

- spettropolarimetri anche con accessorio per misure di cinetica rapida “stopped flow”;
- microscopi ottici e a fluorescenza; citofluorimetro facs; luminometri; phospho-imager;
- strumentazione per l’acquisizione e trattamento delle immagini;
- strumentazione per misure di cinetica rapida (stopped-flow e continuous flow);
- strumentazione per analisi potenziometriche di sistemi di trasferimento di energia;
- strumentazione per proteomica e genomica;
- real-time pcr; analizzatori di microarray;
- apparecchiature HPLC e FPLC;
- laboratori per colture cellulari di mammiferi, eucarioti inferiori e batteri;
- laboratori fermentazione e manipolazione genetica;
- incubatori per colture dai 20 ai 90 C.
- laboratorio di genotipizzazione high-throughput;
- stabulari;
- cluster di workstation a 10 processori;
- piattaforma informatica con server, calcolatori e sistemi di sicurezza per l’accesso controllato alle banche dati e per la gestione degli strumenti informatici sviluppati; laboratori/ambulatori attrezzati sul campo collegati in rete alla sede centrale.

Le partecipazioni societarie

- CONSTEM – CONSORZIO PER LA RICERCA SULLE CELLULE STAMINALI
- SHAR.DNA S.P.A. - CAGLIARI

3. GLI OBIETTIVI INDIVIDUATI DAL CNR PER ASSOLVERE AL SUO RUOLO

3.1 Macro obiettivi e finalità generali

Gli obiettivi perseguiti dal Dipartimento Scienze della Vita si possono così riassumere:

- avanzamento delle conoscenze dei meccanismi fondamentali alla base dei processi vitali e delle loro alterazioni nella malattia;
- valorizzazione dei risultati dell’attività di ricerca tramite lo sviluppo di competenze, metodologie e tecnologie di frontiera;
- potenziamento del rapporto con Università e altre Istituzioni di ricerca pubbliche e private;
- realizzazione di rapporti con il sistema delle imprese al fine di permettere il trasferimento di “know-how” sviluppato negli Istituti.

Il numero e la qualità delle pubblicazioni del 2005 (367 su riviste internazionali) e il numero di brevetti ottenuti (5 di cui 1 europeo e 1 esteso a Europa e USA), la partecipazione a numerosi progetti europei ed il notevole incremento dei fondi esterni rispetto all’anno precedente costituiscono la prova tangibile dei risultati raggiunti, dimostrano la vitalità del Dipartimento e confermano la validità delle strategie di ricerca approvate nell’ambito del Piano Triennale 2005-2007.

Da un punto di vista generale non si sono verificati scostamenti significativi nei risultati ottenuti rispetto a quelli attesi ed inseriti nel Piano Annuale 2005 e nel Piano triennale 2005-07. Non si rilevano inoltre particolari scostamenti riguardo alle entrate da terzi previste inizialmente.

3.2 Contenuti dei singoli progetti

Nel 2005 l'attività di tale macroarea è stata articolata nei seguenti Progetti:

1. Meccanismi di regolazione dell'espressione genica;
2. Processi molecolari alla base della variabilità genetica e della plasticità genomica;
3. Struttura, funzione e progettazione di proteine ed acidi nucleici. ;
4. strutture e meccanismi di funzionamento di complessi sopramolecolari biologici;
5. Meccanismi di controllo della divisione, crescita, differenziamento, morte e omeostasi cellulare;
6. Meccanismi di trasmissione e traduzione di segnali biologici;
7. Meccanismi di adattamento a condizioni estreme ed allo stress;
8. Progettazione di banche dati biologiche e programmi di analisi;
9. Metodologie per lo studio di popolazioni biologiche;
10. Organismi modello per lo studio di processi fisiologici e patologici;
11. Modelli animali per lo studio del comportamento;
12. Genomica e proteomica per lo studio e la salvaguardia della biodiversità.

4. I RISULTATI OTTENUTI

4.1 Valutazioni generali sul consuntivo e sulle prospettive

Razionalizzazione delle commesse sui progetti in corso

Il numero e la qualità delle pubblicazioni i brevetti ottenuti nel 2005, la partecipazione a numerosi progetti europei ed il notevole incremento dei fondi esterni previsti nel 2006 rispetto al 2005, così come la proposta di cinque nuove commesse, dimostrano la vitalità del Dipartimento e confermano la validità delle strategie di ricerca approvate nell'ambito del Piano Triennale 2005-2007.

Le commesse - articolate nel 2005 in 12 Progetti di cui alcuni con un numero di commesse molto limitato - peraltro possono essere ricondotte a soli 6 Progetti con notevoli vantaggi sia sul piano scientifico (minori sovrapposizioni delle tematiche affrontate in progetti affini, modalità di collaborazione più efficaci e raggiungimento di una massa critica significativa soprattutto per quei Progetti di dimensioni limitate) che su quello gestionale (semplificazione dell'organizzazione dipartimentale e riduzione dei relativi costi).

Per il 2006, pertanto, si propone un riassetto delle commesse che non comporta variazioni di tematiche e strategie rispetto a quelle del Piano Triennale 2005-2007. Dei Progetti 2006, 5 corrispondono alle 5 Aree Progettuali del documento di proposta del Dipartimento presentato nel dicembre 2004, anche se con una denominazione diversa.

Il sesto progetto: "Meccanismi di adattamento a stress e biodiversità", affronta queste tematiche dalle molte sfaccettature con uno studio a livello molecolare che utilizza strumenti e competenze propri delle Scienze della Vita, e si pone pertanto come collegamento naturale con progetti di altri Dipartimenti, quali "Terra e Ambiente" e "Agroalimentare", che guardano alla biodiversità con ottiche diverse.

Nuovi progetti dipartimentali

Si propone l'attivazione di due ulteriori progetti di ricerca, di sicuro interesse strategico:

- “Enzimi e acidi nucleici nello sviluppo di tecnologie innovative”

La post-genomica e proteomica funzionale, intese come comprensione della funzione delle proteine in relazione alla loro struttura, e come possibilità di manipolare sia geni specifici che le proteine da essi codificate, costituiscono la base per lo sviluppo di tecnologie strategiche per l'industria chimica, farmaceutica ed agroalimentare.

In questo ambito si prevede che l'enzimologia influenzerà la ricerca scientifica e tecnologica dei prossimi 15-20 anni. Lo studio dei meccanismi di azione, del rapporto tra la struttura e funzione, e della regolazione degli enzimi infatti è di importanza fondamentale non solo per la comprensione della fisiologia-patologia di cellule e organismi, ma anche per lo sviluppo di contromisure adeguate a fronteggiare le malattie (farmaci, vaccini, terapia genica). L'assoluta maggioranza dei farmaci oggi in uso clinico come antibatterici, antivirali e antitumorali, sono, in termini molecolari, inibitori di enzimi essenziali per la replicazione virale, batterica e di cellule tumorali. Il miglioramento delle nostre conoscenze sulla struttura e la funzione degli enzimi, permetterà quindi sia di ideare farmaci più efficaci, ma anche di identificare nuove attività enzimatiche implicate nei processi patologici e, quindi, suscettibili di diventare bersagli per approcci chemioterapici innovativi.

