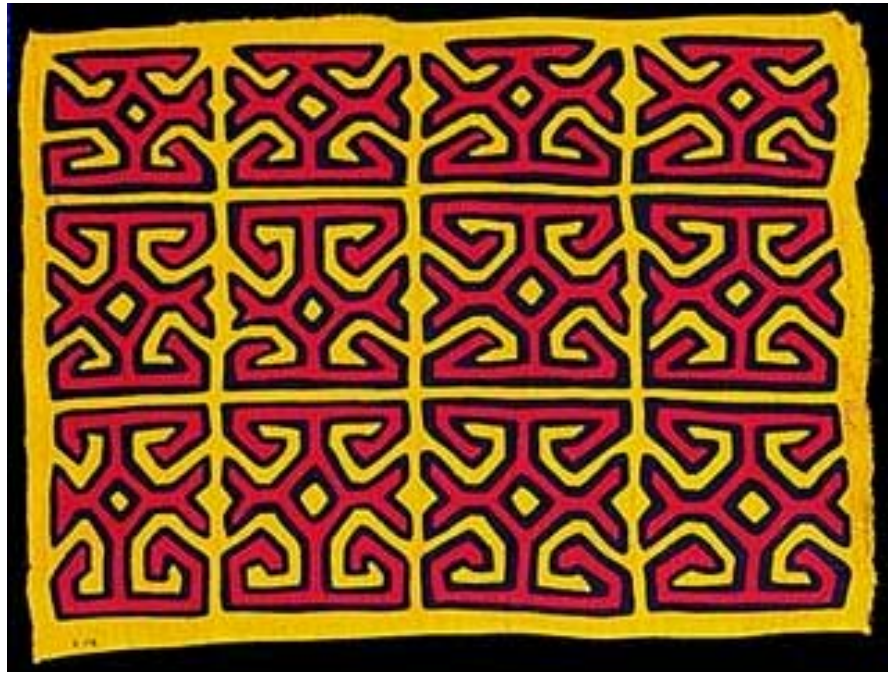


# RELAZIONE ANNUALE 2002



Università degli Studi dell'Insubria  
**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA  
STRUTTURALE E FUNZIONALE  
VARESE**

---



Akebandup aibinnit mor, hook mola, ca. 1967  
(Kuna Indians)

<http://dipbsf.uninsubria.it/dbsf/>

## INDICE

<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>3</b>
<b>COMPOSIZIONE E STRUTTURA ORGANIZZATIVA</b> .....	<b>4</b>
ORGANI DIPARTIMENTALI .....	4
PERSONALE DI RUOLO .....	4
<b>Professori di I fascia</b> .....	<b>4</b>
<b>Professori di II fascia</b> .....	<b>4</b>
<b>Ricercatori</b> .....	<b>5</b>
<b>Personale amministrativo</b> .....	<b>5</b>
<b>Personale tecnico</b> .....	<b>5</b>
PERSONALE NON DI RUOLO .....	5
<b>Collaboratori post-dottorato</b> .....	<b>5</b>
<b>Dottorandi</b> .....	<b>5</b>
<b>Borsisti</b> .....	<b>6</b>
<b>Tirocinanti</b> .....	<b>6</b>
<b>INFRASTRUTTURE E SERVIZI</b> .....	<b>7</b>
<b>ATTIVITA' DI RICERCA</b> .....	<b>8</b>
RIASSUNTI DELLE RICERCHE SVOLTE .....	8
PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI .....	42
<b>Fondo di Ateneo per la Ricerca</b> .....	<b>42</b>
<b>Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (PRIN)</b> .....	<b>43</b>
<b>Unione Europea</b> .....	<b>44</b>
<b>CNR</b> .....	<b>44</b>
<b>Altri Enti</b> .....	<b>45</b>
<b>SEMINARI</b> .....	<b>47</b>
<b>EVENTI</b> .....	<b>50</b>
<b>ATTIVITA' DIDATTICA</b> .....	<b>51</b>
<b>LAUREATI</b> .....	<b>55</b>
<b>DOTTORATI DI RICERCA</b> .....	<b>65</b>
DOTTORATO DI RICERCA IN "BIOLOGIA EVOLUZIONISTICA E DELLO SVILUPPO" .....	66
DOTTORATO DI RICERCA IN "ANALISI, PROTEZIONE E GESTIONE DELLA BIODIVERSITÀ" .....	67
<b>ELENCO DELLE PUBBLICAZIONI 2002</b> .....	<b>68</b>
ARTICOLI SU RIVISTE CENSITE DALL'INSTITUTE FOR SCIENTIFIC INFORMATION .....	68
ARTICOLI SU ALTRE RIVISTE .....	72
LIBRI E CAPITOLI DI LIBRI.....	73
REPORTS .....	81

## **INTRODUZIONE**

Il Direttore  
Giovanni Bernardini

## COMPOSIZIONE E STRUTTURA ORGANIZZATIVA

### Organi dipartimentali

#### Direttore:

Prof. Giovanni Bernardini (fino al 30/9/2002: Prof. Antonio Peres)

#### Vice Direttore:

Prof. Marco Saroglia (fino al 30/9/2002: Prof. Roberto Taramelli)

#### Giunta:

Prof. Paolo Gerola

Prof. Daniela Parolaro

Prof. Roberto Taramelli

Prof. Magda deEguileor

Prof. Alessandro Fumagalli

Prof. Loredano Pollegioni

Dr. Antonio Di Guardo

Dr. Nicoletta Landsberger

Al 31 dicembre 2002 afferiva al DBSF il seguente personale:

### Personale di ruolo

#### Professori di I fascia

Gianfranco Badaracco

Giovanni Bernardini

Davide Calamari

Paolo Gerola

Achille Ghidoni

Daniela Parolaro

Antonio Peres

Mirella Pilone

Marco Saroglia

Roberto Taramelli

Giordano Urbini

Roberto Valvassori

Biologia molecolare

Anatomia comparata e Citologia

Ecologia

Botanica generale

Genetica

Farmacologia

Fisiologia

Biochimica

Acquacoltura

Genetica

Ingegneria sanitaria e ambientale

Zoologia

#### Professori di II fascia

Stefano Banfi

Paola Barbieri

Giorgio Binelli

Marcella Bracale

Giuseppe Crosa

Magda de Eguileor

Mauro Fasano

Riccardo Fesce

Alessandro Fumagalli

Paola Gramatica

Elena Monti

Loredano Pollegioni

Alfredo Porati

Chimica organica

Microbiologia generale

Genetica

Botanica generale

Ecologia

Zoologia

Biochimica

Fisiologia

Chimica generale ed inorganica

Chimica organica

Farmacologia

Biochimica

Fisica matematica

Mariangela Prati  
Guido Tosi

Anatomia comparata e Citologia  
Zoologia

#### Ricercatori

Francesco Acquati  
Marc Bonapace  
Elena Bossi  
Maurizio Brivio  
Paola Campomenosi  
Bruno Cerabolini  
Antonio Di Guardo  
Marzia Bruna Gariboldi  
Stefano Giovannardi  
Rosalba Gornati  
Maria Ilde Granero  
Annalisa Grimaldi  
Charlotte Kilstrup-Nielsen  
Nicoletta Landsberger  
Adriano Martinoli  
Gianluca Molla  
Gianpaolo Perletti  
Luciano Piubelli  
Carlo Rossetti  
Tiziana Rubino  
Candida Vannini  
Alberto Vianelli

Genetica  
Patologia generale  
Fisiologia  
Anatomia comparata e Citologia  
Genetica  
Ecologia vegetale  
Ecologia  
Farmacologia  
Fisiologia  
Anatomia comparata e Citologia  
Fisica  
Zoologia  
Biologia molecolare  
Biologia molecolare  
Zoologia  
Biochimica  
Farmacologia  
Biochimica  
Fisiologia  
Farmacologia  
Fisiologia vegetale  
Fisiologia vegetale

#### Personale amministrativo

Stefano Motta  
Adriana Jacona  
Daniela Pozzi

Segretario amministrativo

#### Personale tecnico

Dr. Angelo Boselli  
Dr. Anna Giulia Cattaneo  
Patrizia D'Angelo  
Dilernia Roberto\*  
Luisa Guidali  
Dr. Gianluca Manarolla  
Dr. Emanuela Marras  
\* a tempo determinato

Dr. Emanuela Pilotto\*  
Dr. Luisa Paracchini  
Cinzia Roganti  
Rosa Rossi  
Marco Sordelli\*  
Giorgio Terzaghi  
Raffaele Terzaghi

#### **Personale non di ruolo**

##### Collaboratori post-dottorato

Dr. Enrico Caruso  
Dr. Monica Molteni  
Dr. Francesca Saracino

Dr. Daniela Viganò  
Dr. Davide Vigetti

##### Dottorandi

Dr. Barbara Badiello

Dr. Claudio Monetti

Dr. Silvana Bardelli  
Dr. Barbara Bernasconi  
Dr. Marco Bianchi  
Dr. Francesca Binda  
Dr. Stefano Bosisio  
Dr. Adelio Cangemi  
Dr. Castiglioni Sara  
Dr. Roberta M Ceriani  
Dr. Elena Ferioli  
Dr. Raffaella Cinquetti  
Dr. Roberto Ferrarese  
Dr. Alessandra Gagliardi  
Dr. Giorgia Lalumera

Dr. Laura Motteran  
Dr. Marilena Meloni  
Dr. Mauro Mengoni  
Dr. Ester Papa  
Dr. Roberto Papait  
Dr. Barbara Raimondi  
Dr. Raffaella Ravizza  
Dr. Silvia Sacchi  
Dr. Simona Segalla  
Dr. Gianluca Tettamanti  
Dr. Ilaria Trizio  
Dr. Angelo Vaccani  
Dr. Serena Zaccara

#### Borsisti

Dr. Francesca Battaini  
Dr. Diego Basso  
Dr. Anna Bergo  
Dr. Guido Brusa  
Dr. L. Caldinelli  
Dr. Fulvio Castelli  
Dr. Silvia Cucinotta  
Dr. Rossella De Andreis  
Dr. Simona Infantino

Dr. S. Lorenzi  
Dr. G.L. Marcone  
Dr. Maristella Mastore  
Dr. Davide Perini  
Dr. Pozzoli Luca  
Dr. Damiano Preatoni  
Dr. E. Rosini  
Dr. R. Rinaldi  
Dr. Samanta Staurengo

#### Tirocinanti

Dr. Daniela Osti

#### **Hanno fatto parte del DBSF durante il 2002:**

Dr. Lucia Carlucci  
Prof. Fabrizio Celentano

trasferita  
trasferito

## INFRASTRUTTURE E SERVIZI

### Infrastrutture

Il DBSF è dotato di numerose apparecchiature scientifiche di notevole valore e di infrastrutture generali di servizio, che sono a disposizione dei ricercatori del Dipartimento.

