazionali;

SVILUPPO di tecnologie che consentono la comprensione di meccanismi di base e possibili applicazioni;

TRASFERIMENTO TECNOLOGICO di metodologie sperimentali verso ospedali, Laboratori di analisi, Parchi scientifici e tecnologici e PMI nel campo bio-sanitario.

IDENTIFICAZIONE di composti farmacologicamente attivi in grado di limitare lo stress ossidativo che si instaura nella morte cellulare per apoptosi.

IDENTIFICAZIONE DI BERSAGLI TERAPEUTICI per patologie tumorali e neurodegenerative.

Identificazione della sequenza di eventi e valutazione della correlazione causale-temporale negli stadi molecolari cruciali della morte cellulare programmata

Identificazione di nuovi biomarkers aventi potenzialità diagnostica nel distinguere il tumore dalle patologie benigne dello stesso organo

Caratterizzazione del ruolo dei mitocondri nell'eziologia del carcinoma di prostata

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Le tecnologie biologiche messe a punto nello sviluppo delle attività di ricerca della commessa hanno una importante ricaduta nel campo della salute umana. Esse rappresentano un valido potenziale per il trasferimento tecnologico in campo sanitario sia a livello di prevenzione che di intervento terapeutico. Gli studi in corso sono finalizzati all'individuazione di composti che influenzino positivamente la funzionalità cellulare e mitocondriale. I risultati attesi potrebbero aprire nuove prospettive sia a livello di prevenzione che di intervento terapeutico in diverse malattie neurodegenerative e proliferative. Inoltre, nell'ambito dello sviluppo di farmaci basati sul bersaglio, il lievito *S. cerevisiae* costituisce un valido strumento per lo studio dell'interazione chimica fra farmaci e bersagli biologici.

Parole chiave: peptici neurotossici, agenti farmacologici, agenti antitumorali, diagnostica, clinica

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Individuazione di molecole ad azione anti- e pro-apoptotica e di nuovi bersagli molecolari per la diagnosi e la terapia di patologie neoplastiche e neurodegenerative.

Design di nuovi farmaci contro specifici targets molecolari al fine di bloccare/rallentare la progressione della morte cellulare, la proliferazione cellulare tumorale e/o la formazione di metastasi

Individuazione di nuovi markers biologici per la diagnosi e terapia dei tumori e delle malattie degenerative

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 2007

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
720	16	65	0	801	55	136	85	N.D.	941

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
9	12

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	3	0	3

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Trasduzione del segnale e malattie multifattoriali

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di biologia cellulare
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	STEFANO ALEMA'

Elenco dei partecipanti

Alema' Stefano	liv. I	Cozzari Costantino	liv. III	Papoff Giuliana	liv. III
Cardinali Beatrice	III	Falcone Germana	II	Ruberti Giovina	I
Cascino Isabella	III	Lancia Eleuteria	VI		

Temi

Tematiche di ricerca

Generazione di modelli animali e cellulari per lo studio dei regolatori negativi dei recettori tirosin-chinasi. 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. Identificazione di target trascrizionali della proteina p63. Approcci molecolari e cellulari per l'identificazione di nuovi interattori di TRADD e FADD. Caratterizzazione del controllo post-trascrizionale di messaggeri tessuto-specifici. Ruolo dei micro RNA durante la miogenesi. Ricerca di sequenze che regolano la stabilità del mRNA e la localizzazione cellulare di CTLA-4. Caratterizzazione funzionale di polimorfismi associati al diabete di tipo I ed alla spondilite anchilosante.

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. E nostra convinzione che una migliore conoscenza del meccanismo di azione di mediatori del segnale dovrebbe fornire la base razionale per l'identificazione di nuove classi di agenti terapeutici selettivi.

Azioni

Attività da svolgere

Funzione dell'adattatore Eps8 nell'adesione cellula-cellula caderina-dipendente e nella motilità cellulare. Espressione genica e regolazione dei circuiti trascrizionali da parte della proteina p63 in cellule epiteliali stem. Meccanismo d'azione delle proteine Ralt e Ligr1 come inibitori feed-back dei recettori ErbB. Delucidazione dei meccanismi di espressione genica tessuto-specifica in cellule trasformate da oncogeni noti. Studio del controllo post-trascrizionale dei geni muscolo-specifici ed analisi del pattern di espressione di microRNA durante la miogenesi in vitro. Studio del ruolo dell'interazione FADD/Calmodulina e TRADD/Calmodulina nel controllo del ciclo cellulare e dell'apoptosi. Ricerca di molecole anti-ossidanti e/o riducenti per residui di metionina. Ricerca di fattori interagenti con il 3' UTR di CTLA4. Analisi dell'associazione di un polimorfismo del gene Foxp3 con il Diabete di tipo 1. Studio dei polimorfismi del gene che codifica per il recettore specifico per HLA-E come elemento rilevante per l'insorgenza della Spondilite anchilosante.

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 lo svolgimento di alcune delle linee di ricerca in corso. 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. Sarà necessario intraprendere collaborazioni con gruppi di ricerca che producono librerie di molecole organiche e/o naturali di basso peso molecolare da utilizzare nella selezione di molecole anti-ossidanti e/o riducenti per residui di metionina; e con un gruppo di ricerca con esperienza in elettroforesi bidimensionale seguita da spettrometria di massa per la caratterizzazione dei fattori di regolazione trascrizionale e stabilità dei mRNA. Il punto critico per gli studi



delle associazioni genetiche con le malattie multifattoriali è la disponibilità di grandi numeri di pazienti e controlli. In questo ambito le collaborazioni con i clinici medici sono particolarmente importanti.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

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.

Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

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

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Partecipazione ai bandi AIRC (Dicembre 2006). Ricerca di Partners per la Partecipazione ai bandi dei Progetti di Ricerca nell'ambito del VII Programma Quadro di Ricerca e Sviluppo Tecnologico dell'Unione Europea (2007-2013).

Finalità

Obiettivi

Risultati attesi nell'anno

Identificazione di nuovi regolatori negativi dei recettori ErbB. Caratterizzazione dei meccanismi molecolari che regolano l'interazione funzionale del citoscheletro di actina e i complessi delle caderine. Identificazione delle regioni bersaglio del controllo della stabilità dei trascritti muscolo-specifici e dei microRNA espressi specificamente in miociti differenziati terminalmente o alterati dall'oncoproteina v-Src. Caratterizzazione di processi cellulari regolati dall'interazione di FADD e TRADD con la Calmodulina. Identificazione di fattori nucleari e/o citoplasmatici che legano il 3' UTR di CTLA-4 e caratterizzazione dei meccanismi di regolazione della stabilità e dell'efficienza traduzionale dell'mRNA di CTLA4. Associazione genetica mediante studi caso-controllo di polimorfismi, nei geni presi in esame, con le malattie in studio.

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 cellulare
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
461	178	31	277	947	125	334	128	N.D.	1.200

valori in migliaia di euro



<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
7	7

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
5	1	0	6

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Segnali cellulari critici nella biologia della cellula neoplastica

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte 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:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	MELCHIORRE CERVELLO

Elenco dei partecipanti

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

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 terapeutici, ha determinato lo studio dell'immunoterapia e l'identificazione di target molecolari critici per l'individuazione di nuovi agenti chemioterapici.

Azioni

Attività da svolgere

Continueremo i nostri studi sull'azione antitumorale degli inibitori selettivi delle cicloossigenasi (COX-1 e COX-2), analizzando anche gli aspetti COX-indipendenti. Focalizzeremo la nostra attenzione sull'azione degli inibitori delle COX sull'attività del fattore di trascrizione NF-kB. Analizzeremo gli effetti sulla crescita e l'induzione dell'apoptosi su cellule di epatocarcinoma della combinazione di inibitori dell'attività del fattore di trascrizione NF-kB con inibitori selettivi delle COX. Nel caso in cui si osserverà un effetto sinergico tra i farmaci usati studieremo le basi molecolari della loro interazione. Allo scopo di definire in cellule di melanoma il signaling mediato da un anticorpo che mima l'interazione del TCR con le molecole MHC II, studieremo la regolazione delle chinasi associate ai recettori di adesione tra cui FAK così come l'eventuale regolazione del contenuto proteico delle vescicole secrete. E' inoltre nostra intenzione studiare la regolazione dei recettori di adesione così come delle molecole ad essi associate in cellule di melanoma trattate con i complessi (Bu₂Sn)₂TPPS e (Bu₃Sn)₄TPPS quali targets molecolari del signaling da essi attivato.

Punti critici e azioni da svolgere

La programmazione sperimentale, le azioni da svolgere e la loro fattibilità sembrano appropriate ai risultati che ci si propone di ottenere. Tuttavia, rimangono alcuni problemi che frenano lo sviluppo dell'attività di ricerca:

1. gran parte della strumentazione è obsoleta e va ampliata sia quantitativamente che qualitativamente;
2. carenza di personale in formazione (borsisti e assegnisti);
3. impossibilità di avere nuovi collaboratori a tempo indeterminato. Queste ultime due condizioni limitano moltissimo una programmazione della ricerca in termini pluriennale.

Inoltre, rimane il problema della mancanza di una 'facility' per stabulare animali da esperimento, cosa che darebbe la possibilità alla commessa di effettuare studi 'in vivo' con conseguente salto di qualità della ricerca.



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

La Commessa si avvale delle competenze di biochimica, biologia molecolare e cellulare possedute dai componenti del gruppo di ricerca.

Strumentazione

cappe a flusso laminare, incubatori CO₂, microscopi a fluorescenza, citofluorimetro, luminometro, centrifughe, ultracentrifughe, termociclatore, apparecchi per elettroforesi di proteine e acidi nucleici

Tecniche di indagine

culture cellulari, western blot, RT-PCR, PCR, immunofluorescenza indiretta, immunisto chimica, immunoprecipitazione, frazionamenti cellulari, citofluorimetria, trasfezioni cellulari

Tecnologie

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.

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Richiesta di rinnovo del progetto di ricerca dell'Associazione per la Ricerca sul Cancro (AIRC: call for proposal 2007) e partecipazione al nuovo bando AIRC (call for proposal 2008). Richiesta di finanziamenti ad industrie del settore farmaceutico per lo sviluppo di nuove applicazioni terapeutiche (antitumorali) di farmaci già commercializzati per altro uso (FANS, immunosoppressori, etc).

Si prevede inoltre di concorrere per l'attribuzione di nuovi finanziamenti da parte dell'Unione Europea nell'ambito dell'Advanced Investigator Research Grant nel quadro FP7.

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

- validazione della COX-1 e della COX-2 e del fattore di trascrizione NF-kB come bersagli molecolari nel carcinoma epatocellulare;
- effetti sinergici usando i FANS in combinazione con inibitori del fattore di trascrizione NF-kB;
- comprensione dei meccanismi molecolari responsabili della risposta ai trattamenti farmacologici;
- identificazione della porzione di FAK localizzata nelle raft lipidiche 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;
- caratterizzazione del contenuto proteico delle vescicole secrete dalle cellule di melanoma in seguito a stimolazione;
- comprensione della regolazione di FAK nelle cellule di melanoma trattate con i complessi (Bu₂Sn)₂TPPS e (Bu₃Sn)₄TPPS.

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:

Sede principale Istituto



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 2007

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	52	28	85	400	28	108	49	N.D.	477

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	6

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	1	0	0	0	0	7	8

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	3	3	6

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Sviluppo, Differenziamento e Trasformazione Cellulare

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte 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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	FELICE TIRONE

Elenco dei partecipanti

Allegria Leda	liv. IV	Farioli Vecchioli Stefano	liv. III	Ridolfi Alessandro	liv. IV
Baron Livio	IV	Febbraro Cardello Vincenzo	VIII	Salvatore Anna Maria	III
Bracci Laudiero Luisa	III	Levi Andrea	I	Starace Giuseppe	II
Campioni Nadia	V	Maresci Americo	IV	Subania Bruno	VII
Caruso Maurizia	II	Mirabelli Angela Maria	V	Tirone Felice	II
Colasuonno Marisa	VII	Moretti Fabiola	V	Vaccaro Domenico	VII
De Cresci Patrizia	VII	Papa Pamela	VII	Vaccaro Romeo Aldo	VII
Dominici Roberto	V	Procida Paola	VII		

Temi

Tematiche di ricerca

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

Stato dell'arte

Durante lo sviluppo di un organismo, le cellule embrionali acquistano uno specifico destino cellulare, differenziano e cessano di proliferare. Questi processi sono indotti da segnali extracellulari che regolano fattori trascrizionali tessuto-specifici la cui attività è strettamente associata al controllo del ciclo cellulare. L'alterazione di queste regolazioni è all'origine della tumorigenesi, ove la cellula perde la capacità differenziativa e acquista un illimitato potenziale proliferativo.

Azioni

Attività da svolgere

- 1) Caratterizzazione del differenziamento di cellule miogeniche in cui l'espressione della ciclina D3 sia stata abolita tramite 'RNA interference' o 'gene knockout'. Studio dei meccanismi tramite cui pRb regola l'espressione dei fattori di rimodellamento della cromatina Brm e INI1.
- 2) Analisi dei target cellulari del neuropeptide TLQP-21.
- 3) Studio della funzione della telomerasi nella risposta di cellule endoteliali a fattori angiogenetici.
- 4) Proseguimento dello studio del differenziamento in condizioni normali e patologiche dei precursori neuronali del cervelletto e dell'ippocampo, durante il periodo embrionale ed adulto.
- 5) Studio del ruolo del gene PC4/IFRD1 nella rigenerazione del muscolo.
- 6) Caratterizzazione dei domini delle proteine EPS3 e p120 responsabili della loro interazione e studio della regolazione di questa interazione da parte di fattori di motilità cellulare.
- 7) Ulteriore caratterizzazione della funzione proapoptotica di MDM4 con particolare enfasi alle modificazioni post-traduzionali che regolano tale funzione.

Punti critici e azioni da svolgere

Tempi più lunghi da assegnare alle fasi della produzione di linee di topi transgenici e knock-out .

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

I partecipanti alla commessa hanno elevate competenze di biologia molecolare e cellulare, di biologia dello sviluppo, di biochimica delle proteine, microscopia ottica e confocale. Hanno inoltre competenza nella produzione e analisi di modelli animali per studi preclinici.



Strumentazione

- Real time PCR;
- Facility per la stabulazione di topi e apparecchiature per la produzione e utilizzo di animali transgenici e knock out
- Microscopia a fluorescenza e confocale
- Imaging system per visualizzazione e quantificazione di acidi nucleici e proteine (Odissey e Geldoc Biorad)
- Spettrofluorimetro, luminometro e citofluorimetro
- Laboratorio radioisotopi; strumentazione per la misurazione di traccianti radioattivi (beta e gamma counter)
- Autoclavi, stufe, lavastoviglie
- Camere sterili per colture cellulari a livello di sicurezza P2
- Agitatori per crescita batteri
- Supercentrifughe e ultracentrifuga
- Freezers a -80 C
- Camere termostate a +37 C e +4 C
- Facility di neuro-genomica funzionale in collaborazione con EBRI (strumentazione per ibridare e analizzare microarrays Agilent);
- Facility per la criopreservazione in azoto liquido

Tecniche di indagine

- Tecniche di ingegneria genetica per l'isolamento e la modificazione di geni
- Tecniche di biologia molecolare per l'analisi dell'espressione genica (PCR quantitativa; quantificazione di espressione genica mediante saggi con geni reporter (mediante radioattività e/o luminescenza)
- Tecniche per esprimere geni in cellule ed animali tramite vettori virali (lentivirus; retrovirus; adenovirus)
- Tecniche di genomica funzionale (immunoprecipitazione della cromatina; microarray analysis; PCR quantitativa su array di geni [Applied Biosystem])
- Metodi per l'analisi molecolare e morfologica a livello microscopico (immunoistochimica)
- Microscopia confocale

Tecnologie

- Studi per la produzione di modelli animali e cellulari per terapia genica

Collaborazioni (partner e committenti)

Dip. di Ematologia e Banca del Sangue Placentare, Ospedale S.Eugenio, Università di Tor Vergata, Roma. Dipartimenti di Ematologia, di Immunologia, di Neurochirurgia e di Patologia.

Clinica dell'Università Cattolica del S. Cuore, Roma.

Casa di Cura S. Raffaele, Roma.

Ist. Tumori Regina Elena, Roma

Univ. di Chieti - Sezione di Patologia Molecolare Diagnostica.

Istituti Ortopedici Rizzoli -

Lab di Ricerca Oncologica, Roma.

Dip. di Medicina Sperimentale e Patologia, Univ. La Sapienza, Roma.

Dept. of Cell and Animal Biology

The Hebrew University of Jerusalem, Alexander Silberman Institute of Life Sciences, Israel.

ENEA, Casaccia, Biotec.

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Partecipazione a bandi di Fondazioni Onlus: Telethon, Ass. It. Ricerca sul Cancro, Fondazioni Bancarie.

Finalità

Obiettivi

Obiettivo generale di questo progetto è la comprensione dei meccanismi che regolano l'espressione genica tessuto-specifica in modelli differenziativi di derivazione ectodermica e mesodermica, e delle alterazioni occorrenti nel corso della trasformazione neoplastica. Le conoscenze acquisite verranno utilizzate per sviluppare strategie di controllo del differenziamento e della neoplasia.



Risultati attesi nell'anno

- 1) Determinazione del significato funzionale dell'induzione della ciclina D3 nel corso del differenziamento muscolare. Progressi nella conoscenza degli eventi molecolari che sottendono la funzione pro-miogenica di pRb.
- 2) Identificazione di target cellulari di TLQP-21, identificazione del ruolo della telomerasi nella risposta di cellule endoteliali a fattori angiogenetici.
- 3) Correlazione degli stadi differenziativi dei precursori neuronali dell'ippocampo ai processi di apprendimento utilizzando modelli animali di differenziamento.
- 4) Avanzamento degli studi sulla funzione del gene PC4/IFRD1 nella rigenerazione del muscolo.
- 5) Comprensione del significato funzionale della interazione p120-EPS8, eventuale effetto di questa interazione sulla motilità cellulare.
- 6) Completamento e sottomissione di due lavori inerenti la funzione proapoptotica mitocondriale di MDM4 e la regolazione dei suoi livelli proteici nelle varie condizioni di crescita cellulare.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Le ricerche in corso hanno portato e porteranno alla produzione di proteine biologicamente attive di potenziale utilità clinica e di reagenti che potranno 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 ad attività antitumorale e/o pro-differenziativa nel sistema nervoso, muscolare ed in altri tessuti, alla produzione di reagenti da testare in trial pre-clinici per la terapia genica di malattie degenerative e alla creazione di banche dati per un approccio farmacologico personalizzato.