Gli enzimi trovano applicazione anche in altre aree: nella produzione di detergenti e la degradazione di sostanze inquinanti per il recupero di siti contaminati (la cosiddetta “bioremediation”), nei processi “di nicchia” quali le sintesi chemo-enzimatiche per la produzione di farmaci ed altri composti ad alto valore aggiunto, nelle nanotecnologie per la realizzazione di biosensori, ed infine nella ricerca biomedica e diagnostica analitica.

L'applicazione di tecnologie di mutagenesi sito-diretta o casuale, di “DNA shuffling” e di “evoluzione molecolare” permetteranno di aumentare la versatilità degli enzimi adattandone le proprietà alle condizioni operative del processo da sviluppare.

Le tecnologie relative agli acidi nucleici comprendono sia quelle relative al DNA (sviluppo di microarrays e sensori) che quelle relative all'RNA, queste ultime correlate alla scoperta delle proprietà catalitiche dell'RNA, alla identificazione dei micro-RNA ed al fenomeno detto di RNA-interference (identificazione ed applicazioni di aptameri-ribozimi, di oligonucleotidi anti-senso, di modulatori dello splicing, di RNA non codificanti).

Valore stimato del progetto Euro 5.000.000

- “Genomica funzionale comparata: conservazione e variazione genica nell'evoluzione e nelle patologie”

In questi ultimi anni sono state quasi completate le sequenze del genoma umano e di organismi modello quali *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Anopheles gambiae*, e *Arabidopsis thaliana*. Il prossimo e più importante obiettivo degli studi genomici è di assegnare una funzione a tutti i geni definiti mediante sequenziamento del DNA, con particolare riguardo a quelli umani. Per il conseguimento di questo obiettivo fondamentale è essenziale la comparazione di specie diverse. Infatti, alla base delle relazioni evolutive tra specie c'è la conservazione sia dei geni che delle proteine da essi codificate. L'identificazione di una funzione genica in un organismo modello pertanto può fornire informazioni preziose sulle funzioni dell'omologo umano. Utilizzando questo approccio saranno studiate le funzioni dei geni coinvolti nel ciclo cellulare, nello sviluppo e funzionamento del sistema nervoso, e in varie vie metaboliche complesse.

Gli studi suddetti permetteranno di determinare ed approfondire il ruolo biologico di geni umani responsabili di malattie genetiche, e a definire le loro interazioni con altri geni con funzione nota ed ignota.

Valore stimato del progetto Euro 4.500.000

Nuovi progetti interdipartimentali (Dipartimento guida, Dipartimenti partecipanti)

- Biodiversità

4.2 Esempi di risultati di particolare rilievo

Struttura, funzione e progettazione di proteine ed acidi nucleici

Nelle ricerche sugli acidi nucleici (IBPM), da menzionare i risultati conseguiti nello studio di :

- reazioni biosintetiche capaci di produrre composti prebiotici del DNA;
- determinanti locali dell'architettura del cromosoma batterico;
- accessibilità e mobilità dei nucleosomi e del loro ruolo nell'organizzazione del telomero;
- ruolo di fattori di trascrizione negli eventi di rimodellamento dei nucleosomi;
- ruolo delle inserzioni di elementi trasponibili nel genoma ospite in sistemi modello e del ruolo dell'acetilazione istonica nella regolazione genica.

Strutture e meccanismi di funzionamento di complessi sopramolecolari biologici

Nell'ambito delle ricerche (IBBE) sui complessi proteici coinvolti nella respirazione cellulare, con particolare riguardo allo studio di struttura, funzione, biogenesi e disfunzioni patologiche dei complessi redox e dell'ATP sintasi, è stato chiarito il meccanismo della pompa protonica della citocromo c ossidasi.

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

I risultati finora conseguiti sono estremamente positivi, come ampiamente dimostrato dalle molteplici pubblicazioni internazionali e dai brevetti depositati.

- caratterizzazione di meccanismi di espressione genica tessuto-specifica in cellule normali e trasformate;
- identificazione e caratterizzazione di proteine che interagiscono direttamente con la RNA polimerasi II (IBPM) e di nuovi co-attivatori trascrizionali in cellule di tiroide (IEOS);
- nuova isoforma di p65 del complesso NF- κ B nel sistema nervoso centrale (IEOS);
- controllo della divisione cellulare:
- analisi del coinvolgimento di p53 nell'attivazione del “checkpoint” di fase S e del “checkpoint” post-mitotico e della GTPasi Ran nel controllo del ciclo cellulare e della struttura e funzione del centrosoma (IBPM);
- caratterizzazione di numerosi geni di *Drosophila* che identificano nuove funzioni necessarie per la divisione cellulare, la maggior parte delle quali è conservata durante l'evoluzione (IBPM);
- controllo del differenziamento cellulare:
- ruolo del gene cripto nel controllo della specificazione e del differenziamento delle cellule di miocardio (IGB);
- identificazione di un nuovo meccanismo molecolare nella rigenerazione muscolare mediato dal gene PC4/IFRD1;
- controllo della proliferazione cellulare:

- regolazione dell'espressione di molecole di adesione quali l'integrina beta-1C nel carcinoma endometriale e prostatico con particolare attenzione allo studio degli eventi di degradazione proteica mediati da ubiquitinazione (IEOS);
- immunologia:
- sviluppo della tecnica del “protein-chip” e sua applicazione nella identificazione e caratterizzazione di epitopi immunodominanti (IGB);
- sviluppo di vaccini sintetici o a DNA nei confronti di agenti infettivi e antigeni tumorali (IGB) ed allergeni (IBIM) e valutazione dell'efficacia nell'indurre un'immunità a lungo termine;
- per ciò che riguarda le patologie allergiche è stato firmato un contratto di licenza con la Società Biomay per lo sfruttamento industriale dei diritti del brevetto PCT/IT/2004/000284 (IBIM);

Meccanismi di trasmissione e traduzione di segnali biologici

L'attività di ricerca è focalizzata su meccanismi alla base di patologie neurodegenerative e neuroimmunitarie. La validità degli studi intrapresi è dimostrata dai numerosi finanziamenti nazionali e internazionali, nonché dal numero e dalla qualità delle pubblicazioni.