Tra gli strumenti scientifici di maggior pregio si possono elencare:

- 2 Microscopi elettronici a trasmissione (Varese)
- Microscopio confocale (Varese)
- Spettrofotometro ad assorbimento atomico (Varese)
- Sequenziatore di proteine (Varese)
- HPLC / FPLC (Varese)
- Rilassometro (Varese)
- GC-MS (Varese)
- Spettrofotofluorimetro a stopped-flow (Varese)

I servizi comuni sono affidati alla responsabilità di una o più unità di personale docente e non docente:

### Servizio – Responsabile

Acqua deionizzata	G. Terzaghi
Acqua MilliQ	A. Boselli
Assorbimento atomicoA.	Fumagalli – G. Terzaghi
Audiovisivi	L. Guidali
Camera calda	G. Molla
Camera oscura	P. Campomenosi
Colture cellulari invertebrato	M. deEguileor
Colture cellulari mammifero	S. Giovannardi
Disposabile / Reagenti	R. Terzaghi
Gas	G. Terzaghi
GC-MS	A. Di Guardo
HPLC / FPLC	L. Piubelli - A. Boselli
Informatica e telefoni	C. Roganti
Lavaggio vetreria	R. Rossi
Liofilizzazione	G. Terzaghi
Microscopio confocale	S. Giovannardi
Microscopi elettronici	G. Lanzavecchia
Radioisotopi	F. Acquati – R. Gornati
Rifiuti tossici e nocivi	S. Banfi - G. Terzaghi
Rifiuti tossici e nocivi (B.A.)	(L. Paracchini
Sequenziatore di proteine	L. Pollegioni - A. Boselli
Sicurezza piano blu	S. Giovannardi – L. Guidali
Sicurezza piano verde	
Sicurezza piano giallo	P. Campomenosi – L. Piubelli
Sicurezza piano rosso	A. Martinoli
Sicurezza Busto Arsizio	
Spettrofotofluorimetro a stopped-flow	L. Pollegioni - G. Molla
Stabulario	G. Manarolla
Sterilizzazione	A. Boselli

## ATTIVITA' DI RICERCA

Il Dipartimento è suddiviso in gruppi che svolgono ricerche di base ed applicative in diversi settori della biologia.

### Riassunti delle ricerche svolte

Viene di seguito riportato l'elenco dei gruppi di ricerca con il riferimento agli abstracts.

L'asterisco identifica il coordinatore del gruppo.

Gruppo	Componenti - (*) P.I	Abstracts
Gruppo di Farmacologia Antineoplastica	Elena Monti * Marzia B. Gariboldi Gianpaolo Perletti Emanuela Marras R. Ravizza	6, 7, 8
Biologia Molecolare	Gianfranco Badaracco* Fabrizio Bolognesi Charlotte Kilstrup Nielsen Nicoletta Landsberger Anna Bergo Stefanie Francois Mauro Mengoni Francesca Saracino Simona Segalla.	29, 30
Botanica	Paolo. Gerola* Elena Ferioli Emanuela Pilotto	
Biotecnologie vegetali	Marcella Bracale* Candida Vannini Barbara Bernasconi	22, 23
Gruppo di Analisi e Gestione delle Biocenosi	Guido Tosi* Bruno Cerabolini A. Martinoli G. Brusa R. M. Ceriani R. De Andreis A. Gagliardi D. Perini D. G. Preatoni B. Raimondi C. Tattoni I. Trizio	31, 32, 33
Laboratorio di Sintesi ed Analisi Chimica	Stefano. Banfi* Alessandro Fumagalli* Lucia Carlucci Giorgio Terzaghi Diego Basso Fulvio Castelli S. Caprioli L. Mazzagatti Enrico Caruso	19, 20, 39

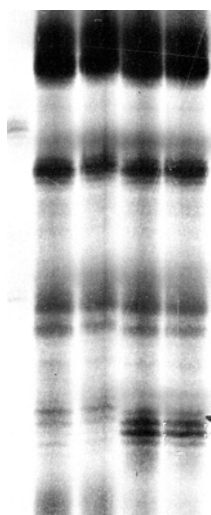


Gruppo Ricerche ambientali	Davide Calamari* Antonio Di Guardo Sara Castiglioni	43
Unità di Ricerca QSAR e Chimica ambientale	Paola Gramatica* Ester Papa P. Pilutti F. Battaini L. Pozzoli	11
Metodi matematici	Alfredo. Porati * Marilde. Granero	45, 46
Immunologia comparata e Parassitologia	Maurizio F. Brivio*	42
Biologia degli invertebrati	Roberto Valvassori Magda de Eguileor* Annalisa Grimaldi Gianluca Tettamanti Luisa Guidali Roberto Ferrarese L. Rinaldi	21
Biologia applicata	Carlo Rossetti* Monica Molteni Samanta Staurengo	47
Biologia cellulare	G. Bernardini* M. Prati R. Gornati C. Monetti D. Vigetti S. Bosisio	15,16,17,18
Biochimica delle proteine	M. S. Pilone* L. Pollegioni M. Fasano L. Piubelli G. Molla A. Boselli S. Sacchi L. Motteran S. Lorenzi E. Rosini L. Caldinelli G.L. Marcone	24, 25, 26, 27, 28
Genetica	Roberto Taramelli* Achille Ghidoni Giorgio Binelli Francesco Acquati Paola Campomenosi Raffaella Cinquetti MarcoG. Bianchi S.ilvanaBardelli Adelio Cangemi Marilena Meloni	34, 35, 36, 37, 38
Gruppo di Fotobioenergetica	Alberto Vianelli*	41

	Annagiulia Cattaneo	
Fisiologia cellulare e molecolare	Antonio Peres* Riccardo Fesce Elena Bossi Stefano Giovannardi Francesca Binda	3, 4, 5, 40
Acquacoltura	Marco Saroglia* Genciana Terova	1
Microbiologia	Paola Barbieri* Silvia Cucinotta	12, 13, 14
Neurofarmacologia	Daniela Parolaro* Tiziana Rubino	9, 10
Ecologia Quantitativa e delle Acque Interne	Giuseppe Crosa* Davide Calamari Giorgia Lalumera Serena Zaccara	2
	Gianpaolo Perletti*	44

## 1. I livelli di ossigeno influenzano l'espressione genica nelle branchie di *Dicentrarchus labrax*

*Claudio Monetti, Davide Vigetti, Mariangela Prati, Giovanni Bernardini, Genciana Terova, Marco Saroglia and Rosalba Gornati*



Le moderne tecniche di ossigenazione applicate in acquacoltura intensiva, comprendenti l'impiego di ossigeno liquido, sembrano tra l'altro migliorare le risposte adattative del pesce agli agenti stressanti più comuni, attraverso meccanismi solo in parte noti.

In questo progetto ci siamo proposti di studiare la modificazione dei pattern di espressione genica a seguito di differenti condizioni di stress nei pesci anche con l'intenzione di scoprire dei biomarker molecolari che permettano di diagnosticare rapidamente tali stati. A questo scopo abbiamo deciso di impiegare la tecnica del differential display. Questa tecnica è versatile e potente e permette di individuare cambiamenti nell'espressione genica.

Sugli RNA estratti dai vari campioni da paragonare si effettuano delle RT-PCR usando combinazioni di primers arbitrari che garantiscono l'amplificazione dei geni trascritti. Separando su gel i prodotti di PCR si identificano i trascritti specifici per le varie condizioni prese in esame.

Differential display su RNA di branchie di spigola. Le reazioni di PCR sono state eseguite in doppio; i controlli occupano le prime due lanes e i trattati (ipossia) le altre due. Le frecce indicano due bande indotte da ipossia.

## 2. Ecologia Quantitativa e delle Acque Interne

*Giuseppe Crosa, Davide Calamari, Giorgia Lalumera, Serena Zaccara*

L'Unità sviluppa ricerche, sia teoriche che applicate, sulle proprietà ecologiche degli ecosistemi acquatici continentali. Attenzione viene posta sull'applicazione e sviluppo di tecniche di analisi numerica per la misura della variazione delle comunità acquatiche in ecosistemi naturali e perturbati. Studi specifici sono anche rivolti alle caratteristiche idrauliche e fisiche dei sistemi fluviali con l'obiettivo di fornire basi scientifiche per la loro gestione. Di recente l'Unità ha sviluppato due linee di ricerca relative all'analisi della variazione genetica di specie acquatiche di particolare interesse ecologico. Le attività in atto nel 2002 riguardano 6 progetti di ricerca:

1. Development of integrated water management tools for the Tuyamuyn reservoir complex for the improvement of the drinking water supply and public health in the disaster zone of the lower Amu-Darya (IWMT).
2. Investigation of innovative pollution clean-up and avoidance strategies for surface water and groundwater resources at the "Disaster Zone" of the Amu-Darya lowers (OPAL).
3. Presenze ed effetti sull'ecosistema dei farmaci usati in acquicoltura.
4. Progetto Life-Natura 2001: conservazione di *Austropotamobius pallipes* in due S.I.C. della Lombardia.
5. Analisi filogeografica del sistema ospite parassita applicato alla fauna acquatica continentale.
6. Analisi delle variazioni temporali delle caratteristiche ecologiche del lago di Varese.

---

### **3. Temperature effects on the presteady-state and transport associated currents of the GABA cotransporter rGAT1**

*E. Bossi, F. Binda, S. Giovannardi and A. Peres*

The effects of the temperature on the presteady-state and transport associated currents of the GABA transporter rGAT1 have been studied using heterologous oocytes expression and voltage clamp.

The possibility of heterologous expression in *Xenopus Laevis* oocytes has greatly expanded our knowledge of the properties of several cotransporters. Studying the effects of the temperature on the kinetics and amplitude of the transport characteristics is also a useful mean to obtain informations on the nature of the process, since the temperature coefficient  $Q_{10}$  is related to the complexity of the conformational changes involved. Increasing the temperature from 15°C to 30°C increased the GABA uptake, diminished the maximal value of the relaxation time constant of the presteady-state current and increased the amplitude of the current associated with the transport of GABA. The curve of the presteady-state charge vs voltage was shifted toward negative potentials by increasing the temperature, while the maximal amount of charge ( $Q_{max}$ ) remained constant; the  $\tau$  vs  $V$  curve was also negatively shifted by increasing temperature. Analysis of the outward ( $\alpha$ ) and inward ( $\beta$ ) rate constants as functions of temperature showed that they are affected differently, with a  $Q_{10} = 3.4$  for  $\alpha$  and a  $Q_{10} = 1.5$  for  $\beta$ .