Moduli

Modulo: Sviluppo, Differenziamento e Trasformazione Cellulare
Istituto esecutore: Istituto di neurobiologia e medicina molecolare
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
549	23	316	0	888	192	531	52	N.D.	1.132

valori in migliaia di euro

Unità di personale di ruolo*	
ricercatori	Totale
5	10

*equivalente tempo pieno

Unità di personale non di ruolo									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	7	0	2	1	0	1	0	2	13

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

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



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

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte 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:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	PASQUALE VERDE

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Aliperti Anna Maria	VII	De Luise Bruno	IV	Pellicano' Domenico	VIII
Andone Silvia	V	Del Pozzo Giovanna	III	Pinto Anna Maria	IV
Barba Pasquale	VI	Desideri Carmela	IV	Ragosta Giuseppe	VII
Beato Antonio	IV	Di Giacomo Alfredo	VII	Rallo Claudia	VI
Bellopede Annunziata	VII	Eposito Bruno	IV	Rocco Rosaria	VIII
Cavaliere Daniela	V	Fusco Ciro	IV	Rossi Sergio	V
Cossu Simone	VI	Iaccarino Idelson Ingram	III	Russo Alessandra	VII
Cozzuto Luigi	VIII	Iaccarino Maria Rosaria	IV	Sicilia Giuseppina	VIII
D'Esposito Maurizio	II	Manna Filomena	V	Stoppelli Maria	I
De Angioletti Maria	III	Miele Elia	VI	Torelli Raimondo	V
De Falco Antonio	VI	Navarra Gerardo	VII	Verde Pasquale	I
De Falco Sandro	III	Noviello Ciro	V	Vito Rita	VI
De Falco Vincenzo	VII				

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 PlGF/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 bersaglio nucleare dell'oncogene 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 protooncogene 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 PlGF 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

Analisi del fattore trascrizionale Fra-1 nel controllo del ciclo cellulare di cellule tumorali di tiroide. Controllo della stabilità dell'oncoproteina c-Jun in cellule trasformate

Analisi dei meccanismi di perdita d'identità cellulare mediati da proteine Polycomb nella trasformazione neoplastica.

Analisi dei pathways che controllano la regolazione trascrizionale dell'oncogene Bcl-xL in cellule tumorali, attraverso l'utilizzo di librerie di siRNA. Definizione del ruolo di un nuovo interattore di Bcl-xL JM4 nell'omeostasi cellulare.

Studio del 'cross-talk' tra uPAR ed EGFR in carcinomi polmonari e degli effetti di alcuni inibitori farmacologici dell'EGFR sul movimento cellulare. Analisi dell'effetto di nuovi inibitori del movimento cellulare che agiscono attraverso i recettori integrinici.

Analisi dell'effetto inibitorio della crescita tumorale di una variante di PlGF (D72A/E73A) in varie linee tumorali umane. Analisi IHC dei tumori ottenuti per correlare la riduzione della crescita tumorale con una ridotta angiogenesi.

Caratterizzazione di vettori lentivirali esprimenti shRNA verso vari oncogeni (PML-RAR-alfa etc) per l'induzione di differenziamento terminale in linee leucemiche.

Punti critici e azioni da svolgere

Inibizione stabile dell'attività AP-1 e dell'espressione di Fra-1 in linee tumorali tiroidee. Analisi dell'emivita di mutanti di c-Jun in risposta all'oncogene RAS.

Costruzione di vettori reporter per l'analisi del promotore di Bcl-xL. Analisi fenotipica di linee cellulari con aumentata e/o diminuita espressione di JM4.

Dissezione funzionale dell'integrina $\alpha_5\beta_1$ come possibile mediatore dell'inibizione del movimento cellulare da parte della uPA pseudofosforilata e di nuove molecole da essa derivate. Studio dell'interazione fisica e funzionale tra uPAR ed EGFR in carcinomi polmonari che può essere utilizzata a scopo terapeutico.

Preparazione di nuove cellule tumorali over-esprimenti varianti di PlGF. Verifica dell'inibizione della crescita tumorale in topo, mediante inoculo delle cellule trasfettate sotto cute.

Ottenimento di linee leucemiche (NB4) esprimenti KRAB per l'espressione reversibile di vettori esprimenti shRNA inibitori di vari oncogeni.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

Istituto 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); Università 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).

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Si attende l'esito di varie richieste finanziamento presentate nel corso del 2006 alle seguenti Agenzie:

Assessorato alla Ricerca Scientifica - Regione Campania

AIRC, Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro

AICR, Association for International Cancer Research



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 (DEsposito).
- 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 Flt-1 e KDR (De Falco).
- Uso del melanoma come sistema modello per l'interferenza dell'espressione dell'MHC di classe II (Del Pozzo)
- Differenziamento dei cloni leucemici indotto da RNAi verso geni di fusione oncogenici (PML-RARA e PLZF-RARA) (De Angioletti).

Risultati attesi nell'anno

Identificazione di nuovi bersagli trascrizionali di Fra-1. Definizione dei meccanismi implicati nell'aumento di stabilità di c-Jun in cellule neoplastiche.

Identificazione di pathways di trasduzione del segnale responsabili dell'overespressione di Bcl-xL in cellule cancerose. Elucidazione del ruolo di JM4 nella trasformazione tumorale.

Nel 2007 ci aspettiamo di ottenere informazioni sulla regolazione dell'uPAR e sulle interazioni tra recettori di membrana rilevanti nella cancerogenesi polmonare.

Dimostrare la inibizione della angiogenesi VEGF dipendente con una diversa linea cellulare.

Identificazione degli shRNA più idonei ad indurre differenziazione terminale delle NB4

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

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

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

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
446	74	134	1	655	50	258	186	N.D.	891

valori in migliaia di euro

Unità di personale di ruolo*	
ricercatori	Totale
4	9

*equivalente tempo pieno



<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	1	0	4	0	0	0	0	0	5

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Identificazione di regolatori del differenziamento, della motilità e dell'apoptosi delle cellule staminali

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte 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:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	EDUARDO JORGE PATRIARCA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Aliperti Anna Maria	VII	Desideri Carmela	IV	Pellicano' Domenico	VIII
Andone Silvia	V	Di Giacomo Alfredo	VII	Pinto Anna Maria	IV
Barra Adriano	VI	Esposito Bruno	IV	Ragosta Giuseppe	VII
Beato Antonio	IV	Filosa Stefania	III	Rallo Claudia	VI
Bellopede Annunziata	VII	Fusco Ciro	IV	Riccio Anna	IV
Caputo Emilia	III	Iaccarino Idelson Ingram	III	Rocco Rosaria	VIII
Cossu Simone	VI	Iaccarino Maria Rosaria	IV	Russo Alessandra	VII
Cozzuto Luigi	VIII	Manna Filomena	V	Sepe Gennaro	VII
De Cesare Dario	III	Matarazzo Maria Rosaria	III	Sicilia Giuseppina	VIII
De Falco Antonio	VI	Miele Elia	VI	Stoppelli Maria	I
De Falco Sandro	III	Minchiotti Gabriella	III	Torelli Raimondo	V
De Falco Vincenzo	VII	Noviello Ciro	V	Vito Rita	VI
De Luise Bruno	IV	Patriarca Eduardo Jorge	I		

Temi

Tematiche di ricerca

- medicina rigenerativa
- biologia cellulare
- cellule staminali
- differenziamento, motilità ed apoptosi cellulare
- modelli cellulari
- sistema robotico per l'analisi di colture cellulari
- repertori/librerie molecolari
- espressione genica, metiloma, microtrascrittoma ed architettura nucleare

Stato dell'arte

Le cellule staminali essendo sorgente di diversi tipi cellulari possono compensare l'incapacità dell'organismo adulto di riparare i tessuti danneggiati. Nonostante ciò, la disponibilità di molecole in grado di controllare la loro proliferazione, il loro differenziamento, la loro motilità, etc. è ancora molto limitata. In gran parte, ciò è dovuto:

- alla complessità dei meccanismi molecolari che regolano tali funzioni;
- alle limitazioni degli approcci sperimentali utilizzati.



Azioni

Attività da svolgere

Applicare metodologie innovative ed in particolare il sistema di automazione sviluppato dallo Stem Cell Fate Laboratory, nell'ambito della commessa, per saggiare in HTS (High Throughput Screening) l'effetto di migliaia di composti simultaneamente (librerie peptidiche e/o di sostanze naturali) sul differenziamento delle cellule staminali. Ciò permetterà di identificare nuovi induttori/inibitori del differenziamento neurale e cardiaco delle cellule staminali.

Questa attività principale è dipendente da altre attività tra cui:

- la generazione di nuove linee cellulari staminali per il monitoraggio del differenziamento in diversi tipi cellulari, della motilità e dell'apoptosi;
- la definizione di nuovi protocolli per l'analisi in automazione della proliferazione, del differenziamento, della motilità e dell'apoptosi delle linee cellulari ottenute.

Infine nel corso del 2007 saranno messi a punto protocolli per l'analisi della capacità terapeutica delle molecole identificate.

Punti critici e azioni da svolgere

- Mancanza di finanziamenti per l'acquisizione delle collezioni chimiche a singolo composto.
- Mancanza di personale di ruolo (ricercatori, tecnologici) e di avanzamenti di carriera per il personale di ruolo afferente alla commessa.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

La fattibilità della proposta è garantita:

-dalle competenze specifiche dei ricercatori coinvolti:

E.J. Patriarca (sistemi robotici, coordinamento)

D. De Cesare, S. Filosa, G. Minchiotti (differenziamento cellule staminali, generazione modelli cellulari, messa a punto di nuovi protocolli di differenziamento delle cellule staminali).

S. De Falco (chimica combinatoriale, angiogenesi).

V. Orlando (microtrascrittoma e architettura nucleare).

M.P. Stoppelli (migrazione cellulare).

I. Iaccarino (apoptosi).

-le competenze dei partecipanti sono garantite dalle loro pubblicazioni su riviste internazionali tra cui:

Ambati et al. Nature 2006; Gigante et al. FASEB J 2006; Tarsitano et al. FASEB J 2006; Pizzo et al. JBC 2006; Carninci et al. Nat Genet 2006; Marasco et al. Proteins 2006; Calvanese et al. J Med Chem 2006; Minchiotti et al. Methods Mol Biol 2006; Parisi et al. J Stem Cell 2007; Franco et al. J Cell Sci 2006; Alfano et al. J Biol Chem 2006; Parish et al. Stem Cells 2005; Fico et al. Cell Death Diff 2006.

Strumentazione

Sistema robotico innovativo, co-sviluppato con la Hamilton Robotics che permette di analizzare simultaneamente, in sterilità ed in completa automazione, l'effetto di migliaia di composti (librerie chimiche) sul differenziamento delle cellule staminali coltivate in micropiastre da 96 pozzetti.

Configurazione del sistema:

-stazione robotica di pipettamento MICROLAB STAR a 8 canali di dispensazione indipendenti e testata da 96 canali a dispensazione simultanea;

-braccio robotico di trasferimento esterno ML-SWAP 420;

-incubatori THERMO CYTOMAT per terreni e colture cellulari (micropiastre da 96 pozzetti);

-lettore multiseinale (fluorescenza, luminescenza e assorbanza) per micropiastre SYNERGY HT BIOTECH

-l'intero sistema è controllato dal MICROLAB VECTOR SOFTWARE.

Inoltre sono disponibili tutte le altre facilities richieste: DNAmicroarray, Realtime PCR, FACS-Cell Sorter, Microscopia e Time-lapse videomicroscopy, Software analisi immagini. Cappe a flusso laminare ed incubatori dedicati.



Tecniche di indagine

Il sistema robotico sviluppato dallo Stem Cell Fate Laboratory nell'ambito della commessa consente di eseguire in sterilità, in completa automazione e su larga scala:

- protocolli di proliferazione e differenziamento di cellule staminali
- screening di librerie (composti sintetici e naturali, anticorpi, ad RNA o DNA) per l'identificazione di modulatori della proliferazione e/o il differenziamento cellulare.

Inoltre permetterà:

- di verificare il grado di automazione dei protocolli di differenziamento delle cellule staminali in micropiastre da 96 pozzetti, precedentemente messi a punto nell'ambito della commessa.
- lo screening di librerie chimiche (a singoli composti o combinatoriali) per l'identificazione di modulatori del differenziamento, della proliferazione cellulare, della motilità, dell'apoptosi, etc.

Tecnologie

La tecnologia di automazione sviluppata (sistema robotico per l'analisi delle colture cellulari) garantisce:

- riduzione significativa dell'intervento manuale
- riduzione del rischio di contaminazione
- standardizzazione dei metodi
- elevata riproducibilità
- elevato numero di campioni processabili simultaneamente (sino a 4000 composti singoli)

Inoltre i modelli cellulari generati permettono di monitorare attraverso tecniche di rilevazione della fluorescenza (lettore multiseinale per micropiastre) il differenziamento delle cellule staminali in diversi tipi cellulari.

Definizione di nuovi protocolli per il differenziamento di cellule staminali in diversi tipi cellulari.

Collaborazioni (partner e committenti)

- Fondazione Telethon (committente progetto di ricerca NCGP0115 Identification and characterization of molecules involved in neural differentiation of stem cells: improving the use of cell-based therapy in neurodegenerative disorders)
- TIGEM Institute of Genetics and Medicine (collaborazione per lo sviluppo dello STEM CELL FATE Laboratory).
- Hamilton Robotics, Italia; (committente: sviluppo del software 'Microlab Vector Software' che gestisce il sistema robotico per l'analisi delle colture cellulari)
- EUROCLONE SPA, Italia (committente: validazione/certificazione terreni di coltura per cellule staminali)
- Regione Campania; (committente nell'ambito del Centro Regionale di Competenza Diagnostica e Farmaceutica Molecolari e della Legge Regionale LR5)
- MIUR (progetti FIRB)
- Fondazione AIRC (progetto di ricerca, Identification of modulators of the oncodevelopmental factor Cripto as target for cancer therapy)
- Istituto Tumori Milano (Sintesi e caratterizzazione funzionale di nuovi derivati delle camptotecine diretti contro specifici targets molecolari associati alla trasformazione neo-plastica)
- Sigma Tau (Identificazione di nuovi modulatori dell'attività di KDR (Vascular Endothelial Growth Factor 2))
- Celbio, Cell Biology (collaborazione per la realizzazione del corso teorico-pratico 'Stem Cell Differentiation Training Course' accreditato per 18 ECM dal Ministero della Salute)
- Thromb-X Biotech, Belgio;
- R&D Strate.

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

-Collaborazione con:

1. EUROCLONE SpA, affinché lo 'Stem Cell Fate Laboratory' diventi:

-laboratorio di validazione/certificazione dei terreni/sieri prodotti da EUROCLONE per la coltivazione delle cellule staminali;

-centro di consulenza per lo sviluppo di nuovi terreni/sieri/condizioni per coltivare cellule staminali.

2. TIGEM, per partecipare al piano di sviluppo dello Stem Cell Fate Laboratory mediante la creazione di un servizio Telethon di 'Screening di librerie geniche' per il differenziamento delle cellule staminali.

3. AXXAM S.r.l. per la definizione di un protocollo d'intesa

-FP7, partecipazione al 7° programma quadro della UE

-Richieste di finanziamenti all'AIRC, Telethon, Regione Campania, MUR.



Finalità

Obiettivi

L'obiettivo finale è quello di identificare regolatori (geni, molecole) del differenziamento, la motilità, e l'apoptosi delle cellule staminali.

Questo scopo sarà raggiunto attraverso:

1. La automazione delle procedure di analisi del differenziamento delle cellule staminali coltivate in micropiastre;
2. La generazione di modelli cellulari ad hoc per il monitoraggio del differenziamento, dell'apoptosi, della migrazione, etc. delle cellule staminali;
3. La sintesi/acquisizione e stoccaggio di repertori/librerie molecolari;
4. La definizione di protocolli per l'analisi su larga scala HTS (high throughput screening) di colture cellulari in sterilità;
5. L'analisi delle variazioni della espressione genica, del metiloma, del microtrascrittoma (microRNA) e dell'architettura nucleare durante il differenziamento delle cellule staminali.

Risultati attesi nell'anno

Saggiare l'effetto di:

-almeno una libreria peptidica;

-almeno una libreria di sostanze naturali;

sul differenziamento delle cellule staminali in cardiomiociti e neuroni.

Identificare almeno 2 induttori/inibitori del differenziamento o della: motilità cellulare o della capacità angiogenica o dell'apoptosi delle ES.

Analizzare la capacità terapeutica di almeno una delle molecole già isolate.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Attività di servizio/consulenza.

A questo scopo nell'ambito della commessa è stato fondato presso IIGB di Napoli lo Stem Cell Fate Laboratory (SCF Lab).

Lo SCF Lab ha sviluppato una piattaforma tecnologica innovativa capace di analizzare in completa automazione ed sterilità colture di cellule staminali. Ciò permetterà allo SCF Lab. di diventare:

-laboratorio di validazione/certificazione dei lotti di terreni e/o siero, prodotti da potenziali committenti, per la coltura delle cellule staminali.

-laboratorio per l'analisi dell'effetto di repertori molecolari forniti da potenziali committenti (citotossicità, differenziamento e/o crescita cellulare, etc).

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Medicina rigenerativa.

Le proprietà intrinseche delle cellule staminali fanno sì che potenzialmente queste cellule si possano prestare ad un utilizzo terapeutico nell'ambito della medicina rigenerativa.

In teoria, data la loro capacità di differenziare, tali cellule possono venire utilizzate come sorgente di differenti tipi cellulari, compensando in tal modo l'incapacità dell'organismo adulto di riparare i danni a carico di tessuti che hanno perduto la capacità di rinnovarsi.

Le ripercussioni applicative delle metodiche volte al differenziamento controllato di cellule staminali sono dunque potenzialmente enormi, in quanto utilizzabili per la cura e la terapia di un ampio spettro di patologie.

Nell'ambito della commessa è stato dimostrato (Parish et al. Stem Cells 2005) che cellule embrionali staminali murine, delete del gene cripto, sono in grado di generare neuroni dopaminergici e recuperare il fenotipo Parkinsoniano in un modello di ratto, senza dare origine a tumori.

Tale risultato rappresenta un importante avanzamento nella ricerca dei fattori che determinano la formazione di tumori nel trapianto delle cellule staminali.

Moduli

Modulo: Identificazione di regolatori del differenziamento, della motilità e dell'apoptosi delle cellule staminali

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

Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Risorse commessa 2007

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
431	96	104	1	632	161	361	185	N.D.	978

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
5	10

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	5	3	2	0	0	0	0	0	10

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	7	5	12

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Analisi cellulare e molecolare della risposta immunitaria indotta da vaccini sintetici

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte 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:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	GIOVANNA DEL POZZO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Aliperti Anna Maria	VII	Desideri Carmela	IV	Noviello Ciro	V
Andone Silvia	V	Di Giacomo Alfredo	VII	Pellicano' Domenico	VIII
Baiano Salvatore	VII	Esposito Bruno	IV	Pinto Anna Maria	IV
Barba Pasquale	VI	Forlani Giovanni	IV	Prisco Antonella	III
Beato Antonio	IV	Imperato Giovanni	VI	Ragosta Giuseppe	VII
Bellopede Annunziata	VII	Imperiali Lauretana	IV	Rallo Claudia	VI
Caputo Emilia	III	Lauro Pasquale	VII	Russo Alessandra	VII
Cozzuto Luigi	VIII	Maffei Antonella	II	Sarracino Fabiana	VIII
De Falco Antonio	VI	Manna Filomena	V	Secondulfo Antonietta	VI
De Falco Vincenzo	VII	Miele Elia	VI	Sepe Gennaro	VII
De Luise Bruno	IV	Mignoli Emiliana	VII	Vado Luciano	V
Del Pozzo Giovanna	III	Morelli Francesco	III	Vecchio Antonia	I

Temi

Tematiche di ricerca

- 1.Valutazione della proliferazione in vivo dei linfociti T CD8 della memoria nel midollo osseo, rispetto a quella in altri organi linfoidi ed extra-linfoidi quale presupposto per la la progettazione di vaccini efficaci. Sviluppo e validazione di modelli matematici per la simulazione dei meccanismi di proliferazione e morte della memoria immunitaria - Sintesi ed utilizzi in vitro e in vivo di vaccini sintetici
- 2.Studio della regolazione post-trascrizionale e della struttura dell'RNA codificante per gli antigeni MHC di classe II al fine della modulazione della risposta immune.
- 3.Studio dei meccanismi di induzione della tolleranza immunitaria in sindromi autoimmuni associate a stimoli ambientali.