Meccanismi di adattamento a condizioni estreme ed allo stress

I risultati delle ricerche si possono riassumere come segue in base alla tematica affrontata:

- estremofili ed altri organismi (IBP): sono stati prodotti in forma ricombinante e caratterizzati dal punto di vista biochimico numerosi enzimi (esterasi, alcool deidrogenasi, transglutaminasi, una nuova glicosilidrolasi) di batteri e Archaea termofili ed ipertermofili. Analizzando le cinetiche di riparo e trascrizione e l'interazione tra topoisomerasi e componenti della cromatina è stata studiata la risposta ad agenti mutageni in Archaea. Inoltre, sono state individuate e parzialmente caratterizzate attività lipasiche e lipossigenasiche in diatomee, potenzialmente responsabili di effetti tossici ed apoptosi nei copepodi, predatori delle diatomee. Sono stati infine identificati geni regolati da cadmio nella briofita *Lunularia cruciata*, tra cui quelli codificanti una cistationina-gamma sintasi, una DNA metiltrasferasi e una tirosina fosfatasi; nell'ambito degli studi dei processi cellulari in estremofili da ricordare l'analisi delle relazioni struttura-funzione di fattori di inizio della replicazione del DNA eseguita a partire dall'archaeon *Sulfolobus solfataricus* omologhi fino alle proteine eucariotiche Cdc6/Orc1 e MCM così come l'analisi dell'interazione fisica e funzionale della DNA girasi inversa, una DNA topoisomerasi specifica degli organismi termofili, con la “single-strand DNA-binding protein” di *Sulfolobus solfataricus*.

Metodologie per lo studio di popolazioni biologiche

Le ricerche, dallo spiccato carattere multidisciplinare, condotte all'interno dei Parchi Genetici dell'Ogliastro e del Cilento (e più recentemente anche nella comunità montana della valle Ufita) si sono rivelate degli ottimi modelli per l'identificazione rapida ed economicamente efficiente di loci associati a patologie complesse e a Tratti Quantitativi (QTL) considerati fattori di rischio per malattie multifattoriali comuni. I paesi sono stati selezionati dopo averne determinato la struttura genetica attraverso lo studio del DNA mitocondriale e del cromosoma Y per identificare il numero di fondatori ancestrali e le linee materne e paterne presenti nel paese. Sono state ricostruite tutte le genealogie in ciascun paese per gli ultimi 400 anni attraverso i dati degli archivi vescovili e municipali e sono state condotte indagini epidemiologiche per l'identificazione delle patologie multifattoriali prevalenti nelle aree oggetto di studio.

In particolare sono stati messi a punto tutti gli aspetti salienti delle metodologie multidisciplinari scelte in precedenza per lo studio di popolazioni ideali per l'identificazione di fattori genetici ed ambientali predisponenti a malattie multifattoriali comuni nell'uomo: è stata creata una biobanca, una piattaforma informatica per l'incrocio di tutte le informazioni raccolte, un software per la ricostruzione automatica di genealogie e l'identificazione di antenati comuni a tutti gli affetti da una determinata patologia individuati in ciascun paese. I dati epidemiologici sono stati raccolti in 5 paesi, con visite generali e raccolta di dati anamnestici, dati antropometrici e sullo stile di vita, visite specialistiche per osteoporosi, nefrolitiasi, ipertensione e obesità. E' stato genotipizzato un intero paese con 1500 marcatori polimorfici, identificato numerosi loci associati a varie patologie e un gene associato alla nefrolitiasi. I loci sono stati poi "mappati" finemente utilizzando campioni provenienti anche da altri paesi. Il sistema è quindi perfettamente calibrato, deve solo essere ampliato il numero di paesi analizzati (IGP).

Fondamentale per tali studi è stata la creazione di banche dati specializzate contenenti dati di tipo genealogico, genetico, molecolare, fenotipico e ambientale provenienti dai diversi paesi. Per la genotipizzazione sono finora stati utilizzati più di 1000 marcatori multiallelici su campioni raccolti a Talana in Ogliastra e a Campora nel Cilento. Sono stati creati diversi strumenti informatici, accessibili tramite una interfaccia comune, per l'estrazione di tali dati secondo criteri determinati che permettono di sottoporli ad analisi statistica. Tale interfaccia comune ha permesso di aumentare il potere statistico mediante l'integrazione delle informazioni genealogiche, genetiche e fenotipiche raccolte su individui collegati da estesi alberi genealogici multigenerazionali. Tramite analisi di "linkage" non parametrica sono stati identificati dall'IGP un nuovo gene e la sua variante associata alla nefrolitiasi e numerose regioni genomiche (loci) associate a malattie multifattoriali comuni e a QTL. A questa possibilità di studio di tratti complessi che usa il modello di popolazioni isolate si affianca anche la possibilità di generare popolazioni di topi a genotipo "controllato" per poter studiare l'effetto di una o più mutazioni definite.

Studi sull'eredità "mendeliana" o "multifattoriale" nell'uomo e nel topo hanno utilizzato un approccio multidisciplinare per analizzare la variabilità fenotipica (sia morfologica che di livelli di espressione di altri geni connessi nel network) accoppiata a mutazioni di geni specifici in diversi "background genetici" di topo. E' stato così possibile identificare, analizzare e costruire modelli di networks (grafi) di geni coinvolti nello sviluppo embrionale precoce, nel sistema cardiovascolare e nel funzionamento di aree specifiche del sistema nervoso centrale (CNS), nello sviluppo e propagazione tumorale. Inoltre sono stati descritti i fenotipi di modelli murini mediante analisi di preparati "whole-mount" e ibridazione in vitro di marcatori molecolari del mesoderma e neuroectoderma ed i fenotipi del sistema cardiovascolare in diversi corredi genetici (IGB).

L'analisi del database del comune di Campora (comprendente l'albero genealogico della popolazione, la genotipizzazione e il phenome) ha permesso di definire la struttura genetica dell'isolato e di identificare una regione IBD (identical by descendent) coinvolta nel fenotipo ipertensione. L'analisi del 'phenome' degli abitanti di Campora ha permesso anche di individuare fenotipi di interesse clinico quali malattie neurodegenerative, sindromi dismetaboliche, cancro e malattie del sistema cardiovascolare. E' stata avviata infine la costruzione dei database dei comuni di Gioi e Cardile rispettivamente con 700 e 358 campioni di sangue (IGB).

Per la definizione di reti "networks" molecolari regolanti tratti ad eredità mendeliana e multifattoriale è stato utilizzato un approccio multidisciplinare. Mediante l'analisi delle linee murine create ad hoc sono stati descritti i networks molecolari riguardanti i geni cripto e Plgf ed il rapporto di tali geni con gli altri interattori rispettivamente durante la gastrulazione e per la collateralizzazione dell'arto ischemico. In particolare, sono stati stabiliti i rapporti di Plgf con i geni eNOS, VEGF-A, Flt-1 e KDR e di Cripto con i geni cerberus, nodal, lefty-1, lefty 2 e i geni espressi durante la gastrulazione (IGB).