The different temperature coefficients of the rate constants account for the observed shifts in  $Q$  vs  $V$  and  $\tau$  vs  $V$ . These observations are consistent with a charge movement mechanism based on a conformational change of the protein; the weaker temperature sensitivity of the inward rate constant  $\beta$  suggests a rate-limiting diffusional component on this process. (Binda F, Bossi E, Giovannardi S, Forlani G, and Peres A (2001). FEBS Lett 512: 303-307)

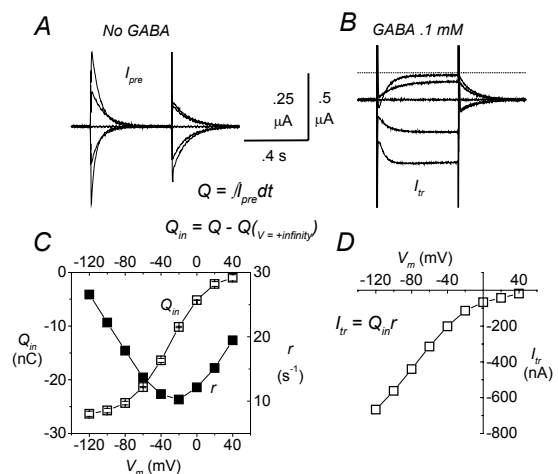
---

#### 4. Presteady-state and transport-associated currents in the GABA cotransporter rGAT1 are simply related

Antonio Peres, Stefano Giovannardi, Francesca Binda, Elena Bossi and Riccardo Fesce

The possibility of heterologous expression of ion-dependent cotransporters has revealed that they characteristically display two kinds of membrane current: a presteady-state ( $I_{pre}$ ) currents in absence of organic substrate, and a transport-associated ( $I_{tr}$ ) current in its presence. A thorough comparison of these two currents elicited by the neuronal GABA transporter rGAT1 expressed in *Xenopus* oocytes leads to a number of unforeseen qualitative and quantitative consistencies between them. In saturating amounts of GABA, the following relation holds:  $I_{tr} = Q_{in}r$ , where  $Q_{in}$  is the quantity of charge in the inner side of the transporter, obtained in absence of GABA from integration of  $I_{pre}$ , and  $r$  is the relaxation rate of  $I_{pre}$  at the same membrane potential (see figure). The relation remains valid also when  $[Na^+]_o$  and  $[Cl^-]_o$  are changed. At non-saturating GABA, decreases in the amplitude of  $I_{tr}$  are compensated by complementary variations in  $Q_{in}$ . Complementarity of magnitude, superimposable kinetic properties and dependence on  $V_m$  and  $[Na^+]_o$ , point to the unicity of the charge carrier for both processes. The partition of the molecule between the transporting and non-transporting forms is in agreement with the apparent affinity for the organic substrate, previously estimated from the GABA concentration eliciting half-maximal  $I_{tr}$  at each potential. The system may be simulated by a simple three-state kinetic scheme in which GABA must bind after  $Na^+$ . On the whole, these observations suggest that transport and charge migration in rGAT1 arise from the same molecular mechanism. All experiments were carried out according with the institutional and national ethical guidelines; frogs were anaesthetized in MS222 (tricaine methansulfonate) 0.10% (w/v) solution in tap water before oocyte dissection and humanly killed at the end of the experiments. We are grateful to Prof. H.A. Lester and C. Labarca for the generous gift of rGAT cDNA. This work was supported by a PRIN grant from the Italian Ministry for University and Research to A. Peres.

**Figure legend:** A:  $I_{pre}$  in response to voltage pulses to  $-120$ ,  $-80$ ,  $0$  and  $+40$  mV from  $V_h = -40$  mV, after subtraction of the corresponding records in presence of SKF89976A. B:  $I_{tr}$  in response to the same voltage protocol as in A, after subtraction of the corresponding records in absence of GABA; the dotted line indicates 0 current. C: empty squares are the  $Q_{in}/V$  curve obtained from integration of the transients in A and vertically offset, in order to make it start from 0 at positive values; fitting the sigmoidal with a Boltzmann function gives in this oocyte  $Q_{max} = 26.7$  nC,  $V_{1/2} = -30.3$  mV and log-slope  $s = 21.2$  mV; filled squares represent the charge equilibration rate obtained by fitting the traces in A with single exponentials. D: steady-state  $I_{tr}$  vs  $V$  curve from records in D. All data from the same oocyte.



#### 5. $Na^+$ and $Cl^-$ interactions at the neuronal GABA cotransporter rGAT1

Binda F., Bossi E., Giovannardi S., Forlani G. and Peres A.

The cotransporter rGAT1 terminates the gabaergic synaptic transmission and takes up the liberated GABA for recycling. It is a member of the Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>-dependent family of cotransporters. Reductions in external Na<sup>+</sup> or Cl<sup>-</sup> have similar effects on the “presteady-state” currents, in absence of organic substrate: the Q vs V curve is shifted to more negative voltages for both ions, although the effect of Na<sup>+</sup> is stronger. The relaxation time constants are also shifted and their value decreased, indicating an unexpected faster process at lower Na<sup>+</sup> or Cl<sup>-</sup>. The transport-associated current, in presence of GABA, was also affected: while Na<sup>+</sup> caused voltage shifts similar to those seen in the Q/V relationship, Cl<sup>-</sup> induced in addition changes in the apparent affinity for GABA. To interpret these results we have devised a hypothesis based on the existence of a vestibule selectively accessible to Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>; the vestibule and the bulk solution will represent a Donnan system that may reproduce many of the observed effects. The model predicts the actions of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> on the inward rate constant of charge movement, while those on the outward rate constant require additional assumptions.

---

## **6. Studi in vitro e in vivo degli effetti del nitrossido piperidinico Tempol – un potenziale nuovo agente terapeutico per i gliomi**

*Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza, Elena Cereda and Elena Monti*

Una delle principali cause della prognosi infausta associata ai tumori maligni del Sistema Nervoso Centrale è la refrattarietà che questo tipo di neoplasie mostrano spontaneamente nei confronti sia della radioterapia, sia della maggior parte dei chemioterapici antitumorali attualmente in uso clinico. L'identificazione di nuovi composti in grado di migliorare la prognosi dei tumori del SNC è perciò un'area di attiva ricerca. Lo scopo di questo studio è stato quello di investigare l'attività del nitrossido piperidinico Tempol nei confronti di cellule di glioma maligno, sia *in vitro* che *in vivo* in un modello di xenotrapianto. Diverse osservazioni suggeriscono che il Tempol (TPL), un radicale libero stabile, potrebbe essere affiancato ai vari farmaci attualmente utilizzati nel trattamento dei gliomi: 1. TPL ha mostrato un effetto antiproliferativo nei confronti di un pannello di linee cellulari tumorali, con un certo grado di selettività nei confronti di linee cellulari tumorali rispetto a cellule non neoplastiche di naloga derivazione tissutale; 2. TPL è in grado di indurre un aumento dell'espressione di *waf1/cip1* in cellule HL60, nonostante la totale assenza del prodotto del gene *p53* in questa linea cellulare; il prodotto di *waf1/cip1*, l'inibitore delle chinasi ciclina-dipendenti p21, è in grado di aumentare la suscettibilità all'apoptosi indotta da agenti citotossici in almeno due linee cellulari di glioma; 3. TPL è in grado di attraversare la BEE; 4. TPL agisce come radiosensibilizzante su cellule che si trovano in condizioni ipossiche; siccome i gliomi sviluppano tipicamente regioni ipossiche, che possono rendere atto della scarsa risposta di questi tumori alla radioterapia, il trattamento con TPL potrebbe migliorare gli effetti di questa strategia terapeutica. Lo studio è stato eseguito su cellule di glioma di ratto C6 cresciute *in vitro* come monostrato e *in vivo* come xenotrapianto in topi nudi atimici.

---

## **7. Ruolo della lung resistance-related protein (LRP) nella sensibilità di cellule tumorali in coltura ai farmaci.**

*Meschini S, Marra M, Calcabrini A, Monti E, Gariboldi M, Dolfini E, Arancia G.*

La farmacoresistenza, uno dei principali ostacoli al successo della chemioterapia antitumorale, può essere osservata all'inizio della terapia (resistenza intrinseca) o dopo

esposizione all'agente antitumorale (resistenza acquisita). I meccanismi responsabili della resistenza intrinseca sono ancora poco conosciuti. E' ormai noto che le cellule tumorali esposte ad un agente antineoplastico possono sviluppare, sia *in vitro* che *in vivo*, un fenotipo multidrug resistance (MDR) il quale è generalmente associato ad un'alterata espressione delle proteine di trasporto, quali la P-glicoproteina (P-gp) e la famiglia delle multidrug-resistance-related proteins (MRPs). Queste proteine agiscono come pompe molecolari dipendenti dall'ATP che estrudono diversi farmaci antitumorali dalla cellula, diminuendo così la loro concentrazione a livello del bersaglio. Si ritiene che il fenotipo intrinseco MDR sia determinato da meccanismi multipli. Evidenze recenti suggeriscono che modifiche nelle proteine di trasporto possono contribuire a questa forma di farmacoresistenza; inoltre, la sovraespressione di una proteina di 110 KDa, chiamata proteina lung resistance-related (LRP) è stata osservata in linee cellulari tumorali intrinsecamente resistenti a farmaci chemioterapici.

In questo studio abbiamo investigato alcuni dei meccanismi potenzialmente responsabili della resistenza intrinseca all'antibiotico antitumorale doxorubicina (DOX), noto per interferire con il funzionamento dell'enzima nucleare DNA topoisomerasi II. A questo scopo sono state analizzate due linee cellulari tumorali umane di diversa derivazione tissutale: cellule di adenocarcinoma mammario MCF7 e cellule di carcinoma polmonare A549, entrambe originariamente ottenute da pazienti che non avevano ricevuto alcun trattamento farmacologico. La scelta delle due linee cellulari è stata dettata dal fatto che in vivo i tumori epiteliali di colon e mammella sono caratterizzati da una sensibilità molto diversa nei confronti dell'azione citotossica della DOX, che risulta praticamente inattiva sui carcinomi del colon; perciò si è deciso di valutare se e in quale misura le due linee cellulari differissero tra di loro per quanto concerne l'espressione di geni implicati nell'accumulo e nella localizzazione subcellulare di farmaci antitumorali. In questo studio sono stati esaminati: 1. l'effetto citotossico indotto dal trattamento con DOX e la capacità delle due linee cellulari considerate di innescare un programma apoptotico in risposta al trattamento farmacologico; 2. l'andamento temporale dell'accumulo della DOX all'interno delle cellule, valutato mediante citofluorimetria a flusso, e la distribuzione del farmaco tra i diversi compartimenti intracellulari, valutata mediante microscopia confocale; 3. i livelli intracellulari e la distribuzione dei trasportatori correlati alla resistenza alle antracicline (P-gp, MRP1 e LRP).