Stato dell'arte

Alcuni dei principali argomenti trattati attualmente in campo internazionale dall'immunologia di base e applicata sono tra le tematiche della commessa.

Studio della risposta immunitaria cellulo-mediata di tipo citolitico che si instaura nel corso di un'infezione intracellulare o di un tumore; studio della risposta immunitaria di tipo anticorpale e dei suoi effetti neutralizzanti e/o terapeutici in particolari situazioni patologiche quali il morbo di Alzheimer; le malattie allergiche; i meccanismi cellulari che regolano l'instaurarsi della memoria immunologica; sintesi di vaccini ricombinanti nei confronti di epitopi immunodominanti di patogeni o di proteine tumorali; l'analisi delle cause dei meccanismi di autoimmunità per la prevenzione e la cura delle sindromi derivate da tale fenomeno. Sviluppo di una tecnologia non invasiva per la determinazione del progresso della sindrome diabetica in modelli animali e pazienti.



Azioni

Attività da svolgere

1. Studio dei meccanismi cellulari e molecolari dell'immunogenicità del fago filamentoso. Attivazione dell'immunità innata, in particolare attivazione dei recettori Toll e dell'immunità acquisita, specificamente della risposta citotossica a breve e lungo termine.
2. Studio del mantenimento della memoria immunologica con particolare riguardo ai linfociti T CD8.
3. Induzione e quantizzazione della risposta anticorpale nei confronti di epitopi immunodominanti della proteina beta amiloide mediante l'utilizzo di costrutti fagici ricombinanti.
3. Analisi della risposta immunitaria associata alla variabilità del complesso Maggiore di Istocompatibilità di classe II, sia a livello strutturale che funzionale, con particolare attenzione alla regolazione post-trascrizionale dei geni associati a sindromi autoimmuni.
4. Analisi del ruolo svolto dalla molecola VMAT2, usata come marcatore delle cellule beta nell'imaging con il PET, nella fisiologia e nelle patologie del pancreas.

Punti critici e azioni da svolgere

I punti critici riguardano

1. Necessità di attribuire un posto di dirigente che abbia una competenza specifica nel campo degli studi in corso, riguardanti il diabete mellito di tipo 1
2. Mancanza di personale specializzato a tempo indeterminato (tecnologo) dedicato full-time al funzionamento del FACS-Cell SORTER.
3. Difficoltà ad interagire con centri dove poter effettuare gli studi di imaging delle isolette pancreatiche in pazienti e nel sistema modello di ratto.
4. Mancanza di adeguate risorse economiche da utilizzare per l'acquisto di strumentazione e spese di consumo.
5. Ricadute applicative della commessa cioè la difficoltà di stabilire connessioni con le aziende interessate a produrre vaccini ricombinanti e/o molecole diagnostiche.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze rientrano nelle seguenti tematiche:

Allergie: Ruffilli, Cassese

Malattie autoimmuni e diabete : Harris, Maffei

Immunologia dei tumori: Morelli, Caputo

Immunologia di base e vaccini: Del Pozzo, Di Rosa, Prisco, Pisapia

Competenze di Biologia molecolare sono comuni alla maggior parte dei partecipanti alla commessa

Strumentazione

Stabulario

Attrezzature per la biologia molecolare. Real time PCR

FACS-Cell sorter

Cappe e flusso laminare e incubatori.

Lettore ELISA

Lettore ELISPOT utilizzato presso IISA d Avellino

Attrezzatura harvester e contatore beta per micropiastre utilizzato presso IIBP di Napoli

Tecniche di indagine

Tecnologie

Utilizzo di complessi modelli di roditori per lo studio dell'avanzamento del Diabete Mellito, sia in vivo che ex vivo (in isolette pancreatiche purificate).

Collaborazioni (partner e committenti)

Le collaborazioni in corso sono:

De Berardinis P., IIBP-CNR; Ezio Ricca, Univ. Napoli 'Federico II', Angela Santoni, Università La Sapienza, Roma; Borrello L., John Hopkins University, Baltimore, USA; Andreas Radbruch, Deutsches Rheuma-Forschungszentrum, Berlin; Guido Grandi, Chiron s.r.l., Siena M. Carteni Dip di Medicina Sperimentale Seconda Università Napoli; V. Santagada Facoltà di Farmacia Università Federico II Napoli; Fraco Bonagurio Istituto per la Cura dei Tumori Fondazione Pascale Napoli Mark A. Hardy, New York Regional Islet Cell Resource Center at New York Presbyterian Hospital, Columbia Presbyterian Campus.

Committenti:

MIUR-FIRB, ISS, Telethon, EC, NIH,



Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Per l'acquisizione di ulteriori entrate si prevede la presentazione di progetti alla Comunità Europea e all'agenzia Telethon-JDRF

Finalità

Obiettivi

Monitoraggio, mediante valutazione della risposta immunitaria in vivo e in vitro, dell'uso di batteriofagi ricombinanti per l'espressione di : a) epitopi CD8 e CD4 del citomegalovirus umano, B) epitopi in grado di indurre una risposta anticorpale contro la proteina beta amiloide responsabile della malattia di Alzheimer, e valutazione dell'effetto anti aggregante degli anticorpi generati.

Sintesi di vaccini basati su costrutti a DNA esprimenti epitopi dell'allergene maggiore della Parietaria e validazione su un sistema modello murino

Sviluppo di nuovi carrier vaccinici basati su ceppi batterici attenuati di Salmonella e utilizzo di costrutti a DNA per l'espressione di antigeni tumorali in vivo

Valutazione dell'effetto di citochine (IL-7, IL-15, etc.) sull'attivazione, sopravvivenza e proliferazione dei linfociti T CD8 della memoria purificati dal midollo osseo.

Sviluppo di un software matematico per la previsione della proliferazione e morte dei CD8

Risultati attesi nell'anno

1. Analisi della risposta citotossica indotta dall'utilizzo di batteriofagi esprimenti epitopi CTL ed helper immunodominanti in modelli murini. Attivazione dei recettori Toll 4,7,8,9 mediante real time PCR e quantizzazione mediante ELISA delle citochine prodotte in seguito alla loro attivazione.

2. Analisi dell'effetto antiaggregante sui cervelli di topi trasgenici (modello murino dell'Alzheimer) degli anticorpi indotti contro la proteina del beta-amiloide.

3. Valutazione dell'effetto di citochine (IL-7, IL-15, etc.) sull'attivazione, sopravvivenza e proliferazione dei linfociti T CD8 della memoria purificati dal midollo osseo.

4. Analisi dei meccanismi di splicing differenziale e di poliadenilazione alternativa a carico delle regioni 3'UTR degli alleli DQA1, in linee linfoblastoidi umane. Studio di interazioni RNA- proteine a carico delle regioni 3'UTR dei messaggeri HLA-DRA e HLA DQA1.

5. Analisi degli effetti di alcuni ligandi del VMAT2 sulla omeostasi del glucosio.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

sintesi di vaccini ricombinanti

produzione di ligandi specifici per la misura della massa delle cellule beta pancreatiche con il PET

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Utilizzo di vaccini ricombinanti

Utilizzo di ligandi specifici per la misura della massa delle cellule beta pancreatiche con il PET

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 di Napoli

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 2007

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
437	93	244	1	775	58	395	186	N.D.	1.019

valori in migliaia di euro



<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	10

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	2	0	2

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di biologia e patologia molecolari
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	ANGELA SANTONI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Allegria Vanda	IV	Granato Teresa	III	Passananti Claudio	III
Antolini Rachele	V	Iani Paola	V	Pistolesi Gabriella	IV
Barile Giuseppe	I	Marconi Luca	VIII	Ravenna Linda Ester	IV
De Blasi Angelina	IV	Marotti Federico	IV	Rodino' Paola	III
Di Rosa Francesca	III	Nicotra Maria Rita	IV	Ruscitti Rosa Generosa	V
Fiorucci Gianna	III				

Temi

Tematiche di ricerca

L'attività di ricerca riguarda lo studio dei meccanismi molecolari coinvolti nel controllo del differenziamento, dell'omeostasi, della proliferazione e dell'apoptosi in diversi modelli cellulari normali e patologici. In particolare comprende l'identificazione e la caratterizzazione di proteine che interagiscono con la RNA polimerasi II; l'analisi delle alterazioni dell'espressione genica in neoplasie umane della prostata, della mammella e della tiroide; lo studio dei meccanismi antiproliferativi dell'interferone beta in tumori solidi; lo studio della funzione di geni mediante l'impiego di animali geneticamente modificati. Vengono messi a punto ed utilizzati sistemi, tecnologie e approcci sperimentali diversi quali interazioni proteina/proteina, RNA interference, ecc.

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 da svolgere sarà finalizzata allo studio dei meccanismi molecolari coinvolti nel controllo della proliferazione, del differenziamento, della morte cellulare programmata e dell'omeostasi, in diversi modelli cellulari normali e patologici. Le principali tematiche che verranno affrontate includono: l'identificazione e la caratterizzazione di proteine che interagiscono con la RNA polimerasi II; l'analisi delle alterazioni dell'espressione genica in neoplasie umane della prostata, della mammella e della tiroide; lo studio dei meccanismi antiproliferativi dell'interferone beta in tumori solidi; lo studio dei meccanismi responsabili del mantenimento della memoria immunologica dei linfociti T. A questo scopo verranno utilizzate diverse metodologie e approcci sperimentali, quali RNA interference e microRNA, protocolli volti a caratterizzare interazioni proteina/proteina, microarray e creazione di modelli cellulari e/o animali.

Punti critici e azioni da svolgere

I punti critici dovuti alle normali difficoltà sperimentali verranno affrontati, sviluppando la capacità di interfacciarsi con nuove tecnologie e nuove collaborazioni sia interne al CNR che con altri enti di ricerca. Inoltre sarà particolarmente curato il continuo potenziamento del know-how delle risorse umane disponibili. Questo sarà ottenuto attraverso corsi teorici e pratici, congressi e scambi di ricercatori con altri laboratori di ricerca nazionali e internazionali.



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le principali competenze sono di biologia molecolare e cellulare, genomica e proteomica con possibilità di applicazioni diagnostiche e terapeutiche.

Strumentazione

La ricerca si avvale della strumentazione di base per studi di biologia molecolare, biologia cellulare, genomica e proteomica. Le attrezzature di particolare rilievo sono: Agilent Bioanalyzer, scanner Micro-Array, Gel- Doc Biorad, luminometro, Real-time PCR, microscopi a fluorescenza, microscopio confocale, sistema per analisi di immagini, micro iniettore.

Tecniche di indagine

Le principali comprendono: tecniche di immunistochemica diretta e indiretta (produzione di anticorpi, analisi con microscopio a fluorescenza e confocale); tecniche di indagine dell'espressione genica (macro- e micro- arrays, Real-time PCR); tecniche di indagine della funzione genica (dominanti negativi e positivi, mutanti con perdita di funzione, RNA interference); tecniche di micro-iniezione; tecniche di indagine dell'interazione proteina-proteina (phage display, yeast two hybrid).

Tecnologie

Le tecnologie principali sono: tecnologie del DNA ricombinante, produzione di proteine in batteri e in cellule di mammifero; Indagine dell'espressione genica mediante macro- e micro-arrays, Real-time PCR; Indagine della funzione genica mediante dominanti negativi e positivi, mutanti con perdita di funzione e RNA interference; micro-iniezione in cellule di mammifero; immunistochemica diretta e indiretta; tecnologie di produzione di anticorpi policlonali e monospecifici; analisi con microscopio a fluorescenza e confocale.

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.

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

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

Le attività di ricerca programmate nell'arco di questo anno produrranno pubblicazioni scientifiche e soprattutto modelli molecolari, cellulari e animali che potranno essere oggetto di possibili brevetti. Tali modelli potranno chiarire eventuali alterazioni di meccanismi e fini regolazioni che sono alla base di patologie neoplastiche e/o degenerative e di suggerire nuovi indicatori prognostici e valide associazioni terapeutiche. Saranno inoltre messe a punto diverse metodologie innovative come ad esempio 'MicroRNA Expression Profiles' che permettano la rapida identificazione e relativa caratterizzazione di MicroRNAs.

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 2007

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
664	30	50	0	744	41	121	69	N.D.	854

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
6	13

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	1	0	1

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Meccanismi molecolari del ciclo cellulare e della mitosi

Dati generali

Progetto:	Meccanismi molecolari e segnali nel controllo di proliferazione, differenziamento e morte cellulare
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di biologia e patologia molecolari
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	MAURIZIO GATTI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Allegria Vanda	IV	Guarguaglini Giulia	III	Ricordy Ruggero	II
Antolini Rachele	V	Iani Paola	V	Salviati Vincenzo	IV
Bonaccorsi Silvia	II	Lavia Patrizia	II	Scacchi Renato	III
Cundari Enrico	III	Lucarelli Paola	II	Schiattarella Elena	IV
De Salvia Rosella	III	Palena Antonella	VII	Sellitto Daniele	V
Degrassi Francesca	II	Perticone Paolo	III	Somma Maria Patrizia	III
Fiore Mario	IV	Pistolesi Gabriella	IV	Vitagliano Eleonora	IV
Giansanti Maria Grazia	III	Polani Stefania	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 tra proteine coinvolte 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

Punti critici e azioni da svolgere



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Sono integrate competenze scientifiche e tecnico-metodologiche e l'utilizzo di strumentazione avanzata per studi di biologia cellulare.

Il personale CNR coinvolto si avvale anche delle competenze e delle attrezzature disponibili presso il Dipartimento di Genetica e Biologia Molecolare dell'Università di Roma 'La Sapienza', che ospita numerosi ricercatori dell'IBPM.

Il personale ha competenze di genetica formale di *Drosophila*, genetica delle cellule somatiche, biologia molecolare degli acidi nucleici, biologia cellulare con particolare riguardo all'analisi dei cromosomi e della divisione cellulare. Sotto il profilo metodologico, il personale utilizza le tecniche più avanzate di immunocolorazione e microscopia ottica per l'analisi di materiale fissato e di cellule viventi.

microscopia ottica per l'analisi di materiale fissato e di cellule viventi.

Strumentazione

Le principali apparecchiature a disposizione, comprendendo anche quelle del Dipartimento di Genetica e Biologia Molecolare dell'Università di Roma 'La Sapienza', sono:

- FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter) Facstar plus S/4.
- Microscopio confocale Leica TCS.
- 5 microscopi a fluorescenza dotati di CCD camera.
- 2 postazioni per analisi di cellule in vivo, una dotata di sistema Metamorph per acquisizione ed analisi delle immagini.
- Gene Amp 5700 per real time PCR.

Tecniche di indagine

Le principali tecniche utilizzate comprendono:

- Induzione, isolamento e mappatura di mutazioni che alterano la mitosi in *Drosophila*.
- Mutagenesi sito-specifica.
- Trasformazione della linea germinale di *Drosophila* e creazione di linee transgeniche.
- Clonaggio genico in vari tipi di vettori.
- Trasfezione di cellule in coltura di mammifero e di *Drosophila*.
- Espressione di proteine marcate con GFP in cellule di mammifero e di *Drosophila*.
- Espressione di proteine in batteri per la produzione di anticorpi.
- Immunofluorescenza indiretta per la localizzazione subcellulare di proteine.
- Tecniche per filmare il comportamento di proteine marcate con GFP in cellule viventi.
- Separazione di differenti popolazioni cellulari mediante FACS.
- RT PCR e Western blotting.
- Co-immunoprecipitazione e 'GST pulldown'.
- Tecnica del doppio ibrido in lievito.

Tecnologie

Fra le diverse tecnologie utilizzate in questa ricerca, ha assunto un ruolo preminente quella dell'inattivazione genica mediante RNA interference in cellule in coltura di *Drosophila* e di mammifero. Questa moderna tecnologia comprende la progettazione la sintesi di RNA a doppia elica, l'uso di varie tecniche di trasfezione cellulare e l'analisi in vivo e su materiale fissato dei fenotipi causati dall'inattivazione genica.

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); Rome Oncogenomic Center (ROC) 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 Planck Institute of Biochemistry, (Monaco, Germania); National Institutes of Health (Bethesda, USA); Technion (Haifa, Israele); Istituto Weizmann, Rehovot (Israele).

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate



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 aneuploidi.
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

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 2007

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
1.094	52	62	0	1.208	106	220	113	N.D.	1.427

valori in migliaia di euro

Unità di personale di ruolo*	
ricercatori	Totale
12	20

*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	1	0	1

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e del comportamento



Modelli biologici per lo studio di malattie del metabolismo ed autoimmunitarie: validazione di terapie innovative

Dati generali

Progetto:	Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e del comportamento
Tipologia di ricerca:	Progetti di sviluppo competenze
Istituto esecutore:	Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale "Gaetano Salvatore"
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	SILVIA FONTANA

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Cinquegrani Marco	II	Galli Paolo	VI	Rastelli Daniela	VIII
Cito Ciro	V	Laezza Chiara	III	Romano Gennaro	V
D'Esposito Mario	V	Matarese Giuseppe	III	Salzano Salvatore	V
De Simone Salvatore	V	Miele Claudia	III	Speranza Giulia	VII
Fontana Silvia	II	Monticelli Antonella	III	Ungaro Paola	III
Galiano Nicola	V	Peluso Maria	VII	Valentino Rossella	III

Temi

Tematiche di ricerca

Il progetto prevede: la generazione di modelli animali e linee cellulari opportuni per lo studio della funzione di nuovi geni potenzialmente coinvolti nella patogenesi del diabete tipo 2 e delle proteine da essi codificate; lo studio degli effetti di glucotossicità e lipotossicità sulla sensibilità all'insulina e la secrezione insulinica in vitro e in vivo; lo studio dell'associazione tra malattie neurodegenerative e diabete tipo 2; in particolare, con la comprensione dei meccanismi molecolari responsabili dell'insorgenza del diabete tipo 2, si potranno identificare leads per la cura e la prevenzione della malattia.