Organismi modello per lo studio di processi fisiologici e patologici

Le tecnologie basate sui modelli animali e sugli organismi transgenici hanno permesso di ottenere risultati di notevole rilevanza nello studio di fenomeni fisiologici e patologici fra loro diversi:

- tramite l'uso di mutanti condizionali di topo è stato chiarito il ruolo di alcune molecole chiave nell'organizzazione del sistema dopaminergico. Inoltre in *C. elegans* è stato identificato un nuovo componente della trasduzione del segnale mediato da proteine G-eterotrimeriche (IGB);
- modelli che consentano nuovi approcci alla terapia antitumorale (ITB): nuovi approcci basati su liposomi innovativi e ruolo di alcune molecole coinvolte nella stabilità genomica, meccanismo fondamentale per prevenire la trasformazione neoplastica.

4.3 Dati quantitativi sui prodotti della ricerca

anno	Articolo su rivista	Capitolo di libro	Libro	Brevetto	Risultato di valorizzazione applicativa	Progetto, composizione, disegno e design	Performance, mostra ed esposizione	Manufatto ed opera d'arte
2003	261	13	2	5	1	1	0	0
2004	293	8	0	4	0	0	1	0
2005	237	15	0	3	0	0	0	4

4.4 Le “reti di relazioni” costruite***4.5 Risultati sulle valenze orizzontali******Collaborazioni con imprese***

Nel settore farmaceutico, citiamo una collaborazione stabilita dall'Istituto di Biochimica delle Proteine (IBP) con l'azienda farmaceutica Dobfar Spa, per innovazioni e ottimizzazioni della produzione di antibiotici con nuovi enzimi. Per questa è stato attivato un laboratorio Dobfar presso l'IBP. A dimostrazione dell'interdisciplinarietà delle ricerche degli Istituti CNR, il medesimo Istituto ha utilizzato le sue ricerche, collaborando con industrie, con la Stazione sperimentale pelli, con il Parco della Sicilia, per il recupero e la riutilizzazione di materiali di scarto.

Altre forme di collaborazione

L'Istituto di Biochimica delle Proteine partecipa al Centro Regionale di Competenza in Biotecnologie Industriali (BioTekNet) che ha l'obiettivo di mettere a disposizione del mondo della produzione il rilevante patrimonio di competenze biotecnologiche esistente in Campania.

L'Istituto di Genetica delle Popolazioni partecipa della società SHAR.DNA collaborando per la realizzazione di un nuovo modello di studio per l'identificazione di geni associati a malattie comuni nell'uomo. Un grande ed ambizioso progetto che è stato finanziato dal MIUR.

L'intera attività svolta ha permesso di potenziare e valorizzare le ricerche condotte dall'IGP e di essere quindi più competitivi a livello internazionale.

5. I RISULTATI SPECIFICI DEI PROGETTI***PROGETTO 1 - MECCANISMI DI REGOLAZIONE DELL'ESPRESSIONE GENICA.***

I gruppi di ricerca del CNR che hanno partecipato al progetto appartengono agli Istituti di Biomembrane e Bioenergetica (IBBE), Biologia e Patologia Molecolari (IBPM), Endocrinologia ed Oncologia Sperimentale “Gaetano Salvatore” (IEOS) e Genetica Molecolare (IGM).

Le ricerche dell'IBPM e dell'IGM si sono indirizzate allo studio della regolazione dell'espressione genica a livello trascrizionale e post-trascrizionale nei processi di differenziamento e sviluppo, utilizzando sistemi modello animali e vegetali, ed all'analisi delle possibili ricadute sulla salute umana. I risultati più rilevanti riguardano la funzione di diverse famiglie di fattori di trascrizione (b-HLH, HD-Zip, Zn-finger) e i meccanismi di regolazione del processamento dell'RNA.

L'IEOS ha sviluppato ricerche sia sui meccanismi di regolazione cellulari e molecolari coinvolti nella crescita, differenziamento e trasformazione neoplastica che sui meccanismi cellulari e molecolari che regolano l'espressione di geni specifici necessari per la differenziazione e la crescita di cellule tiroidee.

Le ricerche dell'IBBE hanno riguardato l'atrofia del muscolo scheletrico nell'invecchiamento ed in particolare le mutazioni puntiformi del DNA mitocondriale in questo processo.

Da un punto di vista applicativo da segnalare due brevetti.

<i>Risorse utilizzate (full cost)</i>							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	2.298	2.614	812	782	3.110	3.396	4.086

valori in migliaia di euro

PROGETTO 2 - PROCESSI MOLECOLARI ALLA BASE DELLA VARIABILITÀ GENETICA E DELLA PLASTICITÀ GENOMICA.

Le ricerche hanno affrontato aspetti relativi al mantenimento dell'integrità genomica, all'evoluzione dei genomi, al ruolo dei meccanismi genetici ed epigenetici nel controllo dell'identità e delle funzioni cellulari, alla variabilità genetica ed alle sue implicazioni evoluzionistiche e patologiche.

Gli studi intrapresi negli Istituti coinvolti (IGB e IBPM) - dalla comprovata esperienza nello studio di alterazioni genetiche e nell'applicazione di metodologie bioinformatiche e biotecnologiche innovative, nonché nella raccolta, conservazione e catalogazione di banche di campioni biologici - hanno chiarito alcuni aspetti molecolari specifici della variabilità a livello di singoli geni e dell'intero genoma ed anche il loro impatto sulle funzioni cellulari.

<i>Risorse utilizzate (full cost)</i>							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	899	1.022	318	306	1.216	1.328	1.598

valori in migliaia di euro

PROGETTO 3 - STRUTTURA, FUNZIONE E PROGETTAZIONE DI PROTEINE ED ACIDI NUCLEICI.

Nelle ricerche sugli acidi nucleici (IBPM), da menzionare i risultati conseguiti nello studio di :

- reazioni biosintetiche capaci di produrre composti prebiotici del DNA;
- determinanti locali dell'architettura del cromosoma batterico;
- accessibilità e mobilità dei nucleosomi e del loro ruolo nell'organizzazione del telomero;
- ruolo di fattori di trascrizione negli eventi di rimodellamento dei nucleosomi;
- ruolo delle inserzioni di elementi trasponibili nel genoma ospite in sistemi modello e del ruolo dell'acetilazione istonica nella regolazione genica.

Negli studi sui piccoli RNA nucleolari, di importanza la caratterizzazione dell'endonucleasi XendoU, coinvolta nella biosintesi, e la progettazione di nuovi RNA in grado di modulare l'espressione genica in maniera sequenza-specifica.