I risultati ottenuti sembrano indicare che la minore sensibilità osservata nelle cellule di tumore polmonare A549 può essere attribuita ad un aumento dell'espressione di LRP, che sequestrando il farmaco all'interno di compartimenti citoplasmatici, ne impedisce l'accesso al nucleo e, quindi, al bersaglio dell'azione farmacologica.

---

## **8. Determinazione dell'attività fotodinamica di nuovi agenti fotosensibilizzanti sintetizzati nel laboratorio di Chimica Organica del DBSF su linee cellulari di adenocarcinoma del colon.**

*Stefano Banfi, Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza, Enrico Caruso, Stefania Caprioli and Elena Monti.*

La terapia fotodinamica (PDT) rappresenta un'interessante opzione terapeutica per il trattamento di diversi tumori, tra i quali quelli dell'esofago e del polmone. Essa richiede l'esposizione delle cellule o tessuti a un farmaco fotosensibilizzante (PS), seguita da irradiazione con luce visibile di lunghezza d'onda compatibile con lo spettro di assorbimento del PS. In seguito all'assorbimento di energia, il PS passa al suo stato eccitato e può partecipare a due diversi processi di trasferimento di energia: a) reazione di ossidoriduzione monoelettronica (*Tipo I*), la quale produce intermedi radicalici che

possono reagire con ossigeno molecolare e produrre radicali perossido e diverse specie radicaliche dell'ossigeno, o b) trasferimento di energia all'ossigeno molecolare (*Tipo II*), che genera ossigeno singoletto, una specie altamente reattiva che reagisce con la maggior parte delle molecole biologiche.

L'interesse per la PDT in oncologia è dovuto al fatto che i PS tendono ad accumularsi nei tessuti e vengono attivati in modo selettivo illuminando la sola zona di interesse, il che comporta un ampio indice terapeutico e una potenziale bassa tossicità sui tessuti normali. Inoltre, l'uso della PDT non è precluso da precedenti trattamenti di radio-, chemio-terapia o chirurgia. Lo sviluppo dei protocolli di trattamento è però piuttosto difficile; ciò è in parte attribuibile alla complessa interazione tra PS, luce e fotofisiologia dei tessuti, e richiede la comprensione della fotochimica delle molecole fotosensibilizzanti, della loro localizzazione nelle cellule/tessuti, della sensibilità dei tessuti e delle interazioni fisiche della luce con i PS e i tessuti. La maggior parte delle applicazioni cliniche è basata su valutazioni empiriche del regime di trattamento ottimale e ha fornito sufficienti dimostrazioni per sviluppare nuovi piani di trattamento. Sembra che l'effetto fotodinamico sia dovuto alla combinazione di un effetto citotossico diretto, risultato dell'incorporazione del PS nelle membrane cellulari, e di un danno microvascolare che contribuiscono alla distruzione del tessuto tumorale. Recentemente è stato evidenziato che il foto-danno ai mitocondri è in grado di innescare direttamente il processo apoptotico indicando l'apoptosi come uno dei principali meccanismi di morte cellulare indotta da PS. La miscela di porfirine Photofrin è stata recentemente approvata dalla FDA per il trattamento in PDT di carcinomi bronchiali ed esofagei. Diverse limitazioni all'uso del Photofrin, quali la fotosensibilizzazione cutanea e la limitata profondità di penetrazione, hanno stimolato lo sviluppo di nuovi PS con più favorevoli caratteristiche. A questo proposito, in questo studio abbiamo caratterizzato un pannello di derivati porfirinici e clorinici, alcuni dei quali neo-sintetizzati dal nostro gruppo, con lo scopo di identificare agenti con caratteristiche favorevoli all'uso nella PDT dei tumori.

Scopi di questo studio sono stati:

- valutazione dell'attività di composti fotosensibilizzanti (PS) porfirinici e clorinici, di nuova sintesi o già noti, su una linea cellulare di adenocarcinoma del colon (HCT116) e confronto con il photofrin;
- identificazione delle strutture legate alle migliori caratteristiche per l'uso in terapia;
- valutazione della modalità con cui i PS determinano la morte cellulare;
- ruolo di p53 nell'effetto citotossico dei più attivi PS considerati.

---

## **9. RUOLO DELLA VIA DELLE MAP KINASI NELLA TOLLERANZA AI CANNABINOIDI**

*Tiziana Rubino, Daniela Viganò, Angelo Vaccani e Daniela Parolaro*

I cannabinoidi inducono i loro effetti psicoattivi mediante la stimolazione del recettore cannabico centrale CB1. I recettori CB1 sono accoppiati alle G proteine di tipo inibitorio Gi/Go, mediante le quali modulano l'attività dell'adenilato ciclasi e dei canali del calcio e del potassio. Inoltre in linee cellulari non neuronali si è osservato che la stimolazione dei recettori CB1 transfettati induce l'attivazione delle MAP kinasi, specificatamente della sottofamiglia di ERK e di JNK, mentre in fettine ippocampali i cannabinoidi in acuto attivano le p-38<sup>MAPK</sup>. Nonostante queste evidenze sperimentali ottenute in modelli in vitro, non esistono chiari dati sull'attivazione della via delle MAP kinasi in seguito alla stimolazione del recettore CB1 nell'animale in vivo.

Sulla base di queste premesse, nella presente ricerca ci siamo proposti di valutare gli effetti del trattamento in vivo con  $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo (THC) sulla cascata delle MAP

kinasi nelle diverse aree cerebrali di ratto. A tal fine abbiamo utilizzato la metodica della Western Blot per valutare i livelli di ERK1/ERK2, JNK e p-38<sup>MAPK</sup> sia fosforilate che non, nelle diverse aree cerebrali di animali trattati in acuto o in cronico con il composto cannabico naturale. In particolare, per gli studi condotti in acuto, gli animali sono stati iniettati con THC 15 mg/kg ip, mentre per gli studi cronici, il THC è stato somministrato alla stessa dose, due volte al giorno per 6.5 giorni consecutivi. Trenta minuti dopo l'ultima iniezione, gli animali sono stati sacrificati ed il loro cervello prelevato al fine di dissezionare rapidamente in ghiaccio le specifiche aree cerebrali oggetto degli studi di Western Blot. Il THC iniettato in acuto nei ratti attiva significativamente solo la cascata di ERK1/ERK2 a livello striatale, mentre l'esposizione cronica al THC induce la fosforilazione della stessa sottofamiglia in diverse aree cerebrali, quali lo striato, l'ippocampo ed il cervelletto. Per ulteriormente confermare il coinvolgimento della via delle MAP kinasi a seguito della stimolazione del recettore CB1, abbiamo valutato gli effetti della somministrazione acuta e cronica di THC in topi ko per il gene ras-GRF1. Lo scambiatore ras-GRF1 attiva le proteine ras che rappresentano l'interruttore molecolare che porta all'attivazione sequenziale dei membri appartenenti alla cascata delle MAP kinasi. La somministrazione acuta di THC (10 mg/kg sc) induce con la stessa intensità nei topi ko e wild type la comparsa di due classici effetti cannabici, l'analgesia e l'ipomotilità. Al contrario, gli animali ko per il gene ras-GRF1 non sviluppano tolleranza a tali effetti dopo somministrazione cronica di THC (10 mg/kg sc, due volte al giorno per 5 giorni). I nostri risultati forniscono una chiara evidenza sperimentale del coinvolgimento della cascata delle MAP kinasi nello sviluppo della tolleranza ai cannabinoidi.

---

## **10. INTERAZIONE TRA CANNABINOIDI ED OPIOIDI**

*Daniela Viganò, Tiziana Rubino e Daniela Parolaro*

Gli oppiacei e i cannabinoidi sono tra le sostanze più abusate al mondo. Esse presentano profili farmacologici comuni e a livello cellulare ambedue i composti mimano l'azione di ligandi endogeni ed agiscono attivando due differenti recettori entrambi accoppiati a G proteine di tipo inibitorio mediante le quali modulano negativamente l'attività dell'adenilato ciclasi, bloccano i canali Ca<sup>++</sup> voltaggio-dipendenti ed attivano i canali K<sup>+</sup>. Negli ultimi anni numerosi lavori suggeriscono come la reciproca integrità del sistema cannabinoide ed oppioide sia rilevante nello sviluppo dei processi neuroadattativi indotti dall'esposizione cronica a queste sostanze, ma il fine meccanismo di tali interazioni non è ancora ben definito. Nel presente progetto abbiamo verificato se somministrazioni croniche di morfina potessero alterare il sistema cannabico, in termini di funzionalità del recettore CB1 e di livelli di endocannabinoidi.

Il trattamento cronico con morfina (5 mg/kg sc per 4.5 giorni) induce nei ratti una lieve ma significativa riduzione nel binding del recettore cannabico nel cervelletto e nell'ippocampo, mentre il saggio del GTP-gamma-S dimostra un forte decremento nell'accoppiamento recettore-G proteina nell'area limbica di questi animali. Sono stati inoltre misurati i contenuti dei due fra i maggiori ligandi endogeni cannabici, l'anandamide (AEA) ed il 2-arachidonilglicerolo (2-AG), mediante una cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa ( in collaborazione col gruppo del CNR del Dr. Di Marzo) L'esposizione cronica alla morfina produce una marcata riduzione nei contenuti di 2-AG nello striato, nella corteccia, nell'ippocampo, nell'area limbica e nell'ipotalamo, mentre i livelli di AEA risultano uguali a quelli dei controlli. Questi risultati dimostrano che la stimolazione prolungata dei recettori oppiacei è in grado di alterare il sistema cannabico, sia a livello di funzionalità recettoriale che nei contenuti cerebrali di endocannabinoidi, suggerendo il coinvolgimento di questo sistema nel fenomeno della tolleranza alla morfina.



---

## 11. I principali temi di ricerca dell'Unità QSAR e Chimica Ambientale

Paola Gramatica, Ester Papa, Francesca Battaini, Pamela Pilutti

DBSF, QSAR Research Unit, <http://dipbsf.uninsubria.it/qsar>

Le metodologie QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships) si basano sull'individuazione e applicazione delle relazioni esistenti tra struttura molecolare dei composti chimici organici e loro attività biologica o proprietà chimico-fisiche. L'applicazione di adeguati descrittori molecolari teorici, in grado di descrivere al meglio tutti gli aspetti della struttura chimica (1D, 2D e 3D) e di un'ampia tipologia di metodi chemiometrici (su base statistica, ma focalizzati essenzialmente alla possibile applicazione predittiva dei modelli) permettono di realizzare validi modelli per la predizione di proprietà o attività di vario genere. L'Unità di Ricerca applica le metodologie QSAR e vari metodi chemiometrici a diverse problematiche in campo ambientale. In particolare, l'interesse principale è rivolto al problema di rilevanza mondiale dei PBT (Persistent Bioaccumulative and Toxics), con realizzazione di modelli predittivi QSAR per:

P: - emivite in diversi comparti ambientali

P: - biodegradabilità (borsa di studio di Facoltà a Papa/Pozzoli)

P: - reattività atmosferica (con radicali OH e NO<sub>3</sub>, e con ozono) (tesi di laurea di Pilutti)

P: - Long Range Transport e mobilità globale

B: - BioConcentration Factor (BCF)

T: - Tossicità acquatica di miscele di pesticidi (progetto Comunità Europea BEAM)

T: - Tossicità di inquinanti atmosferici (nitrofenoli)

Viene inoltre studiata la ripartizione nei diversi comparti ambientali di classi chimiche problematiche come i pesticidi.