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 tipo 1) e di tipo neurodegenerativo (Sclerosi multipla)

Stato dell'arte

L'uso di modelli biologici, 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. Il diabete tipo 2 (DM2) è determinato da alterazioni della secrezione e dell'azione insulinica. Tuttavia i geni responsabili dell'insorgenza di questi due difetti rimangono sconosciuti nella maggioranza dei pazienti. Nel nostro laboratorio abbiamo già identificato due geni potenzialmente coinvolti nella patogenesi del DM2: Ped/pea-15 e Prep-1. Restano, tuttavia, da chiarire i meccanismi molecolari che mediano gli effetti di Ped/pea-15 e di Prep-1 sul metabolismo del glucosio. Inoltre, abbiamo già dimostrato che la leptina è uno dei principali responsabili della patogenesi di patologie autoimmunitarie e delle alterazioni della funzione immunitaria in patologie infiammatorie associate all'obesità. Di qui emerge l'importanza di identificare, generare e caratterizzare modelli biologici appropriati per lo studio dell'espressione e della funzione di geni-candidato nella patogenesi del DM2 e per valutare il ruolo di ormoni e citochine nella patogenesi di malattie autoimmunitarie

Azioni

Attività da svolgere

Verranno sviluppate le seguenti linee di ricerca:

Modulo 1 - 1. Ruolo degli ormoni dell'asse ipotalamo ipofisario nella risposta immunitaria e nell'autoimmunità; 2. Ruolo della leptina nella patogenesi e terapia del diabete tipo 1; 3. Studio della correlazione patogenetica tra leptina e sclerosi multipla: identificazione e caratterizzazione di sistemi terapeutici e diagnostici;

Modulo 2 - 1. Caratterizzazione di modelli animali per lo studio di geni coinvolti nella patogenesi del diabete; 2. Lo stress del reticolo endoplasmico nel meccanismo patogenetico del diabete; 3. Il ruolo degli endocannabinoidi nella patogenesi del diabete; 4. Studio della regolazione dell'espressione e della funzione del gene ped/pea-15 con riferimento alle complicanze croniche del diabete; 5. Identificazione e caratterizzazione di leads per la cura e la prevenzione del diabete; 6. Ruolo della funzione gene ped/pea-15 a



livello del sistema nervoso centrale; 7. Espressione del gene PREP-1 nel meccanismo patogenetico del diabete

Punti critici e azioni da svolgere

Modulo 1. Il punto critico è la caratterizzazione di un topo deficitario del recettore della leptina (NODdb5J) per la comprensione dei motivi per i quali esso è resistente all'insorgenza del diabete tipo 1. È importante, inoltre, lo studio degli effetti della leptina sulla funzione delle cellule T regolatorie sia umane che murine. Modulo 2. Un punto critico è completare la caratterizzazione degli animali transgenici e knock-out per il gene Ped/pea-15, già generati nel nostro laboratorio, essenziale per poter stabilire il ruolo del gene nello sviluppo del Diabete tipo 2. Cruciale è inoltre, la generazione di modelli animali transgenici e knock-out per il gene Prep-1. Per la comprensione del ruolo di Ped/pea-15 nelle funzioni cerebrali è molto importante riuscire ad isolare i neuroni dal cervello dei diversi modelli animali. Inoltre, è importante dimostrare la capacità di alcuni peptidi già disponibili di interferire con l'azione di Ped/pea-15, in modo da poterli utilizzare come base di partenza per la costruzione di molecole in grado migliorare la sensibilità insulinica

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Sviluppo di linee cellulari geneticamente modificate e di modelli animali di diabete tipo 2; studio del metabolismo lipidico e glucidico in vivo, studi di espressione e funzione genica sia in vitro che in vivo, studio della regolazione dell'espressione genica nell'uomo; studi comportamentali per valutare l'effetto dell'espressione di geni sul cervello in modelli animali; studio degli effetti di glucotossicità e lipotossicità sulla sensibilità all'insulina in vitro e in vivo; 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. 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 tipo 2 ed autoimmunitarie

Strumentazione

Thermocycler per PCR

IQCycler per real time PCR

Camere elettroforetiche per gel di agarosio e di poliacrilammide + power suppliers

Gamma-counter

Citofluorimetro

Cell sorter

Tecniche di indagine

Espressione di geni in linee cellulari mediante trasfezione e generazione di costrutti per l'espressione in vivo. Analisi mediante Northern blot, Southern blot e PCR per l'espressione genica e Western blot per l'espressione proteica. Caratterizzazione metabolica degli animali mediante test di tolleranza al glucosio (GTT), test di tolleranza all'insulina (ITT), test di secrezione insulinica, valutazione del trasporto del glucosio in vivo. Analisi dell'interazione proteina-proteina e proteina-DNA

Tecnologie

Isolamento di cellule da tessuti umani e murini

Trasfezioni stabili e transienti mediante liposomi

Generazione di vettori eucariotici e vettori adenovirali

Estrazione di proteine, RNA e DNA da cellule e tessuti umani e murini

PCR e Real-time PCR

Saggi ELISA, saggi RIA, saggi per la misura dell'attività di: tirosino-chinasi, serino-treonino chinasi, fosfolipasi, diacilglicerolo chinasi, glicogeno sintetasi, piruvato deidrogenasi, fosfatidil inositolo chinasi.

Saggi di doppio ibrido in lievito, pull-down e co-immunoprecipitazione

Saggi EMSA e Chromatin immunoprecipitation

Collaborazioni (partner e committenti)

Prof. Johan Auwerx, Institut Clinique de la Souris, Francia-Prof. Fatima Bosch, CBATEG, Universitat Autònoma de Barcelona, Spagna-Prof. Markku Laakso, Dept. of Medicine, University of Kuopio, Finlandia-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, Göteborg University, Svezia-Prof. Emmanuel Van Obberghen, Inserm U145, Faculté de Médecine, Nizza, Francia-Prof. Juleen R. Zierath, Karolinska Institutet, Section of Integrative Physiology, Dept. of Surgical Science, Svezia-La maggiore collaborazione è con IIBB 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 Cambridge, UK)-Prof. Christos



Mantzoros(Harvard University,USA-Prof. Richard Ross(University of Sheffield,UK)Dr. Edward Leiter (The Jackson Laboratory, USA) Committenti industriali:SERONO, AMGEN, SIGMA-TAU

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Durante l'anno 2006 sono stati presentati i seguenti progetti di ricerca per la richiesta di finanziamenti:

1. 'Il ruolo del gene Ped/pea-15 nel controllo della funzione beta-cellulare e nel diabete tipo 2' Ricerca Spontanea a Tema Libero CNR, giudicata finanziabile
2. 'Il meccanismo d'azione degli AGEs (Advanced Glycation End products) nelle cellule vascolari' Regione Campania (L.R. N.5 del 28.03.2002) in corso di valutazione

Sottomissione di un progetto per EU e NMSS americana sul ruolo della leptina nella patogenesi della sclerosi multipla; collaborazione con Asterion Ltd, UK, per la genesi di anticorpi anti-recettore della leptina; sottomissione di progetto all'ITN (Immune Tolerance Network) americano per progetti di fase prima per l'uso del recettore bloccante le leptina nella terapia sclerosi multipla; collaborazione con la SERONO SpA, per la caratterizzazione degli effetti immunomodulatori degli ormoni ipotalamo-ipofisari.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo generale della commessa è l'identificazione di nuovi geni potenzialmente coinvolti nella patogenesi del diabete tipo 2 e delle malattie infiammatorie croniche ad eziologia autoimmune e la generazione di modelli animali e linee cellulari per lo studio della funzione di tali geni. In particolare, si vuole caratterizzare: il ruolo dei geni Ped/pea-15 e Prep-1 nel diabete di tipo 2 e chiarirne le interazioni con altri geni che causano insulino-resistenza, alterata secrezione insulinica ed alterazioni della funzione neuronale; il ruolo della leptina, come elemento comune coinvolto nella patogenesi di sclerosi multipla, diabete autoimmune e infiammazione legata all'obesità. L'obiettivo finale è la generazione di molecole farmacologiche in grado di regolare l'attività e/o l'espressione di tali geni, come potenziale approccio terapeutico innovativo per la cura del diabete di tipo 2 e di malattie autoimmunitarie

Risultati attesi nell'anno

Caratterizzazione degli effetti della leptina su cellule T regolatorie sia umane che murine; caratterizzazione del topo NODdb5J; generazione di anticorpi bloccanti epitopi della leptina o del suo recettore per migliorare l'azione antagonista.

Completa caratterizzazione dei topi transgenici (TgPed) e knock-out (KOPed) per Ped/pea-15 e dei topi beta-TgPed. Identificazione del ruolo dello stress del reticolo endoplasmico e dell'SR141716, antagonista farmacologico del recettore degli endocannabinoidi CB1, sulla sensibilità all'insulina in cellule muscolari. Ulteriore caratterizzazione del promotore di Ped/pea-15, studio della metilazione del gene, identificazione di polimorfismi nell'uomo. Generazione di molecole in grado di migliorare la sensibilità all'insulina in modelli cellulari ed animali, sulla base dei dati disponibili sulla struttura del dominio minimo d'interazione tra Ped/pea-15 e PLD1. Valutazione di alterazioni comportamentali o neurologiche nei topi TgPed e KOPed; analisi funzionale di neuroni isolati da TgPed e KOPed. Caratterizzazione del ruolo del gene Prep-1 sul signalling dell'insulina

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 malattie autoimmunitarie. Produzione di antagonisti di ormoni e citochine o dei loro recettori (anticorpi monoclonali bloccanti, recettori solubili, molecole con azione antagonista)

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Generazione e caratterizzazione di modelli animali e linee cellulari per lo studio della funzione di geni potenzialmente coinvolti nella patogenesi del diabete tipo 2 e di malattie 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:	Correlazione tra sistema immunitario e sistema endocrino: modelli di alterata funzione del sistema immunitario come causa di patologie
Istituto esecutore:	Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano Salvatore'
Luogo di svolgimento attività:	Sede principale Istituto



Modulo: Studio dell'espressione e della funzione di geni e proteine coinvolte nel diabete di tipo 2
Istituto esecutore: Istituto per l'endocrinologia e l'oncologia sperimentale 'Gaetano Salvatore'
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
596	41	771	0	1.408	155	967	117	N.D.	1.680

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
8	16

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
2	10	1	1	0	0	0	0	2	16

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Modelli Biologici dei Sistemi Cognitivi

Dati generali

Progetto:	Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e 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 VISALBERGHI

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Addressi Elsa	III	Natale Francesco	III	Riviello Maria Cristina	III
Cecconi Federico	V	Neri Mario	V	Spinozzi Maria Giovanna	II
Fidanza Luigi	VI	Poti Patrizia	III	Visalberghi Elisabetta	I
Mancuso Patrizia	V	Properzi Letizia	V	Vitali Isabella	VI

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

Dovranno essere realizzate tutte le attività sperimentali programmate nell'ambito dei Progetti EU "SEDSU" e "ANALOGY". In particolare verrà completata la raccolta e l'analisi dei dati relativi all'uso di oggetti simbolici (token) in attività di scambio; verrà svolto un nuovo studio sull'uso simbolico dei riferimenti spaziali in Cebus apella; verranno avviati una decina di individui all'uso di un touch screen per la soluzione di compiti di matching to sample; si continuerà uno studio sulla percezione dell'equivalenza fra oggetti reali e le loro immagini bidimensionali; proseguirà la raccolta di dati sull'uso di strumenti in Brasile in gruppi di cebi selvatici e verranno messe a punto le procedure sperimentali per lo studio di processi cognitivi di tipo analogico nell'uso di strumenti. Analogamente verrà fatto in laboratorio per cebi e scimpanzé (che verranno testati in Giappone nel 2008) in altri compiti di uso di strumenti. Continueranno le osservazioni su antagonismo e cooperazione in gruppi di cebi selvatici.

Punti critici e azioni da svolgere

Rinnovo della convenzione con la Fondazione Bioparco, che permette al Centro primati di essere ospitato gratuitamente all'interno del Bioparco, in cambio di una serie di servizi e consulenze che i ricercatori ISTC-CNR garantiscono.

Il laboratorio dovrà essere dotato di un nuovo sistema per la presentazione automatizzata degli stimoli ai soggetti, e gli animali dovranno essere addestrati alle nuove metodiche. Nuovi supporti strumentali saranno inoltre necessari per il proseguimento della raccolta dati in condizioni naturali.

Il Centro primati, di recente costruzione, e la sede che ospita i nostri uffici, necessitano di interventi di manutenzione ed adeguamento atti a ripristinarne la piena efficienza.

Sarà fondamentale operare al fine di garantire un'adeguata prospettiva occupazionale ad alcuni dei giovani collaboratori formati presso il centro, la cui professionalità si colloca su livelli di eccellenza ed è ormai una condizione irrinunciabile per la prosecuzione delle attività previste nella commessa.



Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

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;

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Verrà incassata la prima tranche del finanziamento relativo al Progetto Europeo 'Analogy', che si articolerà su base triennale.

Verrà messo a punto e presentato al competente Ministero un nuovo progetto per la divulgazione scientifica, inerente alla diversa visione che i bambini del mondo occidentale hanno delle scimmie rispetto ai coetanei che vivono in diretto contatto con esse.

Verrà incassata la seconda tranche del finanziamento relativo al Progetto SEDSU (VI Programma quadro)

È in attesa di approvazione il Progetto 'The cooperative mind: towards proximate explanations for human and animal cooperation', cui il nostro gruppo partecipa in collaborazione con altri gruppi di lavoro dell'ISTC. Sugli stessi temi di questo progetto (trading and cooperation), e in collaborazione con alcuni dei partner in esso coinvolti, si cercherà inoltre di concorrere ai finanziamenti previsti per il VII programma quadro.

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 ricerca

Risultati attesi nell'anno

Caratterizzazione dell'uso funzionale di strumenti da parte dei cebi in natura e comparazione con i dati disponibili per le scimmie 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 di esperimenti effettuati con individui adulti di Cebus apella e bambini, 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 Cognitivi
Istituto esecutore: Istituto di scienze e tecnologie della cognizione
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
403	196	0	46	650	3	199	50	N.D.	703

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
6	7

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	4	4	8

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Modelli animali di deficit neurocomportamentale: meccanismi di adattamento a stress

Dati generali

Progetto:	Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e del comportamento
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di neuroscienze
Sede principale svolgimento:	Sede di Roma
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	FRANCESCA ROMANA D'AMATO

Elenco dei partecipanti

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

Questa commessa si occupa della risposta comportamentale allo stress durante lo sviluppo e nell'età adulta. Oggetto di indagine sono sia i meccanismi molecolari che le risposte fisio-patologiche e comportamentali.

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.

Inoltre modelli sperimentali murini hanno da tempo dimostrato un legame tra stress ossidativo e deficit cognitivi.

Azioni

Attività da svolgere

a. Studio degli effetti a breve e lungo termine di uno stress applicato sulla madre o sui piccoli nel topo. Saranno effettuate analisi su parametri neurobiologici e comportamentali nei piccoli e nella madre in fasi differenti dello sviluppo, in seguito a esposizione a stress acuto e/o cronico. Sarà valutato il ruolo di un deficit nel sistema oppioide sullo sviluppo del comportamento sociale. Saranno effettuati test comportamentali relativi ai disturbi della condotta alimentare negli animali stressati. Sarà valutato l'effetto di un ambiente arricchito durante lo sviluppo, su alcuni parametri comportamentali cognitivi, emozionali e affiliativi, negli animali in età adulta.

Saranno inoltre valutati gli effetti dello stress sulla modulazione dell'espressione del gene *vgf* che esercita un ruolo rilevante nella regolazione del metabolismo energetico

b. Studio delle alterazioni nel metabolismo dei ROS, con particolare riguardo ad alterazioni della funzionalità mitocondriale, in modelli murini transgenici per la forma umana dell'enzima antiossidante Cu,Zn-superossido dismutasi (SOD1), coinvolto in patologie neurodegenerative quali la SLA di tipo familiare e la sindrome di Down. Saranno



Punti critici e azioni da svolgere

a. Abbiamo già messo a punto una batteria di test comportamentali sui piccoli per valutare il legame di attaccamento alla madre in topi mu-KO. Abbiamo intenzione di estendere tale analisi ad animali con genotipo diverso e che hanno sperimentato diversi trattamenti postnatali per verificare se un deficit nell'attaccamento durante le prime fasi di sviluppo possa essere messo in relazione a disturbi alimentari, cognitivi e affiliativi nell'animale adulto.

b. Allo stato attuale abbiamo caratterizzato un legame tra SOD1 con mutazioni SLA localizzata nel comparto mitocondriale e un incrementato flusso di ROS all'interno del mitocondrio stesso. Inoltre abbiamo clonato in un opportuno vettore di espressione il cDNA codificante l'enzima antiossidante Glutazione Reduttasi (GR), corredandolo della sequenza segnale per la localizzazione mitocondriale, abbiamo testato la bontà del sistema di espressione in colture cellulari e ci stiamo accingendo a generare un modello murino transgenico per la GR.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Lo studio del comportamento di cui si occupa questa commessa è strettamente collegato ai correlati neurobiologici. Nell'ambito della commessa esistono le competenze necessarie sia per l'analisi dei fattori causali, ontogenetici e funzionali legati allo studio del comportamento e sia le competenze legate all'analisi dei suoi correlati neurobiologici. Anche l'approccio farmacologico fa parte delle competenze della commessa. Le numerose collaborazioni già in atto con altre unità operative ampliano ulteriormente la capacità di esplorare settori differenti e di effettuare analisi traslazionali.

Inoltre lo studio dei meccanismi molecolari alla base dei processi neurodegenerativi si avvale di competenze nell'ambito della biologia molecolare e cellulare.

Strumentazione

Sono a nostra disposizione una serie di apparecchiature che permettono di effettuare uno screening del comportamento del topo di ampio raggio. Siamo in grado di effettuare analisi sofisticate e automatizzate del comportamento spontaneo e delle vocalizzazioni. Abbiamo l'attrezzatura sperimentale per analizzare i processi di apprendimento e memoria (test di evitamento attivo e passivo, labirinti radiali, labirinti a ST, labirinto ad acqua), per valutare l'emozionalità (labirinto a croce sopraelevata, test luce/buio, open field, test di esplorazione libera), la risposta al dolore (test del tail-flick, hot-plate, test della formalina), per misurare il comportamento alimentare (gabbie automatizzate per la misura dell'attività locomotoria e del consumo di cibo. Stereotassico).

Sono inoltre a disposizione una serie di apparecchiature per la biologia cellulare e molecolare: PCR, ultracentrifughe, apparecchi per elettroforesi, dispositivi per lettura di gel, macchina per HPLC ed FPLC, attrezzatura per colture cellulari, microscopio rovesciato, microscopio confocale, telecamere, criostato, vibratomo, ultramicrotomo, microscopi da dissezione, microscopi confocali, microscopi.

Tecniche di indagine

- Metodiche di raccolta automatizzata e manuale del comportamento animale;
- Tecniche di decodificazione del comportamento;
- Protocolli sperimentali di manipolazioni dei piccoli durante le prime due settimane di vita postnatale;
- Protocolli sperimentali di stress psicosociale;
- Protocolli sperimentali di valutazione dello sviluppo psicomotorio durante lo sviluppo;
- Analisi delle vocalizzazioni nella banda degli ultrasuoni
- Mantenimento e genotipizzazione di colonie di animali knockout
- Costruzione di vettori di espressione proteica da utilizzare per la trasfezione di colture cellulari.
- Costruzione di vettori di espressione per la costruzioni di modelli murini transgenici.