Nel campo vastissimo degli studi sulle proteine, sono da segnalare i risultati su:

- struttura, funzione, dinamica e riconoscimento in proteine coinvolte in processi fondamentali come:
 - trasduzione di segnali mediati dal Ca^{2+} (sorcina),
 - protezione dal danno ossidativo (tirosinasi, Dps);
 - metabolismo dell'ossigeno (flavoemoglobina ed emoglobine troncate batteriche), o di interesse biomedico-biotecnologico.
- la definizione nei citocromi dei meccanismi del processo di “folding”, che porta le proteine ad assumere spontaneamente la struttura nativa, è da segnalare non solo per la valenza conoscitiva, ma anche per il numero crescente di patologie associate a “misfolding”, cioè a processi errati di “folding” (IBPM);
- enzimi: sono stati caratterizzati i meccanismi di reazione di alcune glucosidasi e galattosidasi. E' stata identificata e caratterizzata una proteina legante glucosio (glucose-binding protein) termostabile da utilizzarsi come biosensore, è stato sviluppato un protocollo per la sintesi chemo-enzimatica di oligosaccaridi utilizzando mutanti di glicosidasi termostabili e sono stati individuati nuovi enzimi per l'ottimizzazione della produzione di antibiotici e per la biotrasformazione di materiali di scarto (residui di macellazione e del trattamento della frutta) e per la riduzione dei reflui tossici nei processi di concia delle pelli. La biodiversità ha dato un contributo fondamentale a questi studi in quanto ha consentito di individuare enzimi stabili ed attivi ad alta temperatura in microrganismi termofili ed altri attivi alle basse temperature in organismi psicrofili (IBP);

Nelle ricerche sulle ossidasi eme-rame, dal ruolo chiave nella bioenergetica cellulare, è stato definito, accoppiando misure polarografiche e di cinetica rapida, il meccanismo di inibizione da monossido di azoto (NO), molecola coinvolta nella regolazione di processi fisiopatologici, quali vasodilatazione, neurotrasmissione, risposta immunitaria. È stata anche individuata nelle proteine batteriche della famiglia Dps (DNA-binding proteins during starvation) un'attività ferrossidasica che contribuisce alla virulenza microbica (IBPM);

- trasportatori “carriers” della membrana mitocondriale: sono proteine integrali di membrana; trasportano metaboliti che sono indispensabili per la produzione di energia nelle cellule eucariotiche in quanto substrati o prodotti del metabolismo energetico mitocondriale. Presso l'IBBE è stata identificata e caratterizzata in termini di relazioni struttura-funzione, utilizzando modellizzazione molecolare, analisi mutagenica, e proprietà spettroscopiche e cristallografiche, la maggior parte di trasportatori mitocondriali noti, estratti da mammiferi e da *Saccharomyces cerevisiae*. Di notevole importanza lo sviluppo di sistemi di espressione eterologhi per proteine transmembrana di trasporto.

Risorse utilizzate (full cost)							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	4.841	5.507	1.712	1.648	6.553	7.155	8.608

valori in migliaia di euro

PROGETTO 4 - STRUTTURE E MECCANISMI DI FUNZIONAMENTO DI COMPLESSI SOPRAMOLECOLARI BIOLOGICI.

Riguardo agli aspetti chimico-fisici di strutture sopramolecolari biologiche, all'ISMAC-GE sono stati sviluppati metodi atti a correlare la struttura e la dinamica di proteine alla funzione biologica, metodi già applicati con successo allo studio dell'interazione proteine-DNA ed al caso delle metalloproteine. In particolare è stato sviluppato un modello elettrostatico dell'interazione DNA-linker code istoniche che sta dando indicazioni sulla struttura della cromatina in condizioni fisiologiche. Si è concluso il programma di analisi dei siti di ricognizione dei fattori di trascrizione ed il programma di analisi dei testi necessario per procedere alle fasi di integrazione bioinformatica di banche dati. Nell'ambito dello studio delle malattie conformazionali si è dimostrato che: un frammento di prione mostra attività proapoptotica mediata dalla conformazione; la composizione in peptidi beta-amiloidei e la cinetica di aggregazione differiscono nell'invecchiamento normale e nella malattia dell'Alzheimer. È stato poi modellato il folding del citocromo c, usando il metodo della massima entropia ed è stato realizzato il modello atomistico delle proprietà dinamiche dell'acido ialuronico.

Nell'ambito delle ricerche (IBBE) sui complessi proteici coinvolti nella respirazione cellulare, con particolare riguardo allo studio di struttura, funzione, biogenesi e disfunzioni patologiche dei complessi redox e dell'ATP sintasi, è stato chiarito il meccanismo della pompa protonica della citocromo c ossidasi; caratterizzato l'operone dell'ATP sintasi dell'*attinomicete* di interesse industriale *Nonomuraea* ATCC39727; studiate le interazioni citocromo c ossidasi - porina coinvolte nella morte cellulare ed il ruolo di secondi messaggeri lipidici con i processi mitocondriali dell'apoptosi così come il ruolo del cAMP nel controllo del metabolismo dell'O₂. Da notare anche i risultati conseguiti nell'analisi genetica e biochimica di patologie ereditarie della catena respiratoria e quelli sullo splicing alternativo e sui meccanismi di sorveglianza per geni strutturali di enzimi respiratori. Un ultimo aspetto indagato riguarda il ruolo dei ROS e della cardiolipina nel danno mitocondriale cardiaco.

Risorse utilizzate (full cost)							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F +risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	1.356	1.542	479	462	1.835	2.004	2.411

valori in migliaia di euro

PROGETTO 5 - MECCANISMI DI CONTROLLO DELLA DIVISIONE, CRESCITA, DIFFERENZIAMENTO, MORTE E OMEOSTASI CELLULARE.

I risultati finora conseguiti sono estremamente positivi, come ampiamente dimostrato dalle molteplici pubblicazioni internazionali e dai brevetti depositati. La loro presentazione non vuole rappresentare solo un mero elenco, ma dimostrare l'integrazione delle diverse competenze e dei differenti approcci che hanno permesso di affrontare e chiarire la molteplicità dei meccanismi fondamentali che controllano i processi cellulari.

I principali risultati sono suddivisi in base dei meccanismi e processi oggetto di indagine:

- caratterizzazione di meccanismi di espressione genica tessuto-specifica in cellule normali e trasformate:
 - identificazione e caratterizzazione di proteine che interagiscono direttamente con la RNA polimerasi II (IBPM) e di nuovi co-attivatori trascrizionali in cellule di tiroide (IEOS);
 - nuova isoforma di p65 del complesso NF-κB nel sistema nervoso centrale (IEOS);