Programmi particolari riguardano lo studio delle proprietà chimico-fisiche e delle ecotossicità di prodotti chimici di interesse delle industrie chimiche italiane (borsa di Federchimica a Battaini) e lo studio del particolato atmosferico con realizzazione di modelli per l'individuazione delle sorgenti di inquinamento (Luca Pozzoli in collaborazione con Sc. Ambientali MI-Bicocca)

---

## 12. Costruzione e analisi di toluene monoossigenasi chimeriche

Paola Barbieri, Silvia Cucinotta, Valentina Massa, Bianchi Luca

La toluene-*o*-xilene monoossigenasi (ToMO) è un complesso enzimatico responsabile della degradazione di toluene e *o*-xilene in *Pseudomonas stutzeri* OX1.

La sequenza nucleotidica del locus codificante per la ToMO aveva mostrato la presenza di sei ORFs denominate *touABCDEF*. L'analisi della sequenza aminoacidica dedotta ed in seguito le indagini biochimiche hanno dimostrato che TouA, TouB e TouE costituiscono le subunità catalitiche del complesso multienzimatico (subcomplesso idrossilasico H); TouC e TouF rappresentano i componenti di una corta catena di trasporto degli elettroni, mentre TouD probabilmente agisce come effettore della catalisi. Tutti i geni sono essenziali per l'attività enzimatica.

La ToMO è caratterizzata da un ampio spettro di substrati e scarsa regioselettività: può infatti introdurre un gruppo ossidrilico in diverse posizioni dell'anello di composti aromatici attivati e non, è inoltre in grado di ossidare cloro alifatici.

Appartiene a questa classe di monoossigenasi anche la toluene-4-monoossigenasi (T4MO) che è geneticamente e strutturalmente correlato alla ToMO, ma mostra uno spettro di substrati e una regioselettività più ristretta in quanto è in grado di idrossilare solo il toluene in posizione 4.

Per identificare i determinanti genetici della specificità di substrato e della regioselettività della ToMO sono stati costruiti degli enzimi chimerici fra la ToMO e la T4MO, sostituendo una subunità del cluster *tmo* (T4MO) con la subunità corrispondente subclonata dal cluster *tou* (ToMO).

In primo luogo è stato costruito in *cis* l'operone chimerico *touA::tmoBCDEF* ed è stato clonato in *E. coli*. Questa chimera non ha mostrato alcuna attività monoossigenasica. È stato inoltre dimostrato che tutti i geni dell'operone chimerico si esprimono regolarmente e che *touA* agisce come dominante negativo sull'attività della T4MO.

In seguito si è concentrata l'attenzione su altre due subunità: la subunità D della quale si presume che possa agire come effettore catalitico e la subunità B che è parte del complesso idrossilasico H. Non si sono prese in considerazione le subunità C ed F perchè svolgono funzione di trasporto elettronico.

Gli enzimi chimerici sono stati ottenuti esprimendo in *trans* gli opportuni geni *tou* e *tmo* e ne è stata saggiata l'attività ossigenasica mediante un saggio colorimetrico qualitativo, utilizzando come substrato generico l'indolo. TmoD è risultato in grado di complementare il mutante *touD*<sup>-</sup>, mentre *tmoB* non complementa il mutante *touB*<sup>-</sup>. Gli enzimi chimerici verranno quindi saggiati per determinarne l'attività specifica e lo spettro di substrato.

---

### 13. Studio dell'attivazione del promotore *Ptomo*

Paola Barbieri, Dafne Solera

La toluene-o-xilene monoossigenasi di *Pseudomonas stutzeri* OX1 viene espressa dal promotore sigma54-dipendente *Ptomo* posto il controllo dell'attivatore trascrizionale NtrC-like TouR. Contrariamente a quanto avviene per gli altri attivatori trascrizionali appartenenti alla stessa famiglia che promuovono la trascrizione solo in seguito al legame con un effettore, TouR è in grado di attivare la trascrizione dal *Ptomo* in assenza di effettore. Questa attivazione gratuita avviene solo alla transizione della coltura dalla fase esponenziale alla fase stazionaria. Abbiamo verificato che durante la crescita della coltura TouR non subisce modificazioni covalenti e abbiamo iniziato la dissezione genetica di TouR per verificare se fosse possibile individuare il/i domini necessari e sufficienti per imporre questo fenomeno. I dati ottenuti suggeriscono che i domini A e B possano svolgere un ruolo importante nel fenomeno.

Poiché l'attivazione effettore-indipendente del *Ptomo* avviene solo alla transizione alla fase stazionaria abbiamo ritenuto opportuno condurre un'indagine mirata ad individuare il segnale specifico che lega lo scatenarsi del fenomeno in oggetto alle condizioni fisiologiche generali della coltura. Abbiamo potuto escludere il coinvolgimento del fattore specifico della fase stazionaria sigma s e stiamo verificando l'effetto dell'esaurimento di specifici nutrienti.

---

### 14. Degradazione del 4-clorotoluene in coculture *Pseudomonas-Arthrobacter*

Paola Barbieri, Francesca Radice

I clorotolueni sono composti ricalcitranti che possono essere degradati in modo naturale da un ristretto numero di microrganismi. La loro degradazione è invece più spesso possibile attraverso l'uso di microrganismi ingegnerizzati in cui la via degradativa periferica che converte i clorotolueni a clorocatecoli è combinata con una via modificata che porta alla successiva degradazione dei clorocatecoli attraverso l'apertura dell'anello in modalità intra-diolo (ortho-pathway). Questo perché i clorocatecoli sono tossici per le cellule batteriche, e, se vengono processati attraverso la via più diffusa di apertura dell'anello in modalità extra-diolo (meta-pathway) comune anche alla degradazione dei metilbenzeni, portano alla morte cellulare.

Il ceppo *Arthrobacter ramosus* FG1 è stato isolato per la sua capacità di utilizzare l'acido 4-clorobenzoico come unica fonte di carbonio e di energia. La prima tappa della via catabolica consiste nella dealogenazione della molecola che porta alla formazione dell'acido 4-clorobenzoico, un composto che può essere utilizzato da numerosi ceppi batterici differenti. Questa capacità può

essere sfruttata per disegnare una nuova via per la degradazione dei clorotolueni che non porta alla formazione del clorocatecoli, poiché il cloro può essere allontanato prima della loro formazione. Per verificare l'effettiva applicabilità di questa strategia sono stati condotti esperimenti in due fasi e in coculture.

Negli esperimenti in due fasi il 4-clorotoluene è stato fornito dapprima a colture del ceppo *P. putida* KT2442 (upper TOL) e si è verificata la formazione dell'acido 4-clorobenzoico. In seguito i brodi esausti di *P. putida* KT2442 (upper TOL) sono stati forniti a colture di *A. ramosus* FG1: si è quindi osservato che essi supportano la crescita di *A. ramosus* e che l'acido 4-clorobenzoico precedentemente accumulato scompare completamente dal mezzo.

Coculture di *A. ramosus* FG1 – *P. putida* KT2442 (upper TOL) sono risultate in grado di utilizzare il 4-clorotoluene fornito come unica fonte di carbonio ed energia. L'analisi HPLC dei brodi di coltura ha rivelato un progressivo e transiente accumulo di acido 4-clorobenzoico che viene completamente esaurito quando le coculture entrano in fase stazionaria.

E' stata quindi messa a punto una strategia per clonare i geni codificanti per il complesso enzimatico della dealogenasi di *A. ramosus* FG1 in *P. putida* KT2442 con lo scopo finale di creare un ceppo ricombinante di *Pseudomonas* capace di mineralizzare il 4-clorotoluene. Il DNA genomico di *A. ramosus* FG1 è stato amplificato con una coppia di primer disegnati sulla base di un allineamento delle sequenze nucleotidiche dei geni per la dealogenasi di altri ceppi di *Arthrobacter*. E' stato così ottenuto un amplificato di 3 kb che è stato poi clonato nel vettore shuttle *E. coli* - *P. putida* pJB3KMD, originando il plasmide denominato pDH2. Quest'ultimo, espresso in cellule di *P. putida* KT2442 (upper TOL) non è risultato in grado di conferire la capacità di crescere sull'acido 4-clorobenzoico. Sono attualmente in corso il sequenziamento del frammento amplificato ed esperimenti volti a verificare l'espressione genica e l'attività enzimatica dei geni clonati.

---

## **15. Struttura del Gene dell'Allantoicasi nei Mammiferi**

*DAVIDE VIGETTI, CLAUDIO MONETTI, SIMONA RIMOLDI, STEFANO BOSISIO, ROSALBA GORNATI, MARIANGELA PRATI, GIOVANNI BERNARDINI*

Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Università degli Studi dell'Insubria, Varese.

Il catabolismo delle basi azotate puriniche porta alla formazione di xantina che, ad opera della xantina deidrogenasi, è convertita ad acido urico. Questa via enzimatica è conservata in tutti i vertebrati mentre la successiva degradazione dell'acido urico viene progressivamente persa durante l'evoluzione. L'uomo (insieme ad altri Pongidi) elimina, come i Rettili e gli Uccelli, acido urico, mentre gli altri Mammiferi escretano allantoina. Gli anfibi possiedono l'intera via catabolica ed eliminano CO<sub>2</sub> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. I pesci, invece, presentano un quadro più complesso e ancora poco chiaro. Recentemente, oltre al cDNA dell'enzima allantoicasi dell'anfibio *Xenopus laevis*, abbiamo clonato il cDNA dell'allantoicasi di uomo e di topo e studiato l'organizzazione genica. Abbiamo overespresso in E.C. i trascritti di X.l e topo e studiato i parametri enzimatici. Stiamo ora investigando la presenza e l'eventuale funzione di questo gene durante la filogenesi da Ciona all'uomo.