Tecnologie



Collaborazioni (partner e committenti)

Sono in corso una collaborazioni con differenti gruppi di ricerca presso

Università di Roma La Sapienza,
Università di Roma Tor Vergata,
Università di Parma,
Università di Sassari,
Istituto Superiore di Sanità
Istituto San Raffaele Milano.
EMBL Monterotondo.
Dept Animal Physiology, Univ Groningen, The Netherlands.
Dept Molecular Neuropharmacology, Krakow, Poland.
CNRS ESBS Univ Louis Pasteur Strasbourg
Dept Chemistry & Biochemistry, UCLA, Los Angeles

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

- Partecipazione al programma dell'ESF su EUROSTRESS, se il CNR deciderà di aderire.
- Valutare la possibilità di effettuare una richiesta di fondi all'NIH in collaborazione con B Kieffer su 'Basic and Translational Research Opportunities in the Social Neuroscience of Mental Health (R01)[SF424 (R&R)]'.
- Partecipazione a progetti del VII PQ.
- Partecipazione al bando IDEAS del VII PQ.

Finalità

Obiettivi

L'obiettivo di queste ricerche è

- La comprensione dei meccanismi molecolari alla base del comportamento e del ruolo dei fattori genetici e ambientali nei meccanismi di adattamento a condizioni alterate dell'ambiente interno ed esterno all'organismo.
- La comprensione del ruolo delle specie radicaliche dell'ossigeno nei processi neurodegenerativi.
- Lo studio delle relazioni tra stress ossidativo e deficit neurocomportamentali in modelli animali di neurodegenerazione
- La costruzione di opportuni vettori di espressione in grado di veicolare in diversi compartimenti cellulari enzimi ad azione antiossidante con lo scopo di intercettare il danno ossidativo rilevabile in diverse patologie neurodegenerative

Risultati attesi nell'anno

a. Mettere in evidenza alterazioni nella fisiologia e nel comportamentali in seguito a stress neonatale. Comprendere il ruolo della madre nella risposta allo stress dei piccoli utilizzando animali knockout per il recettore 5Ht1A. e μ -KO.
Comprendere il contributo dei peptidi vgf-derivati nelle alterazioni del sistema autonomo conseguenti ad un'esposizione allo stress.

b. Costruzione del modello sperimentale murino transgenico per GR e caratterizzazione degli eventuali fondatori.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

- Messa a punto di modelli animali per screening di farmaci che agiscono sia sul comportamento alimentare che sul metabolismo;
- Messa a punto di modelli animali per lo studio di terapie comportamentali e/o farmacologiche in grado di ridurre gli effetti di stress neonatali.
- Studio di sostanze ad azione antiossidante con tropismo mitocondriale in grado di attenuare processi di stress ossidativo.
- Costruzione di vettori di espressione in grado di veicolare enzimi ad azione antiossidante provvisti di opportune sequenze leader per la localizzazione mitocondriale, utilizzabili per generare modelli cellulari o animali transgenici

- 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.
- Utilizzo dei costrutti sopra riportati per scopi terapeutici in patologie neurodegenerative, dove lo stress ossidativo sembra avere un ruolo chiave.



- Ricerca di deficit neurocomportamentali da usare come reperti diagnostici precoci in patologie neurodegenerative quali la sclerosi laterale amiotrofica, con lo scopo di intervenire con opportune terapie prima che la patologia mostri i sintomi in fase conclamata.

Moduli

Modulo: Modelli animali di deficit neurocomportamentale: meccanismi di adattamento a stress - modelli animali

Istituto esecutore: Istituto di neuroscienze

Luogo di svolgimento attività: Sede di Roma

Risorse commessa 2007

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
265	11	0	0	276	19	30	16	N.D.	311

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	5

*equivalente tempo pieno

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

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

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Modelli animali per applicazioni terapeutiche

Dati generali

Progetto:	Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e del comportamento
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.
Carmarino Silvana	VI	Frattini Annalisa	III	Susani Lucia	VI
Cerruti Claudio	I	Gambirasio Francesco	VII	Torti Mariagiovanna	VI
Costantino Elvira	II	Musio Antonio	III	Vezzoni Paolo Maria	II
Di Carlo Michela	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 omologa, 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

L'attività si svolgerà lungo varie linee di ricerca. Nella prima linea, in collaborazione con la commessa della dr.ssa A Villa, verrà analizzato un modello murino della sindrome di Omenn. Si tratta di una grave immunodeficienza a patogenesi poco conosciuta, e lo studio di un modello murino consentirà di chiarire molti dei punti ancora oscuri. In un secondo progetto, verrà prodotto e analizzato un modello murino in cui il gene SMC1A, responsabile della sindrome di Cornelia de Lange, verrà interrotto in specifici tessuti attraverso la procedura cre-lox, così da riprodurre almeno parzialmente il quadro clinico di questo disordine genetico. In una terza linea, verrà messo a punto un modello murino che consentirà di studiare la fusione cellulare in vivo. Inoltre verrà indagato il difetto cellulare presente nel sistema nervoso dei topi GI and Twitcher, che sono modelli animali di due malattie umane, l'osteopetrosi e la sindrome di Krabbe. Infine, verrà perseguita la possibilità di curare attraverso l'infusione di cellule staminali in utero malattie genetiche dell'osso quali la osteopetrosi e la osteogenesi imperfetta utilizzando modelli murini adeguati.

Punti critici e azioni da svolgere

Alcune delle attività sopra descritte non presentano particolari difficoltà e le ricerche potranno procedere normalmente. Altre invece, quali quelle basate sulla somministrazione in utero di cellule staminali, richiederanno una maggior comprensione della biologia di queste cellule e della nicchia ossea che le ospita. Sarà necessario instaurare ampi rapporti di collaborazione con l'IRCCS Humanitas di Rozzano (Milano), con cui è già attiva una convenzione per lo sviluppo di ricerche nel settore delle biotecnologie. Questa attività richiederà l'apertura di un laboratorio congiunto nella sede dell'IRCCS Humanitas che coinvolgerà ricercatori dell'ITB/CNR e dell'IRCCS Humanitas, il cui inizio è previsto per la primavera del 2007. Questa collaborazione coinvolgerà il personale afferente alla presente commessa. Particolari problemi potrebbero insorgere nel caso dell'osteogenesi imperfetta, che essendo una malattia dominante, potrebbe richiedere il silenziamento del gene endogeno mutato affinché la terapia cellulare possa rivelarsi utile.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine



Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

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

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Ci si propone di applicare a bandi pubblici quali Telethon, Fondazione Cariplo e AIRC, la cui missione è compatibile con la nostra ricerca.

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 tumorale.

Risultati attesi nell'anno

Tra i risultati attesi possiamo attenderci pubblicazioni scientifiche su riviste di ampia diffusione, la produzione di specifici modelli murini da utilizzare per ricerca, la messa a punto di protocolli terapeutici e l'acquisizione di conoscenze nel settore delle malattie genetiche e della terapia cellulare.

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 innovativi
Istituto esecutore: Istituto di tecnologie biomediche
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
259	47	375	0	681	159	581	60	N.D.	900

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
3	5

*equivalente tempo pieno



<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	3	0	0	0	0	0	3

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
1	1	4	6

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Sviluppo e funzionamento dei sistemi complessi - Uso di modelli biologici

Dati generali

Progetto:	Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e del comportamento
Tipologia di ricerca:	Progetti di sviluppo competenze
Istituto esecutore:	Istituto di genetica e biofisica 'Adriano Buzzati Traverso'
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	SILVANA GARGANO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Aliperti Anna Maria	VII	Defez Roberto	II	Miele Elia	VI
Andone Silvia	V	Desideri Carmela	IV	Navarra Gerardo	VII
Arbucci Salvatore	VI	Di Giacomo Alfredo	VII	Noviello Ciro	V
Bazzicalupo Paolo	I	Di Porzio Umberto	I	Pellicano' Domenico	VIII
Beato Antonio	IV	Digilio Filomena Anna	III	Pinto Anna Maria	IV
Bellopede Annunziata	VII	Esposito Bruno	IV	Ragosta Giuseppe	VII
Cavaliere Daniela	V	Fusco Ciro	IV	Rallo Claudia	VI
Chiurazzi Maurizio	II	Gargano Silvana	II	Rocco Rosaria	VIII
Cossu Simone	VI	Gigliotti Silvia	III	Russo Alessandra	VII
Cozzuto Luigi	VIII	Graziani Franco	I	Sicilia Giuseppina	VIII
De Falco Antonio	VI	Iaccarino Maria Rosaria	IV	Torelli Raimondo	V
De Falco Vincenzo	VII	La Volpe Adriana	II	Vito Rita	VI
De Luise Bruno	IV	Manna Filomena	V		

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 e' 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 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

I partecipanti alla commessa sono esperti di Genetica classica e molecolare, di Biologia molecolare e Biologia cellulare.

Strumentazione

In dotazione ai gruppi partecipanti sono centrifughe e ultracentrifughe; spettrofotometri; apparecchi per PCR e real-time PCR; apparecchi per elettroforesi e alimentatori; bagni e camere termostate; stereoscopi; microscopi diritti e invertiti, in campo chiaro e a fluorescenza, a deconvoluzione e confocale; microscopi per micromanipolazione e microiniezione.

Tecniche di indagine

Saranno utilizzate tecniche di clonaggio e sequenziamento dei geni prescelti.

Attraverso la trasformazione degli organismi interessati, sarà studiata l'espressione; attraverso la microscopia sarà identificata la localizzazione proteica. Saranno effettuati esperimenti di Genetica diretta e inversa (RNA interference, animali transgenici) per l'analisi funzionale.

Tecnologie

Manipolazione sperimentale di organismi per testare ipotesi di funzionamento a livello molecolare, cellulare e di organismo attraverso tecniche di genetica inversa e diretta, analisi biochimica e 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.

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Richieste di finanziamenti alla Unione Europea e a Fondazioni pubbliche e private.

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 2007

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
504	90	54	1	649	48	192	190	N.D.	887

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	9

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



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

Dati generali

Progetto:	Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e del comportamento
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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	UMBERTO DI PORZIO

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Acampora Dario	II	De Luise Bruno	IV	Pellicano' Domenico	VIII
Aliperti Anna Maria	VII	Desideri Carmela	IV	Pinto Anna Maria	IV
Andone Silvia	V	Di Giacomo Alfredo	VII	Porzio Concetta	VII
Arbucci Salvatore	VI	Di Porzio Umberto	I	Prisco Antonella	III
Barra Adriano	VI	Esposito Bruno	IV	Ragosta Giuseppe	VII
Bazzicalupo Paolo	I	Fusco Ciro	IV	Rallo Claudia	VI
Beato Antonio	IV	Graziani Franco	I	Rocco Rosaria	VIII
Bellopede Annunziata	VII	Iaccarino Maria Rosaria	IV	Russo Alessandra	VII
Cossu Simone	VI	Liguori Giovanna Lucia	III	Sicilia Giuseppina	VIII
Cozzuto Luigi	VIII	Manna Filomena	V	Simeone Antonio	I
De Cesare Dario	III	Miele Elia	VI	Torelli Raimondo	V
De Falco Antonio	VI	Minchiotti Gabriella	III	Tuorto Francesca	III
De Falco Vincenzo	VII	Noviello Ciro	V	Vito Rita	VI

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, *Drosophila* e *C. elegans* e sistemi cellulari che hanno svelato nuove e fondamentali funzioni geniche e loro interazioni molecolari nonché 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 patologie del SNC dei mammiferi, uomo incluso.

Azioni

Attività da svolgere

Identificazione di meccanismi e interazioni cellulari alla base del differenziamento neurale.
Studio del sistema sensoriale utilizzando modelli animali semplici come *C. elegans*. Sviluppo di nuovi modelli animali di malattie neurologiche e da dipendenza.
Identificazione di molecole e geni implicati nel differenziamento delle cellule staminali in specifici sottotipi neuronali.

Punti critici e azioni da svolgere

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

I partecipanti alla commessa sono esperti di Neurobiologia, Genetica classica e molecolare, di Biologia molecolare e Biologia cellulare.

Strumentazione

In dotazione ai gruppi partecipanti sono centrifughe e ultracentrifughe; spettrofotometri; apparecchi per PCR e real-time PCR; apparecchi per elettroforesi e alimentatori; bagni e camere termostate; cappe e



incubatori per colture cellulari; apparati stereotassici; fluorocitometro cell sorter per isolamento di cellule; stereoscopi; microscopi diritti e invertiti, in campo chiaro e a fluorescenza, a deconvoluzione e confocale; microscopi per micromanipolazione e microiniezione.

Tecniche di indagine

Saranno utilizzate tecniche di clonaggio e sequenziamento dei geni prescelti, sarà studiata l'espressione cellulo- e differenziamento-specifica; attraverso la microscopia sarà identificata la localizzazione proteica. Saranno messi a punto protocolli per il isolamento e differenziamento di cellule staminali embrionali e/o adulte utilizzando marcatori fluorescenti (es Topi transgenici che esprimono la GFP sotto specifici promotori neurali o neuronali), isolamento di specifiche popolazioni neuronali e/o di cellule staminali/precursori neurali mediante tecniche di cell sorting. Saranno effettuati esperimenti di Genetica diretta e inversa (RNA interference, animali transgenici) per l'analisi funzionale.

Tecnologie

Manipolazione sperimentale di organismi per testare ipotesi di funzionamento a livello molecolare, cellulare e di organismo attraverso tecniche di genetica inversa e diretta, analisi morfologica, anatomica, biochimica e cellulare.

--

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.

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Tutti i partecipanti sono attivamente impegnati nella stesura di progetti di ricerca, nazionali, europei ed internazionali, dalla Michel J. Fox Foundation al 7 PF della commissione europea, da progetti FIRB internazionali ai programmi FIRST, da Human Frontiers programs a selettivi call for proposal di varie società ed associazioni scientifiche, come Telethon, FISM, New Jersey study on Autism

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

Meccanismi del differenziamento neuronale e dello sviluppo e differenziamento di cellule staminali.
Uso di cellule staminali per la terapia di isordini neurologici in modelli animali di malattia.

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 2007

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
472	82	21	1	576	110	213	188	N.D.	874

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	9

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
3	0	0	3

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Funzioni del S.N./Neurotrofine

Dati generali

Progetto:	Modelli animali per lo studio di processi fisio-patologici e del comportamento
Tipologia di ricerca:	Progetti di sviluppo competenze
Istituto esecutore:	Istituto di neurobiologia e medicina molecolare
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	LUIGI ALOE

Elenco dei partecipanti

	liv.		liv.		liv.
Allegria Leda	IV	Dominici Roberto	V	Procida Paola	VII
Aloe Luigi	I	Febbraro Cardello Vincenzo	VIII	Ridolfi Alessandro	IV
Battaglia Massimo	II	Fiorani Anna Rita	VIII	Riviello Maria Cristina	III
Bernardini Aurelio	VII	Galli Cinzia	III	Ruberti Francesca	III
Bracci Laudiero Luisa	III	Maresci Americo	IV	Severini Cinzia	III
Capozzoni Antonella	III	Mattei Elisabetta	III	Subania Bruno	VII
Casalbore Patrizia	III	Mercanti Delio	I	Tirassa Paola	III
Ciotti Maria Teresa	V	Mirabelli Angela Maria	V	Vaccaro Domenico	VII
Colasuonno Marisa	VII	Nunzi Biagio	IX	Vaccaro Romeo Aldo	VII
De Cresci Patrizia	VII	Papa Pamela	VII	Volonte' Cinzia	II
Di Luzio Anna	IV	Perretta Gemma	III		

Temi

Tematiche di ricerca

La tematica principale della ricerca è mirata alla identificazione e messa a punto

- 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;
- 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;
- produzione e purificazione della molecola NGF, del suo anticorpo e del recettore a bassa affinità;
- indagine sul potenziale risolto terapeutico della molecola NGF su patologie del sistema nervoso e del tessuto cutaneo;
- 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 recupero del danno neuronale a seguito di insulti tossici, chirurgici e patologici.

L'azione della molecola si estende anche al di fuori del sistema nervoso e ciò 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 (invecchiamento, 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 che ha come obiettivo il potenziale utilizzo della molecola NGF e/suoi regolatori di sintesi endogena a sc



Azioni

Attività da svolgere

Le attività previste per i prossimi anni sono raggruppabili in quattro grandi blocchi:

- a) Ampliare le conoscenze sul ruolo del NGF nei processi a carico dei neuroni del prosencefalo basale coinvolti nell'invecchiamento cognitivo e nella malattia di Alzheimer.
- b) Validare il potenziale clinico e terapeutico del NGF nelle patologie oculari
- c) approfondire lo studio del ruolo svolto dal NGF nel comportamento aggressivo ed in patologie di natura psichiatrica.
- d) Elucidare i meccanismi ed i mediatori che regolano la produzione endogena di neurotrofine.

Rimane inoltre punto centrale della commessa la produzione di NGF purificato da tessuti animali e possibilmente umano con metodologie ricombinanti, i suoi anticorpi da utilizzare per promuovere collaborazioni tra la ricerca di base e la clinica.

Punti critici e azioni da svolgere

Permangono come punti critici le risorse economiche ed umane che garantiscano e mantengano l'altro profilo professionale di cui necessita la commessa per raggiungere i suoi obiettivi.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

I partecipanti alla commessa hanno consolidate competenze nel campo delle neurotrofine, neuropeptidi e nella purificazione della proteina NGF e del suo anticorpo. La disponibilità di NGF purificato e dei suoi anticorpi policlonali e monoclonali rappresentano degli strumenti sperimentali essenziali per il raggiungimento degli obiettivi della commessa. Inoltre tutto il personale non di ruolo ed i ricercatori che partecipano alla commessa possiedono alte competenze tecniche e teoriche per lo studio in vivo ed in vitro dei processi che sottendono e caratterizzano la fisiologia dei fattori neurotrofici nel sistema nervoso ed immunitario.

Strumentazione

L'Istituto di Neurobiologia & Medicina Molecolare (INMM) nella sua attuale sede di Via del Fosso di Fiorano è una struttura rinnovata in cui sono presenti servizi di stabularizzazione degli animali, camere operatorie, camere sterili e camere destinate alla manipolazione di materiale radiattivo di nuova costruzione. I laboratori sono anch'essi nuovi ed adeguatamente attrezzati per l'analisi istologica-strutturale e molecolare. In particolare l'Istituto ha recentemente rinnovato parte del suo patrimonio strumentale con l'acquisizione ad esempio di sistema Real-time PCR, un microbeta system PerkinElmer, lunimetro, etc.

Sono inoltre presenti microscopi ottici, a fluorescenza e confocali dotati di sistema acquisizione ed analisi di immagine.

Tecniche di indagine

La nostra ricerca si avvale di tecniche e competenze di indagine acquisite in laboratori italiani, europei e americani, quali analisi cellulare in vitro e in vivo, conoscenze di neuroanatomia, interventi di macro e microchirurgia, analisi di natura biochimica, immunoistochimica, molecolare e comportamentale. In collaborazioni di ricercatori clinici siamo in grado di intraprendere studi di natura preclinici e clinici mirati alla comprensione del ruolo terapeutico del NGF in patologie nervose e cutanee.

Tecnologie

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, Bulgaria, Università Magna Graecia, Catanzaro, Policlinico Annunziata, Cosenza, Università di Milano Bicocca.