- controllo della divisione cellulare:
 - analisi del coinvolgimento di p53 nell'attivazione del “checkpoint” di fase S e del “checkpoint” post-mitotico e della GTPasi Ran nel controllo del ciclo cellulare e della struttura e funzione del centrosoma (IBPM);
 - caratterizzazione di numerosi geni di *Drosophila* che identificano nuove funzioni necessarie per la divisione cellulare, la maggior parte delle quali è conservata durante l'evoluzione (IBPM);
- controllo del differenziamento cellulare:
 - ruolo del gene cripto nel controllo della specificazione e del differenziamento delle cellule di miocardio (IGB);
 - coinvolgimento dei geni regolatori PIHbox1 e PI0tp e di fattori che controllano la localizzazione dei messaggeri in fasi diverse dello sviluppo embrionale del riccio di mare (IBIM);
 - coinvolgimento di un fattore di trascrizione del tipo zinc finger (BERF-1/ZBP-89) nel differenziamento miogenico (IBPM);
 - identificazione di un nuovo meccanismo molecolare nella rigenerazione muscolare mediato dal gene PC4/IFRD1;
 - controllo trascrizionale di alcuni geni muscolo-specifici;
 - ruolo di G6PD nel differenziamento eritropoietico e nella protezione dall'apoptosi indotta da stress ossidativi (IGB);
- controllo della proliferazione cellulare:
 - identificazione di nuovi geni umani e murini coinvolti (IBPM) e generazione di modelli animali e cellulari per lo studio di molecole che regolano negativamente la proliferazione stessa (IBC);
 - interazioni tra estrogeni, fattori di crescita e molecole coinvolte nei processi infiammatori e riparativi in neoplasie umane della prostata, della mammella e della tiroide (IBPM, IEOS);
 - regolazione specifica di diverse isoforme della catenina p120 nei tumori della mammella (IBC);
 - identificazione di inibitori dell'attività tirosina chinasi dell'oncogene RET (IEOS);
 - regolazione dell'espressione di molecole di adesione quali l'integrina beta-1C nel carcinoma endometriale e prostatico con particolare attenzione allo studio degli eventi di degradazione proteica mediati da ubiquitinazione (IEOS);
 - ruolo non canonico delle telomerasi nell'insorgenza del glioblastoma (INMM);
- meccanismi di regolazione dei segnali apoptotici:
 - identificazione di meccanismi di regolazione dei segnali apoptotici (IBC) e studio del ruolo svolto dal citocromo c e dai sistemi antiossidante e proteolitico nella morte cellulare per apoptosi (IBBE);
 - analisi dei meccanismi molecolari alla base dell'attività antiproliferativa dell'interferone beta in tumori solidi (IBPM);
 - ruolo di MDM4 e MDM2 nella risposta apoptotica mediata da p53 (INMM);

– immunologia:

- sviluppo della tecnica del “protein-chip” e sua applicazione nella identificazione e caratterizzazione di epitopi immunodominanti (IGB);
- sviluppo di vaccini sintetici o a DNA nei confronti di agenti infettivi e antigeni tumorali (IGB) ed allergeni (IBIM) e valutazione dell'efficacia nell'indurre un'immunità a lungo termine;
- per ciò che riguarda le patologie allergiche è stato firmato un contratto di licenza con la Società Biomay per lo sfruttamento industriale dei diritti del brevetto PCT/IT/2004/000284 (IBIM);

– tecnologie innovative:

- utilizzo di librerie peptidiche per l'identificazione di inibitori dell'interazione ligando/recettore;
- screening con questa ottica di diverse librerie peptidiche (IGB).

<i>Risorse utilizzate (full cost)</i>							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	8.792	10.001	3.109	2.993	11.901	12.994	15.633

valori in migliaia di euro

PROGETTO 6 - MECCANISMI DI TRASMISSIONE E TRADUZIONE DI SEGNALI BIOLOGICI.

L'attività di ricerca è focalizzata su meccanismi alla base di patologie neurodegenerative e neuroimmunitarie. La validità degli studi intrapresi è dimostrata dai numerosi finanziamenti nazionali e internazionali, nonché dal numero e dalla qualità delle pubblicazioni.

Per quanto concerne i meccanismi di trasduzione mediata dai recettori tirosinochinasici e da “small proteins” è stato definito il coinvolgimento di Shp-1 e Shp-2 nella differenziazione indotta da neurotrofine. E' proseguita anche la caratterizzazione biochimica dell'attivazione di Erk8 dopo stimoli provenienti da recettori TK ed infine sono stati preparati i vettori d'espressione di Shp1 ed Erk8 ed è in corso la loro caratterizzazione (IEOS).

Nello studio del ruolo biologico del Nerve Growth Factor (NGF) nel sistema nervoso, endocrino ed immunitario, utilizzando modelli cellulari ed animali di patologie neurodegenerative e neuroimmunitarie, è stato dimostrato il ruolo chiave delle neurotrofine in diverse condizioni fisiologiche e patologiche (INMM).

<i>Risorse utilizzate (full cost)</i>							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	2.051	2.334	725	698	2.777	3.032	3.647

valori in migliaia di euro

PROGETTO 7 - MECCANISMI DI ADATTAMENTO A CONDIZIONI ESTREME ED ALLO STRESS.

I risultati delle ricerche si possono riassumere come segue in base alla tematica affrontata:

– estremofili ed altri organismi (IBP):

sono stati prodotti in forma ricombinante e caratterizzati dal punto di vista biochimico numerosi enzimi (esterasi, alcool deidrogenasi, transglutaminasi, una nuova glicosilidrolasi) di batteri e Archaea termofili ed ipertermofili. Analizzando le cinetiche di riparo e trascrizione e l'interazione tra topoisomerasi e componenti della cromatina è stata studiata la risposta ad agenti mutageni in Archaea. Inoltre, sono state individuate e parzialmente caratterizzate

attività lipasiche e lipossigenasiche in diatomee, potenzialmente responsabili di effetti tossici ed apoptosi nei copepodi, predatori delle diatomee. Sono stati infine identificati geni regolati da cadmio nella briofita *Lunularia cruciata*, tra cui quelli codificanti una cistationina-gamma sintasi, una DNA metiltrasferasi e una tirosina fosfatasi; nell'ambito degli studi dei processi cellulari in estremofili da ricordare l'analisi delle relazioni struttura-funzione di fattori di inizio della replicazione del DNA eseguita a partire dall'archaeon *Sulfolobus solfataricus* omologhi fino alle proteine eucariotiche Cdc6/Orc1 e MCM così come l'analisi dell'interazione fisica e funzionale della DNA girasi inversa, una DNA topoisomerasi specifica degli organismi termofili, con la "single-strand DNA-binding protein" di *Sulfolobus solfataricus*;

– risposta a stress esogeni (IBIM):

sono in corso di definizione sia le dosi limite degli stress chimici e fisici da indurre sperimentalmente che la sensibilità dei metodi di rilevamento dell'espressione di proteine e i geni da analizzare in cellule e/o embrioni di riccio di mare.

Risorse utilizzate (full cost)							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	1.329	1.511	470	452	1.798	1.963	2.362

valori in migliaia di euro

PROGETTO 8 – PROGETTAZIONE DI BANCHE DATI BIOLOGICHE E PROGRAMMI DI ANALISI.