---

## **16. Caratterizzazione della Sperm Protein 22 (SP22) in *Xenopus laevis*.**

*Monetti Claudio, Vigetti Davide, Rosalba Gornati, Mariangela Prati Giovanni Bernardini.*

La Sperm Protein 22 (SP22) è una proteina, scoperta nel ratto dove è stata correlata alla fertilità del maschio; infatti si è osservata una netta diminuzione di SP22 in spermatozoi di ratti trattati con agenti chimici in grado di causare sterilità. Omologhi di SP22 sono stati clonati anche in uomo e topo e la sequenza nucleotidica appare molto conservata.

Utilizzando un anticorpo policlonale contro SP22 di ratto abbiamo intrapreso la caratterizzazione di questa proteina nello *Xenopus laevis*, organismo modello utilizzato nel nostro laboratorio principalmente in test tossicologici e teratogenici (FETAX). Nella maggior parte dei tessuti adulti di *Xenopus laevis*, tranne che in cervello, intestino e polmone, l'anticorpo riconosce, mediante western blot, una singola banda di peso molecolare apparente di 25 kDa attribuibile alla SP22.

Successivamente abbiamo clonato il cDNA della SP22 di *Xenopus*, contenente una Open Reading Frame codificante per una proteina di 189 aminoacidi.

Tramite RT-PCR abbiamo studiato l'espressione del gene della SP22 nei tessuti adulti di *Xenopus laevis* confermando così i risultati del western blot.

L'importanza di SP22 per la fertilità degli spermatozoi non è ancora stata chiarita anche se diverse ipotesi sono state proposte; la disponibilità di un organismo quale *Xenopus* per lo studio di questa proteina potrebbe pertanto facilitare la comprensione del suo ruolo.

---

## **17. XENOPUS TROPICALIS: UN MODELLO ALTERNATIVO ALLO XENOPUS LAEVIS**

R. Gornati, G. Bernardini, C. Monetti, D. Vigetti, S. Bellineto, S. Bosisio and M. Prati  
Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale Università degli Studi dell' Insubria, Varese.

Lo *Xenopus tropicalis* differisce dallo *Xenopus laevis* in piccole ma importanti caratteristiche quali la sua ridotta dimensione, il corredo genetico diploide e il più rapido tempo di sviluppo. Soprattutto quest'ultima caratteristica dello *X. tropicalis* permette una migliore programmazione dei test di teratogenesi riducendo il tempo di esposizione da 120 h a 70 h a parità di stadio di sviluppo. Il suo più rapido tempo di sviluppo, associato al patrimonio genetico diploide, favorisce inoltre la possibilità di ottenere nuove generazioni rendendo più favorevoli le condizioni per condurre studi genetici.

Alla luce di queste conoscenze, abbiamo ritenuto opportuno verificare le potenzialità dello *X. tropicalis* come alternativa allo *X. laevis* nel FETAX (Frog Embryo Teratogenesis Assay in *Xenopus*). La ricerca è cominciata confrontando la velocità di sviluppo nelle due specie; quindi abbiamo esposto sia gli embrioni di *X. tropicalis* che quelli di *X. laevis* a tre differenti formulazioni di arsenico ( $\text{NaAsO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$  and  $(\text{CH}_3)_2\text{AsOOH}$ ). Le due specie di *Xenopus* hanno entrambe mostrato una risposta concentrazione dipendente, per tutti e tre i composti saggiati, secondo il seguente ordine di tossicità: arsenito > arsenato > dimetilarsenico. Inoltre, *X. tropicalis* è risultato essere molto più sensibile di *X. laevis*. Il rapporto  $\text{LC}_{50}/\text{TC}_{50}$  non ha mostrato un chiaro rischio teratogeno per entrambe le specie modello e per tutte tre le specie chimiche; infatti le prime malformazioni sono state rilevate a concentrazioni già chiaramente embriofetali. Nonostante ciò in *X. tropicalis* abbiamo potuto osservare alterazioni a livello del SNC come anche riportato in letteratura da studi condotti sui mammiferi; questo potrebbe essere un notevole vantaggio nell'impiego dello *X. tropicalis*.

Uno dei vantaggi del FETAX è che può essere affiancato da ulteriori tecniche analitiche; questo ci ha permesso anche di studiare gli effetti dell'arsenico sull'espressione genica, indotta da stress, di alcune proteine come le metallothioneine e le heat shock proteins.

Da tutti i dati sperimentali ottenuti è possibile ritenere che lo *Xenopus tropicalis* possa essere una valida alternativa allo *Xenopus laevis*.

## 18. RICERCA DI BIOMARCATORI UTILIZZANDO COME MODELLO SPERIMENTALE

### *Dicentrarchus labrax*

R. Gornati, S. Gualdoni, R. Cavaliere, M. Prati, G. Bernardini,

Questo progetto è una linea di ricerca aperta verso la fine dell'anno 2001 con il proposito di affrontare dal punto di vista biologico-molecolare il benessere dei pesci in acquacoltura. Si può considerare la densità di popolazione una causa di stress con conseguente modificazione nell'espressione di alcuni geni i quali possono essere usati come biomarcatori per rilevare velocemente, attraverso reazioni di PCR, l'esposizione del pesce allo stress.

In questo contesto, lo scopo del lavoro di ricerca è iniziato valutando la variazione di espressione di alcuni geni notoriamente indotti da stress come le heat shock protein 90 e 70, la citocromo p450 monossigenasi, e le metallotioneine in tessuti di *Dicentrarchus labrax* sottoposto a stress causato da un aumento di biomassa / m<sup>3</sup> di acqua. La ricerca sta attualmente procedendo, mediante la tecnica del Differential Display; con la ricerca di biomarcatori molecolari, specifici per un certo tipo di stress, valutando l'espressione di mRNA di campioni costituiti da pools di tessuti di pesci allevati in differenti condizioni di biomassa.

Questa strategia ci ha già permesso di ottenere 3 bande differenzialmente espresse, le cui sequenze sono state depositate in banca dati.

Alla luce dei risultati ottenuti si può ritenere che le tecniche di biologia molecolare troveranno applicazioni negli studi di acquacoltura per il monitoraggio del benessere animale, anche se la scarsità delle risorse genomiche per alcune specie di pesci, nonostante il loro interesse economico, potrebbe rallentare l'impiego di queste moderne tecnologie.

Questo progetto di ricerca intende quindi continuare non solo valutando altri campioni per confermare la riproducibilità dei dati fin'ora ottenuti, ma anche verificare se le bande differenzialmente espresse siano stress e/o organo specifiche. Allo scopo verranno analizzati, con le stesse tecniche sopra riportate, fegati di branzini sottoposti ad altri tipi di stress (p.e. ipossia, iperossia) e altri tessuti (p.e.: cervello, branchie).

Rientra nello sviluppo di questo progetto anche compiere uno sforzo per colmare il divario di informazioni molecolari che separa le specie di pesce di allevamento dagli "organismi modello" quali *Danio rerio* e *Fugu Rubripes* mediante la costruzione di cDNA libraries che potranno facilitare il compito di ottenere sequenze geniche da inserire nelle banche dati.

---

## 19. Sintesi di nuovi fotocatalizzatori ed attività su cellule tumorali: approccio alla terapia fotodinamica dei tumori

S. Banfi<sup>1</sup>, E. Caruso<sup>1</sup>, E. Monti<sup>2</sup>, M. Gariboldi<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> DBSF Via H. J. Dunant, 3 – Varese

<sup>2</sup> DBSF Via A. da Giussano, 10 – Busto Arsizio

La terapia fotodinamica (PDT) applicata ai tumori è un'importante alternativa alle classiche cure antitumorali, ed è particolarmente adatta per tumori della pelle o, in genere, per quelle forme tumorali situate in zone raggiungibili endoscopicamente. La PDT si basa infatti sull'attivazione di particolari sostanze, precedentemente somministrate per via endovenosa o topicamente, ottenuta per irradiazione con un fascio di luce ad opportuna lunghezza d'onda ed intensità. In seguito all'effetto della luce, il *fotocatalizzatore* assorbe energia e passa in uno stato eccitato; il ritorno allo stato fondamentale avviene per trasferimento dell'energia all'ossigeno molecolare che genera delle specie radicaliche

dell'ossigeno (ROS) capaci a loro volta di ossidare ogni tipo di molecola che si trovi a breve distanza dal centro dove è stato generato. In questo modo, solo i tessuti che contengono il fotosensibilizzante e che sono opportunamente irradiati vengono distrutti dall'azione combinata della luce e del catalizzatore.

Nella letteratura degli ultimi vent'anni si trovano molti esempi di molecole, quali porfirine, clorine e ftalocianine, studiate per la PDT; tuttavia, fino ad oggi, solo poche sostanze sono usate a scopo terapeutico e/o diagnostico. Tra queste una sostanza (nome commerciale di Photofrin), che è una miscela di clorine ottenute per solfonazione della ematoporfirina, è quella che ha ottenuto per prima l'approvazione della FDA che, tuttavia, presenta ancora delle caratteristiche che limitano il suo impiego, vale a dire: a) un'estesa fotosensibilizzazione della pelle, b) la scarsa capacità di assorbire radiazioni nella zona del rosso e c) il fatto stesso che sia una miscela di sostanze e non un composto puro.

Nel laboratorio di chimica organica ci siamo occupati della sintesi di tetraaril- e diaril-porfirine, clorine e di ftalocianine; la loro attività come fotosensibilizzanti è valutata, in collaborazione con il gruppo di farmacologia del dipartimento, *in vitro*, su cellule HCT116 e sulle HCT116E6. Alcune sostanze sono risultate molto più attive rispetto al Photofrin.

L'attività è stata valutata incubando le cellule per 24 ore con i fotosensibilizzanti, a concentrazioni comprese tra 1 e 500 ng/ml, sostituzione del terreno con PBS seguita da irraggiamento con luce bianca (proiettore per diapositive con lampada da 150 W; intensità  $0.07 \text{ mW} \times \text{cm}^{-2}$ ) per 3 ore per un'energia totale di circa  $250 \text{ mJ} \times \text{cm}^{-2} \times \text{s}^{-1} \times \text{nm}^{-1}$ . Successivamente si rigenera il terreno originale e la sopravvivenza delle cellule è valutata con test MTT dopo 24 ore.