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Il responsabile della commessa è attivamente coinvolto nella creazione dei network internazionali che mirano alla preparazione di progetti di ricerca aderenti al VII programma quadro della comunità europea. Si cercherà anche di presentare richieste di finanziamento a istituzioni internazionali e/o nazionali per progetti di ricerca mirati al raggiungimento di singoli obiettivi della commessa, ad esempio progetti sulle patologie oculari, disturbi psichiatrici, sullo stress cronico, etc.

La partecipazione ai progetti bilaterali con organizzazioni internazionali verranno inoltre favorite al fine di aumentare lo scambio tecnico e culturale con altri gruppi di ricerca che lavorano su tematiche affini e/o che utilizzino tecnologie ed approcci sperimentali di aiuto al raggiungimento degli obiettivi della commessa



Finalità

Obiettivi

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

I risultati piu' rilevanti che si ritiene di raggiungere nel 2007 riguardano la caratterizzazione del ruolo della molecola NGF a seguito di stress cronico e in alcune patologie di natura neurocomportamentale, sia in modelli animali che nell'uomo.

La conclusione di esperimenti attualmente in corso utilizzando modelli di patologie oculari forniranno molto probabilmente dati significativi sul ruolo della molecola NGF in alcune patologie del sistema visivo.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

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. Inoltre, la possibilità di comprendere attraverso quali strategie è possibile influenzare la produzione endogena di neurotrofine può fornire utili informazioni alla ricerca applicata indicando il potenziale farmacologico di gruppi di molecole che attivano le neurotrofine.

- 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, può 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 2007

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
565	45	35	0	645	73	153	71	N.D.	789

valori in migliaia di euro

Unità di personale di ruolo*	
ricercatori	Totale
7	11

*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	3	0	0	0	0	0	0	3



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

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Meccanismi di adattamento a stress e biodiversità



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

Dati generali

Progetto:	Meccanismi di adattamento a stress e biodiversità
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:	MARIA CIARAMELLA

Elenco dei partecipanti

Carginale Vincenzo	liv. III	D'Avino Rossana	liv. II	Manco Giuseppe	liv. II
Carrara Adriana	V	Febbraio Ferdinando	III	Nucci Roberto	I
CiarameLLa Maria	II	Maiello Aniello	VII	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. Noto 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 mesofili
Interazioni proteina-proteina in condizioni di stress: dissociazione e aggregazione in urea di una proteina modello (tireoglobulina)
Studi di cristallizzazione sui mutanti Trp95Leu e Trp95Leu/Asn249Tyr dell'ADH di *S. solfataricus*. Preparazione di altri mutanti di SsADH e BsADH. Identificazione e caratterizzazione di nuove ADH in *Lactobacillus* e *Thermus* attive su aldeidi aromatiche e aril chetoni alogenati
Espressione eterologa, purificazione e regolazione della glicosil idrolasi termofila Sso1353
Completamento dell'analisi dell'espressione genica in piante di *Catharanthus roseus* infettate da fitoplasmi. Identificazione e regolazione dei geni differenzialmente espressi identificati
Analisi del metabolismo delle ossilipine in diatomee marine, enzimi coinvolti della risposta al danno da predatori
Studio degli effetti di radiazioni ed agenti alchilanti sulla regolazione dell'espressione genica nell'archaeon ipertermofilo *Sulfolobus solfataricus*: analisi a livello trascrizionale e post-trascrizionale



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

Le attività riguardanti lo studio della risposta al danno cellulare da predatori in diatomee sono subordinate all'ottenimento di ulteriori finanziamenti.

La proteomica e lo studio di interazione proteina/proteina sono approcci innovativi che richiedono attrezzature sofisticate (Biacore, piattaforme robotiche per il liquid handling e spettrometri di massa) che l'IBP ha recentemente acquisito grazie ai finanziamenti regionali per il centro di competenza BioTeKnet di cui fa parte. Ci si auspica di poter fornire a giovani ricercatori conoscenze e capacità operative in questi ambiti strategici per lo sviluppo della ricerca e della tecnologia future. Questo prevede l'accessibilità a finanziamenti specifici.

E' auspicabile lo sblocco delle assunzioni di ricercatori vincitori di concorsi e l'attuazione di nuovi concorsi per l'assunzione di personale a tempo determinato e indeterminato.

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

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze richieste (in biochimica, biologia molecolare, microbiologia, genetica, bioinformatica, modellazione molecolare, chimica, chimico-fisica, biologia strutturale) sono in gran parte in possesso del personale della commessa

Strumentazione

Spettrofotometri, spettrofluorimetri, spettropolarimetri, FPLC, HPLC, Real-time PCR, dispositivi per elettroforesi, Phosphorimager, ChemiDoc, incubatori e fermentatori ad alta temperatura, centrifughe ed ultracentrifughe, elettroporatori, BiaCore, spettrometri di massa, sequenziatori di proteine, contatori di radiazioni beta, microarray spotter, cell sorter

Tecniche di indagine

Cromatografia, elettroforesi di acidi nucleici e proteine, sequenziamento di DNA e proteine, marcature radioattive, Southern blot, Northern blot, Western blot, immunoprecipitazioni, EMSA, saggi enzimatici, PCR, RT-PCR, modellazione molecolare, ricerche in banche dati, coltivazione di microorganismi ad alte e basse temperature.

Tecnologie

Identificazione, clonaggio, espressione eterologa e purificazione di proteine. Mutagenesi casuale e sito-diretta. Analisi quantitativa dei livelli di trascrizione. Analisi quantitativa dei livelli di espressione di proteine e di attività enzimatiche.

Analisi delle interazioni proteina-proteina e DNA-proteina.

Determinazione di cinetiche enzimatiche. Predizioni di struttura tridimensionale di proteine.

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 Canada G. 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

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

La richiesta di finanziamento triennale all'Agenzia Spaziale Italiana per il progetto dal titolo: 'Archaea termofili come sistemi modello per lo studio di pathways conservati di risposta al danno al DNA in fenomeni di invecchiamento' inserito nell'Offerta di Progetto Applicativo Triennale di Applicazioni Biotecnologiche 'Dalle Molecole all'Uomo: la Ricerca Spaziale applicata al miglioramento della Qualità della Vita della popolazione anziana' è stata approvata e si attendono i finanziamenti per il secondo anno.

E' prevista la disponibilità della seconda tranches del finanziamento del FIRB 2003 'Enzimi e Catalizzatori Organo-Metallici per Nuove Biotrasformazioni e l'Ottimizzazione di Processi Produttivi Eco-compatibili', coordinatore Prof. A. Boffi, per il progetto 'Alcool Deidrogenasi Termostabili per Nuovi Processi di Sintesi Stereospecifiche'.

E' in corso la preparazione di proposte per IFP7 della EU.

E' in corso di sottomissione un progetto per il PNRM del Ministero della Difesa.

E' in corso la preparazione di proposte per il FIRB del MUR.

Sono in corso contatti con società private interessate ai brevetti disponibili.



<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Studio dei processi cellulari in estremofili

Dati generali

Progetto:	Meccanismi di adattamento a stress e biodiversità
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	III	De Felice Mariarita	III	Pipola Beatrice	VI
Ciaramella Maria	II	Jesu Amedeo	IV	Pisani Francesca Maria	II
Cobucci Ponzano Beatrice	III				

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

Ci si propone di:

1. Analizzare le relazioni struttura-funzione e le interazioni fisiche e/o funzionali di fattori di replicazione/riparazione/ricombinazione del DNA di *S. solfataricus* e confrontarle con i fattori omologhi di uomo. In particolare, si intende studiare le proteine MCM, il complesso GINS e la loro interazione reciproca e con altri fattori replicativi.
2. Determinare gli effetti di radiazioni ed agenti alchilanti (MMS) sulla regolazione dell'espressione genica in *S. solfataricus* mediante analisi a livello trascrizionale con utilizzo della Real-Time PCR, e post-trascrizionale per mezzo di western blotting.
3. Studiare il programmed -1 frameshifting in vivo in *S. solfataricus* ed analizzare altri geni interrotti di tale specie.
4. Costruire ed analizzare altri vettori basati sui virus SSV2 e PSSVx di *S. islandicus* REY 15/4, nonchè vettori per l'espressione di geni di interesse biotecnologico e per il dosaggio dell'attività trascrizionale di sequenze regolatrici in *S. solfataricus*.

Punti critici e azioni da svolgere

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.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Biochimica, Biologia molecolare, Microbiologia



Strumentazione

French Press, Centrifughe ed ultracentrifughe, Dispositivi per elettroforesi, Sistemi per cromatografia AKTA, BiaCore, Phosphorimager, Thermal cycler per PCR, Spettrofluorimetri, Spettrofotometri, Incubatori ad alta temperatura per colture di batteri iper-termofili, Elettroporatore,

Tecniche di indagine

Tecniche cromatografiche. Tecniche per la produzione di proteine in forma ricombinante. Mutagenesi sito-specifica ed ingegneria proteica. Tecniche per la analisi della interazione proteina-proteina e proteina-acidi nucleici (co-immunoprecipitazione, "DNA-band shift assays", "Surface Plasmon Resonance"). Saggi enzimatici con l'utilizzo di precursori radioattivi. Sistemi per la manipolazione genetica di archeobatteri iper-termofili.

Tecnologie

Purificazione di proteine ricombinanti di interesse medico e/o biotecnologico. Produzione di anticorpi specifici contro proteine ricombinanti di interesse medico e/o biotecnologico. Predizione di modelli di struttura tri-dimensionale di proteine. Vettori per la manipolazione genetica di archeobatteri iper-termofili.

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).

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Alcuni Ricercatori afferenti a tale Commessa sono inseriti in consorzi europei per la partecipazione ai bandi per il finanziamento nell'ambito del VII Programma Quadro della Unione Europea ed hanno, altresì, aderito a reti nazionali per partecipare ai finanziamenti FIRB sulla Proteomica.

Sono anche in atto collaborazioni con aziende private a livello nazionale e internazionale per finanziamenti su applicazioni specifiche.

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 elicastica.
2. Purificazione e caratterizzazione biochimica di una nuova DNA elicasi di *S. solfataricus* (denominata Hel112) con attività di DNA-pairing.
3. Analisi della interazione fisica e/o funzionale del complesso umano GINS con DNA polimerasi replicative ed operanti "Trans-Lesion Synthesis" (TLS).
4. Valutazione quantitativa dei livelli degli RNA messaggeri e dei prodotti proteici di geni selezionati (codificanti per DNA topoisomerasi, componenti della cromatina e fattori della riparazione del DNA) in colture di *S. solfataricus* esposte a radiazioni UV e a MMS.
5. Identificazione e caratterizzazione di nuovi geni interrotti e sviluppo delle conoscenze sul meccanismo del programmed -1 frameshifting in *S. solfataricus*.
6. Transfezione stabile di *S. solfataricus* con vettori derivanti dai virus SSV2 e PSSVx ed espressione di almeno un gene in via eterologa. Messa a punto delle condizioni di crescita ottimizzate per la trasformazione/espressione genica.
7. Pubblicazioni su riviste scientifiche peer-reviewed.



*Potenziale impiego
- per processi produttivi*

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

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

Risorse commessa 2007

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
229	73	85	0	387	2	160	88	N.D.	477

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
3	5

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Individuazione, recupero e conservazione della biodiversità dei lieviti siciliani e loro catalogazione territoriale.

Dati generali

Progetto:	Meccanismi di adattamento a stress e 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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	FRANCESCO DI BLASI

Elenco dei partecipanti

Bonsignore Giovanni	liv. DIRE	Parisi Pietrina	liv. V	Spera Donatella	liv. VII
Bonura Angela	III	Riccobono Daniela	VII	Tarantino Provvidenza	VII
Cavoli Francesca	VIII	Sanzone Sabrina	VII	Turatto Rosa	VII
Di Blasi Francesco	III	Scatassa Valentina	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 diminuzione 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, può 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

Nel corso del 2007 saranno caratterizzati a livello molecolare le popolazioni di lieviti isolati nel 2006. In particolare, tale caratterizzazione sarà effettuata tramite l'analisi per PCR delle sequenze ITS dei DNA ribosomali per confermare l'appartenenza alla specie di ogni individuo mentre la distinzione dei diversi isolati verrà realizzata attraverso l'analisi dei RFLP del DNA mitocondriale.

Sarà inoltre effettuata una ulteriore campionatura e selezione a partire da un differente habitat. Poiché i lieviti sono largamente utilizzati nel settore vitivinicolo, alcuni individui isolati saranno caratterizzati attraverso un'analisi dei caratteri tecnologici per un potenziale utilizzo commerciale.

Punti critici e azioni da svolgere

L'esiguità dei finanziamenti ordinari ricevuti dalla commessa non consentirebbe alcuna attività di ricerca. Inoltre, la mancanza di personale di ruolo non consente un adeguato supporto tecnico allo svolgimento delle ricerche della commessa. Una grossa percentuale dei finanziamenti esterni è destinato a pagare assegni di ricerca di personale che svolge attività di ricerca della commessa. L'assunzione di nuovo personale di ruolo e/o il finanziamento di personale a contratto consentirebbe di finanziare ulteriormente l'attività di ricerca e tali fondi potrebbero essere destinati all'acquisto di nuovi strumenti.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine



Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

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 Sicilia
CNRS Bordeaux, France;
INRA Bordeaux, France.
Piccole e medie imprese

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Partecipazione ai Centri di Competenza Tecnologica.
Partecipazione ai Distretti Tecnologici.
Si proporranno nuovi progetti agli enti locali, ed in particolare agli Assessorati della Regione Siciliana.

Finalità

Obiettivi

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 nuove colonie di lievito da nuovo habitat. Caratterizzazione molecolare di nuovi individui e loro catalogazione territoriale. Parziale analisi statistica delle differenti popolazioni.

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 particolare 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. Poiché 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 bioindicatori 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 esecutore: Istituto di biomedicina e immunologia molecolare "Alberto Monroy"
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto



Risorse commessa 2007

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
53	12	33	17	115	13	58	10	N.D.	138

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
1	1

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	3	0	3

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Liberaazione, diffusione e deposizione delle componenti biologiche dell'atmosfera ed effetto sulla salute.

Dati generali

Progetto:	Meccanismi di adattamento a stress e 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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	Giovanni Duro

Elenco dei partecipanti

Albeggiani Giuseppe	liv. III	Parisi Pietrina	liv. V	Spera Donatella	liv. VII
Bonsignore Giovanni	DIRE	Riccobono Daniela	VII	Tarantino Provvidenza	VII
Cavoli Francesca	VIII	Sanzone Sabrina	VII	Turatto Rosa	VII
Duro Giovanni	III	Scatassa Valentina	VII		

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 nonché 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

- * Incremento della rete di monitoraggio pollinico siciliana inserendo nello studio una nuova stazione di monitoraggio a Siracusa, città ad altissimo tasso di inquinamento;
- * messa a punto tecniche per lo studio della vitalità pollinica, quale indice di inquinamento atmosferico;
- * saranno inoltre installate, nelle aree monitorate, delle centraline di rilevamento dei dati meteorologici.

Punti critici e azioni da svolgere

La quantità dei finanziamenti ordinari ricevuti (previsti) dalla commessa non consentirebbe alcuna attività di ricerca.

Inoltre gran parte dei finanziamenti esterni ottenuti deve essere destinato ad assegni di ricerca per poter svolgere l'attività di ricerca della commessa. Il potenziamento del personale a tempo indeterminato (e/o a contratto) consentirebbe di recuperare somme da investire nelle attività di ricerca ed incremento delle attrezzature.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Competenze nel campo della Biologia Molecolare: estrazione di DNA, RNA e proteine da cellule animali e vegetali; analisi e studi su DNA, RNA e PROTEINE utilizzando tecniche di Southern, Northern, SDS-PAGE elettroforesi e Western Blot; marcatura di DNA; preparazione di genoteche sia da DNA genomico che da cDNA (librerie di espressione); screening di librerie con DNA marcato; sequenze di DNA con la tecnica di Sanger sia in M13 che in vettori a doppio filamento; amplificazione di frammenti di DNA utilizzando la



tecnica della PCR ed RT-PCR; analisi polimorfismi; screening di libreria di espressione con anticorpi poly e monoclonali, IgE-binding; frammentazione di cloni ricombinanti e clonaggio in vettori di espressione (pMal C2, PQE, pET).

Competenze di botanica e di microscopia ottica, ricoscimento pollini e spore.

§ Purificazione di proteine: Purificazione di proteine di fusione tramite colonna di affinità; Esperimenti di immunoblotting (incubazione con sieri di soggetti allergici al polline di Paritaria IgE binding).

§ Mutazioni sito specifiche.

§ Verifica in vivo, Skin Prick Test, allergeni modificati.

§ biologia cellulare; botanica; microscopia ottica

Strumentazione

Laboratorio attrezzato per biologia molecolare e altro laboratorio attrezzato studio monitoraggio aerobiologico (microscopi, software specifici, PC).

Tecniche di indagine

Tecniche di biologia molecolare come: estrazione di DNA; amplificazione di regioni specifiche (PCR); sequenza di DNA; digestione enzimatica; analisi ed elaborazione dati.

Tecniche riconoscimento pollini: trattamento campioni con procedure standard; microscopio ottico.

Tecnologie

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 responsabile 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).

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Proporre gli studi di aerobiologia in altri ambiti: beni culturali, monitoraggio indoor in musei e palazzi storici; sviluppare il progetto associando studi ambientali quali qualità dell'aria in ambiente indoor, all'interno delle scuole;

partecipazione ad un progetto europeo ATMOS net che ha come scopo l'incremento e lo sviluppo di reti di monitoraggio aerobiologico nell'Area Mediterranea.

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

L'elaborazione dei dati (indicatori relativi alle fasi fenologiche di fioritura della vegetazione ed alla qualità del polline delle specie usate in agricoltura al fine di pronosticare la produzione di semi e frutta, (realizzare, per esempio, sulla base della concentrazione pollinica rilevata, modelli previsionali utili per operatori di aziende agricole ed agricoltori impegnati nella coltivazione dell'ulivo, per ottenere stime per annata sul raccolto delle olive e sulle quantità dei derivati, olii).

Associare qualità e quantità di polline alla clinica delle malattie allergiche, per una terapia preventiva mirata, più efficace e meno costosa.

Potenziale impiego

- per processi produttivi



- per risposte a bisogni individuali e collettivi

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 2007

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
116	21	160	34	331	18	199	21	N.D.	370

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo *</i>	
ricercatori	Totale
2	2

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	4	0	0	0	0	2	6

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
5	0	0	5

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Stress Cellulare ed Ambiente

Dati generali

Progetto:	Meccanismi di adattamento a stress e 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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	VALERIA MATRANGA

Elenco dei partecipanti

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

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

In particolare saranno continuati gli studi riguardanti gli effetti di metalli pesanti e/o nutrienti su embrioni e larve di riccio di mare e su stelle di mare sottoposte a stress traumatico. Inoltre, nell'ambito del progetto ASI dal titolo Effetti della radiazione cosmica e microgravità sulla espressione di markers di stress in un sistema modello di embrione, saranno condotti studi di esposizione a radiazione X di embrioni di riccio di mare a stadi precoci e tardivi di sviluppo. Saranno condotti esperimenti volti a valutare la up- o down regulation nella espressione di specifici geni markers di stress (hsp70 and 14.3.3) e del riparo del DNA (XPB/ERCC3) mediante RT-PCR e Northern blotting. Inoltre mediante tecniche di ibridizzazione in situ, sarà valutata l'espressione territorio-specifica di alcuni geni target (sm30, msx, univin, etc) in embrioni irradiati.