Le attività di ricerca ITB sono state condotte integrando le diverse competenze di Bioinformatica, Genomica ed Evoluzione Molecolare. In particolare, nell'analisi di espressione su microarray di geni umani transattivati dalla famiglia genica dell'oncosoppressore p53 sono stati identificati alcuni bersagli trascrizionali di omologhi di p53 in *C. elegans*. I risultati ottenuti sono stati corroborati dallo sviluppo di nuovi strumenti bioinformatici per la ricerca dei bersagli di p53 e per l'analisi dell'espressione. Sono state inoltre sviluppate procedure per l'aggiornamento e l'annotazione funzionale delle banche dati UTRbd e MitoRes e due algoritmi di analisi: CSTminer, che identifica sequenze conservate codificanti e non, mediante l'analisi comparata tra due genomi, e un metodo statistico per l'analisi dei dati di espressione da microarray. È stata anche condotta l'analisi di 78 famiglie di geni OXPHOS per lo studio della variabilità delle duplicazioni geniche in diversi Metazoi ed è stata fatta l'analisi evolutiva delle famiglie geniche della subunità c della ATP sintasi e del citocromo c.

La ricerca bioinformatica rivolta a comprendere le relazioni evoluzionistiche tra proteine e ad individuare le relazioni tra sequenza, struttura e funzione nelle molecole proteiche (IBPM) si è avvalsa della predizione di strutture proteiche mediante il metodo per omologia. Questo approccio, basato sulla comprensione delle relazioni tra identità in sequenza e similarità in struttura tra proteine correlate da un punto di vista evoluzionistico (omologhe), ha permesso di interpretare su base strutturale dati funzionali riguardanti diverse proteine (come proteine coinvolte nell'angiogenesi e nel tumore della mammella), di suggerire indagini sperimentali mirate a comprendere il ruolo biologico di proteine a funzione ignota, e di progettare proteine con proprietà funzionali modificate per applicazioni sia biotecnologiche che terapeutiche (ad esempio, anticorpi umanizzati).

Risorse utilizzate (full cost)							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	80	90	28	27	108	118	141

valori in migliaia di euro

PROGETTO 9 - METODOLOGIE PER LO STUDIO DI POPOLAZIONI BIOLOGICHE.

Le ricerche, dallo spiccato carattere multidisciplinare, condotte all'interno dei Parchi Genetici dell'Ogliastro (IGP) e del Cilento (e più recentemente anche nella comunità montana della valle Ufita) si sono rivelate degli ottimi modelli per l'identificazione rapida ed economicamente efficiente di loci associati a patologie complesse e a Tratti Quantitativi (QTL) considerati fattori di rischio per malattie multifattoriali comuni. I paesi sono stati selezionati dopo averne determinato la struttura genetica attraverso lo studio del DNA mitocondriale e del cromosoma Y per identificare il numero di fondatori ancestrali e le linee materne e paterne presenti nel paese. Sono state ricostruite tutte le genealogie in ciascun paese per gli ultimi 400 anni attraverso i dati degli archivi vescovili e municipali e sono state condotte indagini epidemiologiche per l'identificazione delle patologie multifattoriali prevalenti nelle aree oggetto di studio.

In particolare sono state messi a punto tutti gli aspetti salienti delle metodologie multidisciplinari scelte in precedenza per lo studio di popolazioni ideali per l'identificazione di fattori genetici ed ambientali predisponenti a malattie multifattoriali comuni nell'uomo: è stata creata una biobanca, una piattaforma informatica per l'incrocio di tutte le informazioni raccolte, un software per la ricostruzione automatica di genealogie e l'identificazione di antenati comuni a tutti gli affetti da una determinata patologia individuati in ciascun paese. I dati epidemiologici sono stati raccolti in 5 paesi, con visite generali e raccolta di dati anamnestici, dati antropometrici e sullo stile di vita, visite specialistiche per osteoporosi, nefrolitiasi, ipertensione e obesità. È stato genotipizzato un intero paese con 1500 marcatori polimorfici, identificato numerosi loci associati a varie patologie ed un gene associato alla nefrolitiasi. I loci sono stati poi "mappati" finemente utilizzando campioni provenienti anche da altri paesi. Il sistema è quindi perfettamente calibrato, deve solo essere ampliato il numero di paesi analizzati (IGP).

Fondamentale per tali studi è stata la creazione di banche dati specializzate contenenti dati di tipo genealogico, genetico, molecolare, fenotipico e ambientale provenienti dai diversi paesi. Per la genotipizzazione sono finora stati utilizzati più di 1000 marcatori multiallelici su campioni raccolti a Talana in Ogliastro e a Campora nel Cilento. Sono stati creati diversi strumenti informatici, accessibili tramite una interfaccia comune, per l'estrazione di tali dati secondo criteri determinati che permettono di sottoporli ad analisi statistica. Tale interfaccia comune ha permesso di aumentare il potere statistico mediante l'integrazione delle informazioni genealogiche, genetiche e fenotipiche raccolte su individui collegati da estesi alberi genealogici multigenerazionali. Tramite analisi di "linkage" non parametrica sono stati identificati dall'IGP un nuovo gene e la sua variante associata alla nefrolitiasi e numerose regioni genomiche (loci) associate a malattie multifattoriali comuni e a QTL. A questa possibilità di studio di tratti complessi che usa il modello di popolazioni isolate si affianca anche la possibilità di generare popolazioni di topi a genotipo "controllato" per poter studiare l'effetto di una o più mutazioni definite.

Studi sull'eredità "mendeliana" o "multifattoriale" nell'uomo e nel topo hanno utilizzato un approccio multidisciplinare per analizzare la variabilità fenotipica (sia morfologica che di livelli di espressione di altri geni connessi nel network) accoppiata a mutazioni di geni specifici in diversi "background genetici" di topo. È stato così possibile identificare, analizzare e costruire modelli di networks (grafi) di geni coinvolti nello sviluppo embrionale precoce, nel sistema cardiovascolare e nel funzionamento di aree specifiche del sistema nervoso centrale (CNS), nello sviluppo e propagazione tumorale. Inoltre sono stati descritti i fenotipi di modelli murini mediante analisi di preparati "whole-mount" e ibridazione in vitro di marcatori molecolari del mesoderma e neuroectoderma ed i fenotipi del sistema cardiovascolare in diversi corredi genetici (IGB).

L'analisi del database del comune di Campora (comprendente l'albero genealogico della popolazione, la genotipizzazione e il phenome) ha permesso di definire la struttura genetica dell'isolato e di identificare una regione IBD (identical by descendent) coinvolta nel fenotipo ipertensione. L'analisi del "phenome" degli abitanti di Campora ha permesso anche di individuare fenotipi di interesse clinico quali malattie neurodegenerative, sindromi dismetaboliche, cancro e malattie del sistema cardiovascolare. È stata avviata infine la costruzione dei database dei comuni di Gioi e Cardile rispettivamente con 700 e 358 campioni di sangue (IGB).