---

## 20. PROGETTAZIONE E SINTESI DI NUOVI LEGANTI POLIFUNZIONALI PER LA COSTRUZIONE DI NETWORKS DI COORDINAZIONE.

Stefano Banfi\*, Lucia Carlucci\*, Gianfranco Ciani<sup>§</sup>, Enrico Caruso\*, Davide M. Proserpio<sup>§</sup>

\* DBSF, Università dell'Insubria

§ DCSSI, Università di Milano

L'interesse verso la progettazione e costruzione di nuovi networks polimerici di coordinazione ha avuto un notevole incremento negli ultimi anni. La scelta opportuna della geometria del legante e delle proprietà coordinative del centro metallico può essere usata come strategia per controllare il processo di self-assembly verso strutture con proprietà stabilite. Leganti bidentati, con lunghezza variabile fra i due centri coordinativi, possono essere usati per controllare le dimensioni delle cavità di networks nanoporosi; leganti polifunzionali possono servire sia per la costruzione di building-blocks sia per il networking. Sono stati preparati cinque nuovi leganti bidentati lunghi con diverso grado di flessibilità in cui una unità centrale aromatica è connessa a gruppi piridinici attraverso legami di tipo etereo [4,4'-bis(piridil-4metossi)bifenile ( $L^5$ ) e 1,5-bis(piridil-4metossi)naftalene ( $L^3$ )], carbonilico [1,4-fenilenebis(4-piridil-metanone) ( $L^1$ )], estereo [bis(4-piridil)tereftalato ( $L^2$ )] ed etilenico [1,4-bis[2-(4-piridil)etenil]benzene ( $L^4$ )]. L'utilizzo di questi nuovi leganti, nell'ambito del self-assembly di polimeri di coordinazione aventi una separazione metallo-metallo grande, ha portato all'isolamento di cinque composti con il cobalto nitrato ed uno con lo zinco triflato che presentano differenti motivi strutturali. I composti  $[\text{Co}(L^2)(\text{NO}_3)_2(\text{MeCN})] \cdot \text{MeCN}$  e  $[\text{Co}(L^5)(\text{NO}_3)_2]$  sono costituiti rispettivamente da catene lineari (periodo di 19.64 Å) ed a zig-zag (periodo di 38.65 Å). Motivi polimerici 3D e 2D sostenuti da legami sia coordinativi sia di idrogeno sono rispettivamente riscontrati nelle due specie  $[\text{Zn}(L^1)(\text{H}_2\text{O})_4](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2 \cdot (L^1)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Co}(L^4)_2(\text{H}_2\text{O})_4](\text{NO}_3)_2 \cdot (L^4)_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_8$ . Il

composto  $[\text{Co}(\text{L}^1)_2(\text{NO}_3)_2] \cdot (\text{CH}_2\text{Cl}_2)_2$  presenta piani 2D a maglie quadrate mentre il composto  $[\text{Co}_2(\text{L}^2)_4(\text{NO}_3)_4] \cdot (\text{CH}_3)_2\text{CO}$  contiene unità dimeriche eccezionalmente lunghe (62.84 Å) costituite da anelli a 42 membri aventi un legante monodentato per metallo.

---

## **21. Attività di ricerca del Laboratorio di Biologia degli Invertebrati**

Roberto Valvassori, Magda de Eguileor, Annalisa Grimaldi Giulio, Lanzavecchia Gianluca Tettamanti, MariaLuisa Guidali, Roberto Ferrarese, Liliana Rinaldi

Il lavoro del nostro gruppo si articola variamente avvalendosi di differenti collaborazioni nell'ambito dell'Università dell'Insubria, dell'Università della Basilicata, dell'Università degli Studi di Milano, dell'IIGB di Napoli, dell'UCLA e dell'Université des Sciences et Technologie de Lille.

### **\*\* Risposta immunitaria ed angiogenesi negli Irudinei**

Il sistema immunitario degli Irudinei si avvale di risposte complesse ed articolate che ricordano in maniera sorprendente quelle dei vertebrati. Lo studio di queste risposte porta non solo ad una conoscenza di base ma può essere finalizzato a ricerche di tipo applicativo.

### **\*\* Nuovi insetticidi naturali da insetti parassitoidi**

Questa ricerca mira ad utilizzare la biodiversità come fonte di nuovi prodotti naturali per lo sviluppo di strategie di controllo degli insetti dannosi che rispettino l'ambiente e tutelino la salute dell'uomo e degli organismi animali non-bersaglio.

### **\*\*Muscoli elicoidali**

I muscoli elicoidali, un particolare tipo di muscolo striato, sono tipici di animali a corpo molle. Con differenti approcci se ne studiano sviluppo e differenziamento utilizzando come modelli Anellidi (sanguisughe) e Molluschi (seppie).

---

## **22. Isolamento e studio di fattori di trascrizione di tipo MYB coinvolti nella tolleranza a stress biotici e abiotici in pianta.**

Candida Vannini, Marcella Bracale, Sara Carravieri, Barbara Bernasconi

Il gene *Osmyb4* codifica per un fattore trascrizionale indotto nei coleottili di riso già a 15°C. Nel nostro laboratorio sono state prodotte piante di *Arabidopsis thaliana* omozigoti sovraespressanti costitutivamente il gene *Osmyb4* per valutare il coinvolgimento di tale gene nella tolleranza al freddo. L'analisi Northern ha indicato livelli differenti di trascritto tra le varie piante trasformate. La caratterizzazione morfologica ha messo in evidenza che le piante transgeniche hanno a 23° un fenotipo nano e un ritardo nello sviluppo rispetto alle piante controllo non trasformate. I test per valutare la tolleranza al freddo delle piante trasformate sono stati: **1)** la misura della fluorescenza della clorofilla (come Fv/Fm a 4° e 750  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) usata come indicazione del danno subito dall'apparato fotosintetico; **2)** la fuoriuscita di ioni dalle membrane dopo trattamento al freddo.

I risultati indicano in entrambi i casi una maggior resistenza al freddo nelle piante trasformate rispetto alle piante controllo.

L'analisi dei dati ottenuti da microarray ad alta densità ha messo in evidenza che il gene *Osmyb4* attiva effettivamente geni coinvolti nella risposta a freddo, ma anche, sorprendentemente, a stress biotici. Questi dati sono stati validati per mezzo di analisi Northern e per mezzo di test *in vivo* sulle piante transgeniche

---

### 23. Analisi della tolleranza allo stress salino in vite

Marcella Bracale , Candida Vannini, Paolo Croce, Milena Marsoni, Emanuela Campa

La vite distribuita in circa 60 paesi, occupa una superficie di 10 milioni di ha con una produzione stimata di circa 80 milioni di tonnellate.

Recentemente si è manifestata l'esigenza di ottenere portinnesti con spiccate capacità di resistenza a stress idrico e salino. Questa esigenza nasce dalla necessità di espandere la viticoltura sia in aree costiere della nostra penisola e di paesi extraeuropei (Australia, Nuova Zelanda, Argentina, Sud Africa, ecc.) in cui si utilizzano acque di irrigazione aventi alti livelli di soluti, sia in suoli salmastri nelle zone più interne. Al fine di esaudire tali richieste si stanno cercando gli approcci sperimentali più idonei ad ottenere portinnesti di vite da immettere sul mercato in base alle nuove necessità. Infatti il *breeding* classico non è più sufficiente a coprire tali esigenze soprattutto per una questione di tempi (servono circa 20 anni prima di poter omologare un portinnesto originatosi da una popolazione di semenzali). A tal fine nuovi programmi di *breeding* non potranno prescindere da tecniche di selezione assistita sia per potere accorciare i tempi sia per ottenere risposte molto dettagliate e precise.

La ricerca che stiamo svolgendo prevede due diversi tipi di approccio al problema della tolleranza allo stress idrico e salino:

1. utilizzo di tecniche molecolari come AFLP e MSAP per cercare marcatori molecolari che segregano con il carattere di tolleranza a tali stress allo scopo di individuare loci genetici da utilizzare nella selezione assistita.
2. analisi del profilo proteico per individuare specifiche proteine associate alla risposta a tali stress.

Nell'ambito di questa indagine si sono utilizzati due genotipi , il portainnesto 1103 P (V. berlandieri x V. rupestris) noto per essere resistente allo stress salino e il portainnesto V. vinifera nota invece come sensibile.

---

### 24. Studi sulle flavoproteine ossidasi

Mirella S. Pilone, Loredano Pollegioni, Luciano Piubelli, Gianluca Molla, Angelo Boselli, Silvia Sacchi, Laura Motteran, Laura Caldinelli, Letizia Marcone, Elena Rosini  
Unità di Biochimica delle Proteine - DBSF Via J.H. Dunant, 3 – Varese

Le flavoproteine ossidasi sono una classe ampia di enzimi in grado di ossidare una varietà di substrati, utilizzando l'ossigeno molecolare come accettore finale di elettroni. I flavoenzimi studiati nel nostro laboratorio sono:

1. D-amino acido ossidasi (DAAO): catalizza la deaminazione ossidativa dei D-amino acidi a dare  $\alpha$ -keto acidi ed ammoniaca.
2. Glicina ossidasi (GO): catalizza la deaminazione ossidativa di una varietà di amine (ad esempio, sarcosina e glicina) a dare  $\alpha$ -keto acidi ed ammoniaca/amine primarie.
3. Colesterolo ossidasi (CO): catalizza la deidrogenazione e la isomerizzazione del colesterolo a dare  $\Delta^4$ -5-colesten-3-one.

Gli studi che vengono eseguiti su questi enzimi modello riguardano:

- la determinazione del meccanismo cinetico;
- la determinazione delle proprietà strutturali;
- la determinazione del meccanismo di reazione;
- i rapporti struttura-funzione che modulano la specificità di substrato e la reattività del coenzima FAD;
- il processo di folding/unfolding, in particolare in relazione all'acquisizione/perdita del coenzima.



I principali risultati sono stati ottenuti combinando varie metodologie della moderna biologia strutturale, come la mutagenesi sito-specifica e casuale, la proteolisi limitata, il molecular modelling, la risoluzione della struttura 3D mediante diffrazione ai raggi X, la cinetica allo stato stazionario e prestazionario e varie tecniche spettrofotometriche (UV/Vis, fluorescenza e dicroismo circolare).

---

## **25. Enzimologia industriale: produzione di nuove attività enzimatiche**

*Mirella S. Pilone, Loredano Pollegioni, Gianluca Molla, Simona Lorenzi, Letizia Marcone, Elena Rosini, Silvia Sacchi, Laura Motteran*

*Unità di Biochimica delle Proteine - DBSF Via J.H. Dunant, 3 – Varese*

L'ingegneria proteica è un'area multidisciplinare che in questo momento sta grandemente contribuendo allo straordinario progresso e interesse della biocatalisi industriale. I principali obiettivi dell'ingegneria proteica sono la modulazione di funzioni e/o proprietà enzimatiche esistenti e la progettazione e produzione di nuove attività enzimatiche. I principali enzimi che sono attualmente studiati nel nostro laboratorio sono:

- flavoossidasi
- acilasi
- proteasi

Questi enzimi vengono studiati per caratterizzarne le proprietà di stabilità e di attività, e per svilupparne l'impiego (ad esempio come biocatalizzatori o biosensori). Adatti biocatalizzatori vengono poi prodotti mediante immobilizzazione covalente dell'enzima su matrici solide e messa a punto di un reattore apposito. In alcuni casi lo sviluppo del biocatalizzatore ha richiesto il clonaggio del corrispondente gene per ottenere la sovraespressione della proteina di interesse.