Punti critici e azioni da svolgere

Per le analisi dei livelli di espressione mediante RT-PCR si pone la problematica della assenza di un apparato in grado di quantificare mediante Real Time la rappresentazione dei trascritti di interesse. A questo si somma la necessità di un generale riammodernamento del parco strumentazione e relativi finanziamenti per contratti di manutenzione e assistenza. La carenza di personale e la discontinuità negli assegni/contratti di ricerca ottenuti mediante fondi esterni all'ente penalizza le attività in corso. Si auspica la stabilizzazione di personale precario per la cui formazione l'ente ha investito nei passati 10 anni e la cui competenza specifica ne rende indispensabile l'assunzione a tempo indeterminato. Inoltre l'implementazione della struttura necessaria all'allevamento e stabulazione degli animali d'esperimento rende necessaria la acquisizione di personale tecnico per la sua gestione e di fondi strutturali per la costosa manutenzione e/o riparazione.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Tecniche di biochimica, biologia cellulare e molecolare.



Strumentazione

Centrifuga refrigerata, microscopio a fluorescenza, termociclatore, apparecchi per elettroforesi su gel di poliacrilammide e di agarosio, apparecchi per immunoblot

Tecniche di indagine

culture di embrioni di invertebrati marini, culture cellulari, saggi di adesione, RT-PCR, immunofluorescenza diretta ed indiretta, immunoistochimica, ibridazione in situ, SDS-PAGE, western blot, cromatografia per affinità.

Tecnologie

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

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Nell'ambito del progetto interdipartimentale 'Ambiente e Salute', lanciato dai Dipartimenti di Medicina e Terra & Ambiente, è stata presentata una proposta progettuale per un triennio dal titolo 'Fattori di rischio per la salute ambientale ed umana: effetti dei metalli pesanti sul sistema ematopoietico', da sviluppare in collaborazione con altri Istituti CNR (IAMC, ISMAR), altri enti (ISS, ARPAS) ed Università (Genova, Palermo). Sono state avviate consultazioni con laboratori europei per la partecipazione alle prime 'call for proposals' del Settimo Programma quadro (7 FP) per la ricerca e lo sviluppo tecnologico lanciate della Unione Europea nei settori: FP7-HEALTH-2007-A; FP7-KBBE-2007-1; FP7-ENV-2007-1.

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) 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.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Protocolli d'uso; nuove tecnologie; brevetti;

Test biomolecolari per il rilevamento dell'inquinamento ambientale marino; Test biomolecolari per il monitoraggio degli effetti di radiazioni

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Formazione di esperti; Corsi di Alta Specializzazione per esperti dell'ambiente marino; Conoscenze interdisciplinari relative all'ambiente marino; Editoria scientifica, divulgativa, didattica

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 2007

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
201	42	19	68	330	2	63	40	N.D.	372

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
3	4

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	1	0	1

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



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

Dati generali

Progetto:	Meccanismi di adattamento a stress e biodiversità
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di tecnologie biomediche
Sede principale svolgimento:	Sede di Bari
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	CECILIA LANAVE

Elenco dei partecipanti

D'Elia Domenica	liv. III	Lanave Cecilia	liv. III	Tricarico Anita	liv. VII
-----------------	-------------	----------------	-------------	-----------------	-------------

Temì

Tematiche di ricerca

La presente commessa ha come scopo quello di mettere a punto metodologie di produzione di dati e nuovi strumenti di analisi bioinformatica per lo studio della diversità genetica.

Le linee di indagine in particolare sono:

- 1) Lo studio evolutivo di geni e famiglie geniche, passo essenziale per lo studio della biodiversità delle specie
- 2) Lo studio e la messa a punto di metodi per l'identificazione tassonomica su base molecolare nell'ambito dell'iniziativa internazionale del CBOL (Consortium for the Barcode of Life) applicata ad organismi di interesse agroalimentare.
- 3) Lo studio della diversità genomica attraverso il sequenziamento di geni e genomi di organismi di largo impatto nella sicurezza e qualità agroalimentare

Stato dell'arte

Lo studio e la tutela della biodiversità possono essere condotti a tre livelli: del gene, della specie e dell'ecosistema. 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. L'identificazione molecolare di specie diverse ha ricadute importantissime nella vita economica del paese. La sfida del mercato ha indirizzato le diverse filiere agro-alimentari (lattiero-casearia, vinicola etc.) verso l'utilizzo di sistemi innovativi in grado di garantire ed esaltare le caratteristiche qualitative e la tracciabilità dei prodotti agro-alimentari nel quadro di uno sviluppo agricolo-industriale sostenibile. Un altro aspetto importante riguarda la rintracciabilità del prodotto che sta diventando un requisito fondamentale per ottenere quel valore aggiunto necessario a vincere le nuove sfide del mercato.

Azioni

Attività da svolgere

Le attività che saranno sviluppate si avvarranno delle esperienze delle varie collaborazioni per progredire nel sequenziamento di geni, genomi mitocondriali (mt) e nucleari di vari organismi. Si procederà nello studio evolutivo delle specie basato sulla applicazione di diversi modelli statistico-matematico ai geni individuati, interessanti, per lo studio della biodiversità delle specie esistenti. L'interesse è rivolto all'utilizzo di brevi sequenze di mtDNA 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. L'identificazione, la raccolta di sequenze e il sequenziamento ex novo usando varie metodiche molecolari (pirosequenziamento e Sanger) di due o più marcatori molecolari per l'identificazione tassonomica di organismi di interesse agroalimentare (*Aspergillus*, *Fusarium*,...). La progettazione di metodologie ed algoritmi che usando i suddetti modelli di sostituzione molecolare permettano una corretta identificazione degli organismi oggetto di studio.

Punti critici e azioni da svolgere

Risultano ancora punti di difficoltà quelli di 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. Si incomincia a scambiare competenze con agronomi esperti di diversi organismi nell'ambito dei funghi ma ancora c'è la 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. Ancora non ha raggiunto soluzione la richiesta di risorse umane, già specializzate o da formare. Un'applicazione molto importante in questa attività prevede la messa a punto di protocolli sperimentali e lo sviluppo di algoritmi e softwares per la gestione ed analisi dei dati ottenuti su scala tassonomica ed evolutiva.

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Le competenze del personale afferente alla presente commessa sono così distribuite:

Evoluzione Molecolare e analisi Filogenetiche (Modelli di sostituzione nucleotidica e dei codoni, analisi di variabilità genetica inter- e intra-specie)

Statistica Bayesiana e Frequentista applicata a studi di Biologia Molecolare.

Genetica di popolazione applicata alla definizione dei concetti di specie.

Sviluppo di strumenti di analisi Bioinformatica per la gestione e l'analisi delle biosequenze (programmazione in Python e R)

Biochimica e Biologia molecolare (esperienze di analisi molecolare condotte attraverso l'uso di tecnologie sperimentali di laboratorio)

Sviluppo di banche dati biologiche (banche dati relazionali in MySQL)

Strumentazione

Risorse software

Server Ensembl con 13 banche dati genomiche.

Banche dati pubbliche e specializzate tra le quali EMBL, SWISS-PROT, TREMBL, Refseq, GO, Ensembl, UTRdb, Mitonuc.

SRS (Sequence Retrieval System),

Pacchetti e programmi d'analisi (EMBOSS, BLAST, FASTA, PHYLIP, CLUSTALW, HAMMER etc..)

Risorse hardware

Server di calcolo Cluster Beowulf composto Nr. 15 SVR Biprocessore Xeon ognuno con 2 GB di RAM e SAN da 2,7 Terabyte

n 1 COMPAQ AlphaServer DS20e TRU64 UNIX, 3 cpu 667 Mhz, 6Gb RAM, 1 Tb HD;

Risorse Hardware remote:

piattaforma GRID sviluppata nell'ambito del progetto LIBI

Le risorse strumentali di Genomica comprendono strumentazioni di base e strumentazioni avanzate nel campo della ricerca bio-molecolare quali:

citofluorimetro FACS Calibur Becton Dickinson;

microscopio a fluorescenza ZEISS;

Real Time PCR, ABI PRISM® 7900 Sequence Detection System;

lettore ELISA, Versamax Softmax Pro;

luminometro TD-20/20, Turner Designs- Promega;

ChemiDoc, Biorad;

Sequenziatore ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer

Sequenziatore ABI PRISM 310 Genetic Analyzer

Microarray Applied Biosystems 1700

Sequenziatore GS20 della 454 Life Sciences

Tecniche di indagine

Normalizzazione di cDNA da campioni biologici.

Marcaggio nucleotidico differenziato per il riconoscimento di campioni multipli in analisi di pirosequenziamento massivo mediante l'utilizzo di nuove procedure sperimentali di DNA ricombinante sviluppate ad hoc.

Sequenziamento ad alta processività di geni e genomi nucleari e mitocondriali mediante l'utilizzo anche combinato del sequenziatore con metodologia Sanger, ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer, e del pirosequenziatore ad alta processività GS20 454 Life Sciences.

Modelli di sostituzione nucleotidica o di codoni e stima dei parametri mediante l'uso di programmi di analisi quali: MrBayes, PAUP, pacchetto MOLPHY (PAML, ProtML, NJdist).

Script in R per la determinazione dei modelli ottimali e delle distribuzioni a priori da usare in MrBayes per l'analisi evolutiva delle sequenze.

Script in Python per la costruzione di pipeline di analisi per l'assegnazione del barcode individuale alle diverse specie.



Tecnologie

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; IPP-CNR Bari; ISPA-CNR Bari; IBM Innovation Center, Bari; 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>).

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Attività di Networking per la partecipazione al VII Programma Quadro e a eventuali iniziative proposte a livello locale dalla Regione Puglia.

Finalità

Obiettivi

Obiettivo principale sarà lo studio della biodiversità molecolare.

La rapida identificazione di specie permetterà una più precisa mappatura geografica della biodiversità aprendo nuove prospettive di ricerca e applicative in diversi campi quali l'ecologia (interazione specie-specie), la genetica di popolazione, la tassonomia e l'agroalimentare in termini di tracciabilità e qualità.

Produzione di dati preliminari per lo sviluppo di sistemi innovativi di monitoraggio in tempo reale della biosicurezza delle materie prime e dei prodotti finiti.

Una banca dati sarà sviluppata allo scopo di gestire ed integrare dati di natura diversa (morfologici, fenotipi, geografici e genetici) ai dati di barcodes, per una precisa identificazione delle caratteristiche di specie come per esempio la tossigenicità, il sistema ospite, etc., e a dati più specificamente correlati all'espressione genica.

Risultati attesi nell'anno

La definizione delle regioni del DNA di diversi genomi (mitocondriale, nucleare, plastidiale) più adatti per compiere identificazioni certe a livello specifico (barcodes). Definizione e applicazione degli strumenti di indagine molecolare, bioinformatici e statistici maggiormente utili per lo studio della biodiversità.

La produzione dei dati di sequenza su cui applicare le metodologie su descritte sarà ottenuta attraverso l'utilizzo di diverse piattaforme di sequenziamento. In particolare, l'uso del Sequenziatore ad alta processività, GS20 della 454 Life Science Instrument System, prevede la messa a punto di protocolli sperimentali di laboratorio e di software per l'assemblaggio e l'analisi delle sequenze prodotte.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

L'assegnazione di un corretto barcode anche costituito da una o più sequenze, che univocamente identifichino le diverse specie, consentirà la progettazione di un chip DNA-DNA che permetterà una rapida identificazione degli organismi (es. patogeni o tossigeni) da campioni di materiale di interesse commerciale e sanitario.

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Nella società civile per poter gestire in maniera intelligente ed efficiente la biodiversità sia per fini commerciali che di conservazione c'è bisogno di un accesso facile, comprensibile e completo per tutti, alle caratteristiche proprie di ogni specie per una gestione ottimale dei sistemi biologici e dell'ambiente. A tutt'oggi le informazioni disponibili sono scarse e disperse tra diverse risorse (tassonomiche, genomiche, etc.). La banca dati che sarà sviluppata nell'ambito di queste attività di ricerca risponde a questa necessità andando ad integrare dati di sequenza-Barcodes, morfologici e tassonomici.

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: Sede di Bari



Risorse commessa 2007

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
89	12	15	52	168	57	84	65	N.D.	290

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
1	2

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Bioinformatica e biologia computazionale



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

Dati generali

Progetto:	Bioinformatica e biologia computazionale
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di genetica delle popolazioni
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	MARIO PIRASTU

Elenco dei partecipanti

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

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. Anche dati correlate permettono l'integrazione di tutte queste informazioni.

Stato dell'arte

Nonostante per merito del 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

Punti critici e azioni da svolgere

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Per lo svolgimento dell'attività di ricerca sono necessarie diverse competenze, già presenti nel nostro Istituto o tra i nostri collaboratori: competenze cliniche ed epidemiologiche per una migliore definizione del fenotipo in studio; competenze informatiche, soprattutto nel settore dei database adattabili alla raccolta di dati eterogenei in appositi supporti elettronici; competenze biologico/molecolari nel settore dell'analisi del DNA e in genotipizzazione highthroughput, competenze biostatistiche per le analisi epidemiologiche, di linkage parametrico e non parametrico e di associazione per l'identificazione dei loci cromosomici e dei geni malattia; competenze nel settore della biologia cellulare necessarie per lo studio della funzione dei geni e del loro prodotto proteico.



Strumentazione

Sequenziatori automatici capillari, Thermacyclers, hardware e software, piattaforma Affymetrix Genechip per genotipizzazione highthroughput di SNPs e studi di espressione, gel bidimensionali

Tecniche di indagine

Sviluppo di nuovi tools bioinformatici per l'integrazione di dati e analisi statistiche e di dati altamente eterogenei per l'applicazione alla medicina personalizzata

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

Il progetto si svolge in collaborazione con il Parco Genetico dell'Ogliastra S.C.a.R.L.: 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. Inoltre abbiamo intrapreso numerose collaborazioni con istituti pubblici, università e imprese di seguito elencate:

Università degli Studi di Cagliari: Dipartimento di Citomorfologia, Sez. di Anatomia patologica: Prof. Gavino Faa; Clinica Oculistica: Prof. Maurizio Fossarello; Dipartimento di Neuroscienze 'B.B. Brodie', Clinica Farmacologica: Prof.ssa Maria Del Zompo; Dipartimento di Tossicologia: Prof. Gaetano Di Chiara; Policlinico Universitario di Monserrato, UO Diabetologia e Sindrome Metabolica: Prof. Marco Baroni; Sez. Medicina Interna, Andrologia e Obesità: Prof. Andrea Loviselli; Dipartimento di Matematica e Informatica: Prof. Walter Racugno

Università degli Studi di Firenze, Dipartimento Endocrinologia e Malattie del Metabolismo: Prof.ssa Maria Luisa Brandi

Università Degli Studi Milano, Istituto di Statistica Medica e Biometria: Prof. Adriano Decarli
Department. of Human Genetics, UCLA School of Medicine, California: Dr Eric Sobel, Ph.D, Associate Adjunct Professor

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Neuroscienze: Dott. Giancarlo Colombo

Axxam S.r.l.: Dott.ssa Paola Tarroni

Nurex S.r.l.: Prof. Franco Turrini

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Attività di Networking per la partecipazione al VII Programma Quadro e a eventuali iniziative proposte a livello locale dalla Regione Puglia.

Finalità

Obiettivi

Sviluppo di metodologie statistiche e computazionali per l'analisi di dati complessi con la finalità di identificare i fattori genetici ed ambientali associati a malattie multifattoriali comuni e fenotipi semplici e complessi. Tale obiettivo si otterrà attraverso l'utilizzo di una piattaforma tecnologica integrata comprendente sia i dati derivanti dallo 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 prodotti 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

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'Ogliastro. 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 2007

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
566	89	875	0	1.530	995	1.959	270	N.D.	2.795

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
6	12

*equivalente tempo pieno

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

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	7	0	7

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Modellizzazione quantitativa di sistemi biologici complessi

Dati generali

Progetto:	Bioinformatica e biologia computazionale
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto per le applicazioni del calcolo "Mauro Picone"
Sede principale svolgimento:	Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	FILIPPO CASTIGLIONE

Elenco dei partecipanti

Adamo Massimiliano	liv. III	Gonnella Ilaria	liv. VIII	Pedicini Marco	liv. III
Bernaschi Massimo	I	Natalini Roberto	I	Pontrelli Giuseppe	II
Castiglione Filippo	III	Pechini Cesare	VII		

Temi

Tematiche di ricerca

La commessa si articola in diverse attività. Queste adottano un diverso livello di descrizione (molecolare, intracellulare, cellulare) a seconda del sistema biologico che si intende studiare. La scelta di tali livelli di descrizione dipende sia dalla disponibilità di osservazioni sperimentali che da una certa convenienza nell'uso del metodo matematico scelto per rappresentare il sistema. È importante notare che esiste una naturale corrispondenza tra la conoscenza e le competenze sviluppate dai gruppi di ricercatori per le diverse attività. Per sottolineare la capacità di fare ricerca interdisciplinare è importante dire che tutte le attività dei ricercatori dell'IAC sono supportate da una collaborazione con biologi sperimentali o medici clinici e che tutte le attività iniziano la propria indagine da dati sperimentali. La commessa si articola nelle seguenti attività.

- (1) La risposta immunitaria in relazione a patologie 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 a livello mondiale. Ciò è permesso dalla congiunzione di due fattori:

- 1) la grande disponibilità di dati ottenuti mediante strumenti di misura computerizzati (ivi inclusi i metodi derivanti dalla genomica);
- 2) l'enorme capacità di calcolo dei calcolatori moderni. Questi due fattori hanno creato le condizioni ideali per un rapido sviluppo della biologia matematica o computazionale. Le ricadute pratiche che ci si aspetta da questa area di ricerca sono enormi e coinvolgono tutti quegli aspetti legati alla comprensione dei fenomeni biologici in senso lato, alla salute, alla bio-tecnologia, all'ambiente, etc.

Azioni

Attività da svolgere

Proseguimento dell'attività relativa al progetto ImmunoGrid.

Avvio di una nuova attività con il Policlinico Monteluce e attraverso questo con vari istituti della comunità europea per l'analisi di dati epidemiologici relativi alla leucemia mieloide acuta.

Avvio di una nuova attività nell'ambito del progetto ComplexDis sullo studio di modelli matematici/bioinformatici per le allergie



Punti critici e azioni da svolgere

Nell'ambito del progetto ImmunoGrid l'attività più critica è quella di fare il porting del codice C-ImmSim su macchine parallele e su architettura GRID per permettere la simulazione su scala 'naturale' del sistema immunitario. A tale attività seguirà la validazione mediante il confronto con dati sperimentali.

Nell'ambito della collaborazione con l'Ospedale L. Spallanzani si vuole mettere a punto un modello predittivo di supporto clinico nella terapia antiretrovirale per pazienti infetti da HIV.