Per la definizione di reti “networks” molecolari regolanti tratti ad eredità mendeliana e multifattoriale è stato utilizzato un approccio multidisciplinare. Mediante l’analisi delle linee murine create ad hoc sono stati descritti i networks molecolari riguardanti i geni cripto e Plgf ed il rapporto di tali geni con gli altri interattori rispettivamente durante la gastrulazione e per la collateralizzazione dell’arto ischemico. In particolare, sono stati stabiliti i rapporti di Plgf con i geni eNOS, VEGF-A, Flt-1 e KDR e di Cripto con i geni cerberus, nodal, lefty-1, lefty 2 e i geni espressi durante la gastrulazione (IGB).

anno	Risorse utilizzate (full cost)						
	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	2.035	2.315	719	693	2.754	3.007	3.618

valori in migliaia di euro

PROGETTO 10 - ORGANISMI MODELLO PER LO STUDIO DI PROCESSI FISIOLGICI E PATOLOGICI.

Le tecnologie basate sui modelli animali e sugli organismi transgenici hanno permesso di ottenere risultati di notevole rilevanza nello studio di fenomeni fisiologici e patologici fra loro diversi:

- tramite l’uso di mutanti condizionali di topo è stato chiarito il ruolo di alcune molecole chiave nell’organizzazione del sistema dopaminergico. Inoltre in *C. elegans* è stato identificato un nuovo componente della trasduzione del segnale mediato da proteine G-eterotrimeriche (IGB);
- modelli che consentano nuovi approcci alla terapia antitumorale (ITB): nuovi approcci basati su liposomi innovativi e ruolo di alcune molecole coinvolte nella stabilità genomica, meccanismo fondamentale per prevenire la trasformazione neoplastica;
- animali transgenici e knockout per studiare processi patologici quali obesità, sclerosi multipla e diabete. Sono stati valutati non solo il ruolo dei geni coinvolti nella malattia ma anche i meccanismi molecolari controllati dal prodotto dei singoli geni a livello cellulare, come avviene per il diabete, o a livello più complesso, come si verifica nell’obesità e nella sclerosi multipla nei quali si ha una modificazione del sistema immunitario. Sono stati studiati il ruolo della leptina nel meccanismo patogenetico di patologie endocrine e neurodegenerative e generati modelli animali per lo sviluppo di nuove terapie del diabete tipo2 (DM2). L’attenzione è stata rivolta allo studio del gene ped/pea-15 (PED), iperespresso in pazienti con DM2 e coinvolto nella patogenesi di questa malattia. Gli studi sul promotore di PED hanno indicato che il gene è controllato positivamente da NFkB e CREB, negativamente da HNF4a. Inoltre, PED è regolata a livello post-trasduzionale mediante fosforilazione da parte di PKB e PKC. Gli studi nell’uomo hanno mostrato la presenza di polimorfismi a monte del promotore di ped, il cui ruolo funzionale è oggetto di studio (IEOS).

anno	Risorse utilizzate (full cost)						
	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F + risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	1.673	1.903	592	570	2.265	2.473	2.975

valori in migliaia di euro

PROGETTO 11 - MODELLI ANIMALI PER LO STUDIO DEL COMPORTAMENTO.

I risultati conseguiti vengono descritti in base alle varie direttrici lungo le quali sono articolate le ricerche.

– Ricerche sui primati non umani (ISTC):

le ricerche sono state condotte su cebi dai cornetti (*Cebus apella*) ospitati nel Centro Primati (c/o il Bioparco di Roma) e in natura (Piaù Brasile) e si sono basate sull'osservazione del comportamento spontaneo e in situazioni sperimentali. I risultati sinora conseguiti riguardano: organizzazione percettiva, uso di strumenti, capacità di usare oggetti come punti di riferimento ambientale, influenza di fattori intrinseci ed estrinseci sulle scelte alimentari, e studio del benessere della colonia.

– Modelli animali di deficit neurocomportamentale: meccanismi di adattamento a stress (IN):

si è dimostrato che 12 diverse superossido dismutasi (SOD1) mutanti, indipendentemente dalle loro proprietà biofisiche in vitro, inducono decremento dell'attività dei complessi della catena respiratoria e diminuita produzione di ATP mediante alterazione selettiva dei mitocondri in linee cellulari motoneuronali.

Inoltre, in un sistema modello messo a punto per la SLA familiare, costituito da linee cellulari motoneuronali murine NSC34 che esprimono in modo inducibile sotto il controllo di un promotore TetON un ampio pannello di SOD1 mutate, tipiche dei pazienti, sono state studiate le caratteristiche biochimiche delle proteine mutate e monitorata la situazione ossidoriduttiva intracellulare.

Risorse utilizzate (full cost)							
anno	attività coperte da fonti interne		attività coperte da fonti esterne		totale		G = F +risorse da esercizi precedenti
	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	preventivo	consuntivo	
	A	B	C	D	E	F	
2005	1.126	1.280	398	383	1.524	1.663	2.001

valori in migliaia di euro

PROGETTO 12 - GENOMICA E PROTEOMICA PER LO STUDIO E LA SALVAGUARDIA DELLA BIODIVERSITÀ.

L'attività di ricerca volta all'individuazione ed ispezione di tutti i databases di dati biologici che contenessero sequenze idonee agli studi di biodiversità è ancora in una fase preliminare. Si è fatta particolare attenzione alla distribuzione inter e intra specie di sequenze, conteggiandone numero e lunghezza per ciascuna classe individuata (ITB).

Un'altra tematica di ricerca (IBIM) riguarda popolazioni del riccio di mare *Paracentrotus lividus* che nel golfo greco di Amvrakikos hanno subito modificazioni morfologiche con l'avvento di popolazioni "nane" e "medio-nane" in seguito a cambiamenti ambientali dovuti all'inquinamento da scarichi domestici e industriali (e.g. aumento della temperatura, variazione dei valori di salinità, aumento dei valori della clorofilla delle alghe). Le "nuove" popolazioni sono in grado di tollerare valori di salinità proibitivi per il *P. lividus* normale. Sono stati ottenuti campioni proteici idonei sia qualitativamente che quantitativamente per l'analisi proteomica e sono stati identificati e mappati nel genoma di *P. lividus* alcuni geni di interesse.

Altri studi hanno anche un risvolto applicativo (IGB). Riguardano l'analisi molecolare dell'interazione fra il lepidottero parassita *Maruca vitrata* e la leguminosa *Vigna unguiculata*, principale sorgente di proteine in Nigeria, Mali ed altri paesi africani, ma presente anche in Italia con il nome di fagiolo dall'occhio. L'utilizzo della *V. unguiculata* come fonte di proteine è limitato peraltro dal parassita *M. vitrata* che ne riduce la produttività fino all'80%. È in corso l'analisi genomica e proteomica di alcune linee di *Vigna* ed è in fase di allestimento l'allevamento di vari isolati di *M. vitrata*, con lo scopo di elaborare, sulla base della biodiversità del parassita e