Gli obiettivi del progetto ComplexDis sono stati delineati a grandi linee ma le specifiche dettagliate verranno discusse durante il kick-off meeting (marzo 06).

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Strumentazione

Risorse di calcolo

Tecniche di indagine

Simulazione, analisi numerica

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

Istituti a carattere matematico o biologico: Ist Nazionale Malattie Infettive 'L. Spallanzani' Roma; Policlinico Monteluce, Univ Studi di Perugia; Sezione di Ematologia, Univ Studi di Foggia; Inst for Medical Bio-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; Ist Biologia 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, Univ Roma III; DISAT, Facolta' Ingegneria, Univ dell'Aquila; School of Crystallography, Birkbeck College, Univ of London, UK; Center for Biol Sequence Analysis, Danmarks Tekniske Univ, Danimarca; Inst de la Genetique Humaine CNRS, Montpellier, Francia; Dip Patologia Sperimentale, Sez di Cancerologia, Univ Bologna; School of Land & Food Science, Univ Queensland, Brisbane, Australia; CINECA Bologna; Dip Matematica e Informatica, Univ Studi Catania

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Conseguimento di un altro grant EU: ComplexDis

Finalità

Obiettivi

In relazione alle attività sopra elencate, si intende: 1) Affinare i modelli di simulazione per l'AIDS ed i tumori. Sviluppare metodi del controllo ottimo per l'allocazione ottimale delle sessioni immunoterapeutiche. Effettuare una analisi statistico-matematica della viremia in pazienti sieropositivi sottoposti a terapia antivirale con abilità predittive del suo fallimento.

2) Perfezionare la simulazione di protein-protein interaction networks per comprendere meglio la capacità della cellula di creare strutture funzionali organizzate; analizzare modelli di reazioni autocatalitiche per studiare la trasduzione di segnali intracellulari come onda di attivazione o come semplice diffusione.

3) Sviluppare un linguaggio logico di supporto alla modellizzazione di sistemi metabolici in presenza di conoscenza incompleta che sia di aiuto a rappresentare e simulare le complesse interazioni molecolari intracellulari.

4) Sviluppare modelli per il trasporto di farmaci nel sangue e rilascio da parte di materiali microstrutturati e modelli per la cinetica di un soluto disciolto nel sangue e assorbito da organi bersaglio per valutarne l'eventuale effetto retroattivo su altri organi.

Risultati attesi nell'anno

Gli stessi dell'anno 2006.

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Il lavoro svolto all'interno di questa commessa ha un grosso potenziale applicativo 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 ai seguenti 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 complessi
Istituto esecutore: Istituto per le applicazioni del calcolo 'Mauro Picone'
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
211	16	130	32	389	59	205	18	N.D.	466

valori in migliaia di euro

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	1	0	1	0	0	0	0	0	2

Richiesta nuove unità di personale			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	4	2	6

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



Bioinformatica per la Genomica Funzionale e Comparata

Dati generali

Progetto:	Bioinformatica e biologia computazionale
Tipologia di ricerca:	Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore:	Istituto di tecnologie biomediche
Sede principale svolgimento:	Sede di Bari
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	ELISABETTA SBISA'

Elenco dei partecipanti

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

Temi

Tematiche di ricerca

Progettazione e sviluppo di banche dati per la gestione, integrazione e annotazione funzionale di dati provenienti da progetti di sequenziamento e analisi di espressione prodotti nell'ambito delle attività della stessa proposta e di altri laboratori. Sviluppo di modelli statistici e algoritmi per analisi di dati genomici e trascrittomici per lo studio dei principali processi biologici e per la comprensione dei meccanismi alla base della regolazione dell'espressione genica, con validazione sperimentale. Analisi comparativa ed evolutiva di genomi. Progettazione e sviluppo di una piattaforma web-based per l'analisi dei dati di espressione genica. Applicazioni di tecnologia GRID. 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.

Stato dell'arte

Con la proliferazione della massa dei dati biologici, conseguenza del forte sviluppo dell'Information Technology in settori quali DNA Sequencing, DNA Microarray, High throughput screenings assistiamo ad un sempre più aumento del 'gap' tra la generazione dei dati rispetto alla crescita delle conoscenze. La gestione e l'analisi dei dati biologici rappresentano, quindi, dei punti critici di sviluppo nel campo della bioinformatica e biologia computazionale. Alla luce di queste esigenze c'è una chiara esigenza di sviluppare nuovi strumenti bioinformatici per la gestione, integrazione e caratterizzazione funzionale, mediante l'applicazione di nuove tecniche e metodologie di analisi.

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 che include banche dati di interesse genomico e proteomico, progettazione e implementazione di nuovi algoritmi e software per l'analisi di genomi e di dati di espressione prodotti nell'ambito della stessa proposta e di altri laboratori.

Analisi comparativa ed evolutiva di geni e genomi.

Caratterizzazione funzionale e studi di interazione tra molecole biologiche.

Progettazione e sviluppo di una piattaforma integrata di strumenti bioinformatici per la gestione, integrazione e analisi del profilo dell'espressione genica derivante da dati di microarray.

Sviluppo della piattaforma bioinformatica per la gestione e interrogazione (Genome Browser) dei dati genomici provenienti dal sequenziamento del genoma della vite.

Individuazione di nuovi geni target, analisi dell'espressione e studio del ruolo funzionale di geni coinvolti nella regolazione del ciclo cellulare tramite approcci bioinformatici e sperimentali



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 nonché 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

Database Specialist, Software Specialist, Bioinformatici, Biologi molecolari e cellulari con competenze nell'applicazione di moderne tecnologie di analisi sperimentale e bioinformatiche.

Strumentazione

Risorse strumentali di Bioinformatica

Risorse software

Server Ensembl con 13 banche dati genomiche.

Banche dati pubbliche e specializzate tra le quali EMBL, SWISS-PROT, TREMBL, Refseq, GO, Ensembl, UTRdb, Mitonuc.

SRS (Sequence Retrieval System),

Pacchetti e programmi d'analisi (EMBOSS, BLAST, FASTA, PHYLIP, CLUSTALW, HAMMER etc..)

Risorse hardware

Server di calcolo Cluster Beowulf composto Nr. 15 SVR Biprocessore Xeon ognuno con 2 GB di RAM e SAN da 2,7 Terabyte

n 1 COMPAQ AlphaServer DS20e TRU64 UNIX, 3 cpu 667 Mhz, 6Gb RAM, 1 Tb HD;

Le risorse strumentali di Genomica comprendono strumentazioni di base e strumentazioni avanzate nel campo della ricerca bio-molecolare quali:

citofluorimetro FACS Calibur Becton Dickinson;

microscopio a fluorescenza ZEISS;

Real Time PCR, ABI PRISM® 7900 Sequence Detection System;

lettore ELISA, Versamax Softmax Pro;

luminometro TD-20/20, Turner Designs- Promega;

ChemiDoc, Biorad;

Sequenziatore ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer

Sequenziatore ABI PRISM 310 Genetic Analyzer

Microarray Applied Biosystems 1700

Tecniche di indagine

Nelle problematiche relative alla progettazione, sviluppo e gestione dei dati biologici al fine di facilitare il processo della integrazione tra le diverse banche dati si procederà alla definizione di appropriate ontologie per i dati biologici che definiscono la struttura semantica del dominio informativo. Saranno opportunamente analizzate le tecniche attualmente disponibili per la modellizzazione dei dati. Nell'ambito dello sviluppo degli algoritmi di analisi gli approcci metodologici saranno sostanzialmente diversi a seconda della natura e della tipologia del dato da trattare.

Nell'ambito della biologia molecolare e cellulare nel laboratorio della sede di Bari dell'ITB sono state messe a punto le seguenti metodologie sperimentali: one-hybrid system, EMSA, RT PCR, Western Blot, Luciferase assays, TUNEL, immunostaining, Chromatin immunoprecipitation (ChIp) analisi citofluorimetriche, trasfezioni in cellule di DNA e siRNA. Inoltre sono disponibili le linee cellulari e tutti i vettori reporter e di espressione che sono utili per la realizzazione delle tematiche di ricerca descritte.

Tecnologie



Collaborazioni (partner e committenti)

EMBL (The European Molecular Biology Laboratory) – Heidelberg – Germania
ULB (Université Libre de Bruxelles) – Bruxelles – Belgio
EBI (European Bioinformatics Institute)– Hinxton – UK
SPACI (Southern Partnership for Advanced Computational Infrastructures) - Lecce, Italia
INFN (Istituto Nazionale di Fisica Nucleare) - Bari - Italia
CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique) - Francia
SLU-LCB (Swedish University of Agricultural Sciences Linnaeus Centre for Bioinformatics) - Uppsala - Svezia
CASPUR (Consorzio interuniversitario per le applicazioni di supercalcolo per università e ricerca)- Roma - Italia
CINECA (Consorzio Interuniversitario per il Calcolo Automatico dell'Italia Nord Orientale) - Bologna - Italia
IBM Semea Sud, Java Technology Center, Bari
Dipartimento di Fisiologia e Biochimica Generali Università di Milano
CIRB Biocomputing Group, Università di Bologna
Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova
Ospedale 'Casa Sollievo della Sofferenza' – IRCCS, San Giovanni Rotondo (FG)
Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Foggia
Facoltà di Scienze Biotecnologiche, Università di Bari
Istituto di Studi sui Sistemi Intelligenti per l'Automazione, CNR-Bari

Iniziativa per l'acquisizione di ulteriori entrate

Partecipazione a progetti di ricerca Internazionali, Nazionali e Regionali .

Finalità

Obiettivi

Sviluppo di metodologie innovative per la gestione e l'analisi massiva di biosequenze che comprendono:
I) sviluppo di banche dati biologiche specializzate;
II) progettazione di una piattaforma integrata per lo sviluppo di un sistema di 'Genome Browser';
III) applicazioni di tecnologia GRID; IV) progettazione e sviluppo di una piattaforma integrata di strumenti bioinformatici per la gestione, integrazione e analisi del profilo dell'espressione genica derivante da dati di microarray; V) Sviluppo di applicazioni bioinformatiche per la ricerca automatizzata di target funzionali in studi di genomica funzionale; VI) Produzione, analisi e gestione di dati di espressione genica per la caratterizzazione funzionale, comparata ed evolutiva di geni e famiglie geniche.

Risultati attesi nell'anno

Analisi degli schemi e dei contenuti delle diverse basi di dati da integrare nel LIBI
Disegno di un modello per l'integrazione efficace delle banche dati laboratorio.
Analisi dei requisiti per la progettazione della piattaforma bioinformatica nell'ambito delle attività progettuali sul sequenziamento del genoma della vite e per la gestione, integrazione e analisi del profilo dell'espressione genica derivante da dati di microarray. Identificazione di nuovi target trascrizionali coinvolti nel ciclo cellulare tramite approcci di bioinformatica e sperimentali di macroarray

Potenziale impiego

- per processi produttivi

Con l'avvento dell'era post-genomica, la ricerca biologica va incontro a radicali mutamenti nei metodi e nelle prospettive. Le attività della presente commessa rispondono a questa sempre più emergente esigenza di coniugare competenze specialistiche nei diversi domini delle Life Sciences con una adeguata competenza nell'utilizzo degli strumenti propri della Information Technology.
Dal punto di vista tecnologico, è evidente l'attuale esigenza da parte della comunità scientifica ed industriale del settore di disporre di strumenti utili a formalizzare e gestire, anche in modo intelligente ed automatico e semi-automatico, flussi di lavoro bioinformatici complessi.

La produzione di dati biologici ottenuta grazie all'applicazione di metodologie bioinformatiche e di genomica funzionale e comparata, in particolare riguardanti lo studio dell'attività di espressione di geni di grande interesse per la regolazione del ciclo cellulare, rappresenta un importante risultato sia per l'integrazione delle metodologie sia per la disponibilità dei risultati biologici alla comunità scientifica

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Le competenze e le attività presenti nell'ambito della seguente proposta sono orientate alla gestione dei dati biologici attraverso lo sviluppo di banche dati e strumenti di analisi con particolare riferimento ai dati di Genomica e Trascrittomica. Gli strumenti di analisi e le banche dati sviluppati saranno resi disponibili alla comunità scientifica pubblica e privata mediante piattaforme 'web-based'.



Moduli

Modulo: Bioinformatica per la Genomica Funzionale e Comparata
Istituto esecutore: Istituto di tecnologie biomediche
Luogo di svolgimento attività: Sede di Bari

Modulo: Analisi di famiglie proteiche e predizione strutturale di proteine modello

Istituto esecutore: Istituto di biologia e patologia molecolari
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
230	75	137	52	494	150	362	74	N.D.	718

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
4	5

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
1	2	0	4	0	2	0	2	0	11

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
1	6	9	16

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca



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

Dati generali

Progetto:	Bioinformatica e biologia computazionale
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 Istituto
Dip. di prevista afferenza:	Scienze della Vita
Responsabile indicato:	MARIA PERSICO

Elenco dei partecipanti

Aliperti Anna Maria	liv. VII	De Luise Bruno	liv. IV	Miele Elia	liv. VI
Andone Silvia	V	Desideri Carmela	IV	Moscatiello Francesco	VII
Angelini Claudia	III	Di Giacomo Alfredo	VII	Noviello Ciro	V
Barra Adriano	VI	Di Porzio Umberto	I	Pellicano' Domenico	VIII
Beato Antonio	IV	Esposito Bruno	IV	Persico Maria	I
Bellopede Annunziata	VII	Filosa Stefania	III	Pinto Anna Maria	IV
Carfora Maria Francesca	III	Franze' Annamaria	III	Ragosta Giuseppe	VII
Ciccodicola Alfredo	II	Fusco Ciro	IV	Rallo Claudia	VI
Cossu Simone	VI	Iaccarino Maria Rosaria	IV	Rocco Rosaria	VIII
Cozzuto Luigi	VIII	Liguori Giovanna Lucia	III	Russo Alessandra	VII
De Falco Antonio	VI	Maffei Antonella	II	Sicilia Giuseppina	VIII
De Falco Vincenzo	VII	Manna Filomena	V	Torelli Raimondo	V
De Feis Italia	III	Marra Stefania	VII	Vito Rita	VI

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; nonché 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

Ampliamento del database mediante: 1. raccolta di nuovi tratti fenotipici (audiologia, ecografia di organi interni) a Campora e Gioi-Cardile; 2. genotipizzazione di 1122 microsatelliti per altri 900 campioni di DNA
Fine mapping mediante genotipizzazione di specifici SNPs e successivi studi di associazione, di almeno uno dei loci associati al BMI ed ai trigliceridi e della regione del cromosoma 8 associata all'ipertensione a Campora.

Analisi di linkage sull'ipertensione, BMI e trigliceridi a Gioi-Cardile per replicare i risultati ottenuti con la popolazione di Campora

Analisi epidemiologica e statistica di altri tratti quantitativi (sistema cardiovascolare) e di tratti qualitativi disponibili nel database

Determinazione dei livelli plasmatici di PIGF e VEGF a Campora e Gioi-Cardile per identificare eventuali associazioni con tratti fenotipici

Analisi della struttura della popolazione di Gioi-Cardile: definizione del numero di fondatori nella e analisi per definire le caratteristiche genealogiche e genetiche di questa popolazione

Sviluppo di metodologie di analisi adatte allo studio di popolazioni isolate



Punti critici e azioni da svolgere

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

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

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Richiesta di finanziamento triennale alla Regione Campania (1.800.000 euro) per il Progetto sulle popolazioni isolate del Cilento

Richiesta di finanziamento alla Comunità Europea nell'ambito dell'FP7 per il Progetto sulle popolazioni isolate del Cilento

Richiesta di finanziamento al MIUR di un Furb Italia-Canada per il Progetto sulle popolazioni isolate del Cilento

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

Pubblicazione dei dati sulla struttura della popolazione di Campora (Colonna et al. sottomessa a Human Heredity)

Pubblicazione dei dati relativi all'analisi sul BMI (Ciullo et al. in preparazione)

Pubblicazione dei dati sull'analisi dei mutanti murini dei geni cripto, nodal e cerberus (Liguori et al. in preparazione)

Fine mapping della regione del cromosoma 8 associata all'ipertensione a Campora

Potenziale impiego

- per processi produttivi

non si prevedono processi produttivi

- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Oltre all'evidente utilità di un check up medico fatta alle popolazioni 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 di Napoli



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 2007

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
393	78	646	1	1.118	76	800	183	N.D.	1.377

valori in migliaia di euro

<i>Unità di personale di ruolo*</i>	
ricercatori	Totale
3	8

*equivalente tempo pieno

<i>Unità di personale non di ruolo</i>									
associato	dottorando	borsista	assegnista	specializzando	incaricato di ricerca	professore visitatore	collaboratore professionale	altro	Totale
0	0	0	0	0	0	0	7	0	7

<i>Richiesta nuove unità di personale</i>			
tempo determinato	tempo indet	non di ruolo*	Totale
0	0	0	0

*dottorati, borse di studio, assegni di ricerca





Progetto per CDS 505
Dipartimento Scienze della Vita



Programmazione e coordinamento attivita' del Dipartimento Scienze della Vita

Dati generali

Progetto: Progetto per CDS 505 Dipartimento Scienze della Vita
Tipologia di ricerca: Progetti relativi a linee tematiche a carattere strategico
Istituto esecutore: Dipartimento Scienze della Vita
Sede principale svolgimento: Sede principale Istituto
Dip. di prevista afferenza: Scienze della Vita
Responsabile indicato: GIUSEPPE MARTINI

Elenco dei partecipanti

Angelini Barbara	liv. III	Narni Mancinelli Stefania	liv. VI	Santi Oriana	liv. VII
Martini Giuseppe	I				

Temi

Tematiche di ricerca

La commessa, compatibilmente con le risorse disponibili, fornisce supporto alla direzione di dipartimento per la programmazione e il coordinamento dei progetti di ricerca, produce il sito web del dipartimento e materiale illustrativo delle attivita' e dei prodotti, organizza convegni scientifici e manifestazioni per la valorizzazione dei risultati della ricerca e inoltre offre supporto alle stesse attivita' di ricerca per quanto riguarda relazioni internazionali, protezione della proprieta' intellettuale e trasferimento tecnologico.

Stato dell'arte

Azioni

Attività da svolgere

Punti critici e azioni da svolgere

Competenze, tecnologie e tecniche di indagine

Sono presenti competenze in relazioni internazionali e legislazione brevettuale. Sono in corso di sviluppo le competenze amministrativo-gestionali e contabili.

Strumentazione

Tecniche di indagine

Tecnologie

Collaborazioni (partner e committenti)

Iniziative per l'acquisizione di ulteriori entrate

Finalità

Obiettivi

Risultati attesi nell'anno

Attivazione del sito web in lingua inglese

Potenziale impiego

- per processi produttivi



- per risposte a bisogni individuali e collettivi

Moduli

Modulo: Unità organizzativa di base del Dipartimento Scienze della Vita
Istituto esecutore: Dipartimento Scienze della Vita
Luogo di svolgimento attività: Sede principale Istituto

Risorse commessa 2007

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
293	0	0	0	293	199	199	13	N.D.	510

valori in migliaia di euro

Unità di personale 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	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 di studio, assegni di ricerca