Una particolare attenzione è inoltre posta negli studi che permettono di modificare le caratteristiche native delle proteine mediante due approcci principali: il rational e l'irrational design. Il primo approccio è basato su una conoscenza approfondita delle proprietà strutturali e funzionali dell'enzima oggetto dello studio ed utilizza principalmente la tecnica di mutagenesi sito specifica. Il secondo approccio invece si basa su metodi combinatoriali, ad esempio la tecnica di mutagenesi casuale, al fine di ottenere una libreria di proteine mutanti da cui isolare (mediante un adatto metodo di selezione) quelle con le (nuove) proprietà desiderate.

---

## **26. Studi di proteine umane coinvolte in patologie**

*Loredano Pollegioni, Mirella S. Pilone, Gianluca Molla, Silvia Sacchi*

*Unità di Biochimica delle Proteine - DBSF Via J.H. Dunant, 3 – Varese*

La conoscenza delle basi molecolari di molte patologie umane richiede una approfondita analisi delle proprietà strutturali e funzionali delle proteine (normali e patologiche) coinvolte nello sviluppo della malattia stessa. Attualmente sono tre le proteine umane principalmente oggetto di studio:

- Pipecolato ossidasi (PIPOX): un enzima perossisomiale che interviene nella degradazione della lisina attraverso l'acido L-pipecolico. Sebbene questa sia considerata una via secondaria in molti tessuti, essa rappresenta la via principale di ossidazione della lisina nel cervello. L'interesse per questo enzima nasce dall'osservazione che l'attività enzimatica della PIPOX diminuisce in pazienti con disordini collegati alla biogenesi dei

perossisomi, ad esempio nella sindrome di Zellweger. Nonostante l'importanza di questa attività, l'enzima umano non è stato ancora studiato e, con l'eccezione dello studio del meccanismo di reazione, pochi studi sono disponibili anche su PIPOX da altre fonti, in particolare per quanto riguarda la struttura dell'enzima e la sua funzionalità. A questo riguardo il cDNA codificante per l'enzima PIPOX umano è stato recentemente clonato, la proteina ricombinante è stata espressa in *E. coli* e sarà quindi oggetto di una approfondita caratterizzazione funzionale e strutturale.

- D-amino acido ossidasi (DAAO) e G72: la funzione della DAAO nei mammiferi è ancora oggetto di discussione sebbene recentemente sia stata proposta come l'enzima deputato ad ossidare la D-serina nel cervello. In questo modo la DAAO modula la concentrazione locale della D-serina, il cui legame al sito per la glicina sui recettori per l'NMDA è indispensabile per l'attivazione del recettore stesso da parte del glutammato. La DAAO è stata identificata come il partner che interagisce con una nuova proteina umana (G72 di 153 aminoacidi). Certe combinazioni di alleli di G72 e DAAO aumentano la propensione alla schizofrenia molto più che la somma dei loro effetti singoli (nonadditive-gene interaction). Il legame di G72 alla DAAO ne aumenta significativamente l'attività enzimatica modulando così la concentrazione di D-serina e la neurotrasmissione. A seguito dell'espressione in *E. coli* (e purificazione) di entrambe le proteine DAAO e G72, stiamo procedendo a studiare il processo di legame di queste due proteine utilizzando metodi spettroscopici sia statici che cinetici e l'effetto sulle proprietà cinetiche e sulla struttura della DAAO a seguito dell'interazione con G72.

Gli studi sulla PIPOX dovrebbero permettere una approfondita conoscenza del rapporto struttura-funzione di questa nuova flavoproteina ed aprire la via alla comparazione strutturale e funzionale con forme mutanti da pazienti affetti da diverse patologie perossisomiali. L'obiettivo finale della ricerca sulla DAAO è invece quello di contribuire alla comprensione del ruolo di questo enzima nei mammiferi e di chiarire a livello molecolare il suo coinvolgimento nella schizofrenia.

---

## **27. Meccanismi molecolari alla base della malattia di Parkinson.**

*Manuela Basso, Monica Molteni, Carlo Rossetti, Mauro Fasano*

La malattia di Parkinson (MP) è una malattia neurodegenerativa prevalentemente sporadica, tuttavia la recente identificazione di mutazioni responsabili di forme familiari della MP ha permesso di definire alcune ipotesi eziopatogenetiche. In particolare, due mutazioni puntiformi nel gene dell'alfa-sinucleina hanno messo in evidenza questa proteina che si è rivelata essere un principale componente dei corpi di Lewy. L'espressione della proteina wild-type o mutata in diverse linee cellulari ha dimostrato che la tossicità di questa proteina dipende dalla presenza di dopamina, ed in particolare dalla produzione di specie reattive dell'ossigeno a partire da essa.

La presenza di dopamina (e di tutto il corredo enzimatico necessario per sintesi, trasporto e smaltimento della dopamina), neuromelanina, ed una grande quantità di ioni ferro ad essa legati rende i neuroni dopaminergici della substantia nigra particolarmente suscettibili a condizioni di stress ossidativo che possono venire amplificate dallo stesso sistema ferro-neuromelanina.

A questo scopo, abbiamo considerato l'effetto della dopamina, di fattori anti-ossidanti e di metalli di transizione sulla vitalità di una linea cellulare dopaminergica (neuroblastoma umano SH-SY5Y). L'ossidazione extracellulare della dopamina porta alla formazione di perossido di idrogeno che viene rimosso mediante la presenza di catalasi. L'espressione di alcune proteine marker è stata valutata mediante western blot dopo aver ottimizzato le condizioni di coltura.

Successivamente, la linea SH-SY5Y è stata trasformata ad overesprimere alfa-sinucleina mediante trasfezione con un costrutto per l'espressione in cellule di mammifero. Le cellule stabilmente trasformate sono state isolate in terreno selettivo. Anche in questo caso, le cellule sono state poste in presenza di dopamina e catalasi in presenza di fattori che possono modulare lo stress ossidativo.

Il quadro di espressione proteica è stato valutato, in entrambe le linee cellulari, mediante la metodologia del proteoma. Le proteine estratte sono state separate mediante elettroforesi bidimensionale, colorate ed identificate attraverso opportuni anticorpi o mediante analisi dei peptidi con spettrometria di massa.

---

## **28. Indagini spettroscopiche sull'emalbumina umana.**

*Gabriella Fanali, Mauro Fasano.*

La sieralbumina umana (HSA) costituisce parimenti un sistema paradigmatico di interazione proteina – ligando. Essa è la proteina più abbondante nel siero, e costituisce la principale proteina di deposito e di trasporto per numerose molecole endogene (eme, acidi grassi, bilirubina, ormoni tiroidei) ed esogene. Specifiche regioni della proteina interagiscono con numerosi farmaci, determinandone il metabolismo, la distribuzione e la vita media in circolo. Inoltre, la flessibilità della proteina rende importanti effetti di regolazione allosterica che alterano le reciproche affinità di siti funzionalmente collegati.

Dal punto di vista strutturale, la proteina è formata da tre domini omologhi che formano un caratteristico avvolgimento di alfa-eliche; i tre domini non formano avvolgimenti autonomi, ma si fondono a formare sottodomini compatti che uniscono tratti contigui di sequenza, stabilizzati da ponti disolfuro. Questi sottodomini sono collegati da tratti privi di struttura secondaria, che conferiscono alla proteina un'elevata flessibilità. È noto che la struttura terziaria subisce variazioni conformazionali al variare del pH.

La struttura terziaria della proteina comprende due siti di interazione di ligandi che prendono il nome di siti di Sudlow I e II, ovvero di siti del warfarin e dell'ibuprofene, rispettivamente. Le proprietà allosteriche e di legame della HSA sono state valutate utilizzando l'eme ferrico (ligando endogeno della proteina) come sonda spettroscopica. Il sito di interazione dell'eme è stato ipotizzato sulla base di dati spettroscopici e mediante simulazione di interazione con le strutture cristallografiche depositate in banca dati. Sebbene la simulazione non tenga conto della flessibilità della proteina, è stato possibile mettere in evidenza il ruolo di una tirosina quale legante assiale del ferro. Sulla base dei dati spettroscopici, il centro metallico risulta essere esacoordinato e ad alto spin, sebbene una componente minoritaria a basso spin sia presente. Successivamente è stata riportata la struttura cristallografica dell'emalbumina umana, mostrando un sito primario nel sottodominio IB, in prossimità del sito di legame del warfarin. In questa struttura il ferro è pentacoordinato, con una tirosina come legante assiale.

---

## **29. ruolo di PML/RAR nel rimodellamento della cromatina**

*Biologia molecolare*

La leucemia promielocitica acuta (APL) è caratterizzata da un'alterazione dei processi di maturazione dei precursori granulocitici, bloccati allo stadio promielocitico. Questi precursori esprimono una forma mutata del recettore per gli acidi retinoici (RAR), conseguenza di traslocazioni cromosomiche che coinvolgono il corrispondente locus genico. Frequentemente RAR è fuso a PML; la proteina di fusione risultante, PML/RAR, è overespressa nei precursori immaturi ed è responsabile del loro fenotipo trasformante.

L'attività di RAR/RXR è influenzata dalla presenza o assenza di acido retinico (RA). Infatti, in assenza del suo ligando, l'eterodimero recluta, sull'elemento responsivo, un complesso formato dal corepressore nucleare (N-CoR) e una iston deacetilasi (HDAC). Ciò suggerisce che RAR/RXR determina il silenziamento dei geni bersaglio alterando la struttura cromatinica. In seguito all'aggiunta dell'ormone RA il complesso repressivo viene allontanato ed il recettore si associa con un complesso attivatore contenente una iston-acetil transferasi (HAT). Tale complesso elimina l'effetto soppressivo della HDAC e diminuendo l'affinità degli istoni per il DNA, permette un rimodellamento della cromatina inducendo, di conseguenza, l'attività trascrizionale. Gli studi compiuti concordano sulla possibilità che alla base della APL ci sia una deregolazione delle proprietà trascrizionali di RAR. In particolare, PML/RAR sembra causare l'insorgenza di APL attraverso una costitutiva repressione dei bersagli di RAR/RXR a causa di una persistente interazione con N-CoR/HDAC. In accordo con ciò è stato dimostrato che PML/RAR interagisce fortemente con N-CoR/HDAC quando RA è assente o in quantità sub-fisiologiche. Soltanto dosi farmacologiche permettono il distacco della deacetilasi dall'oncogene. Scopo di questo progetto di ricerca è quello di studiare il ruolo di PML/RAR nel rimodellamento della cromatina e nella regolazione della trascrizione; la ricerca viene compiuta utilizzando principalmente, come modello sperimentale, gli oociti di *Xenopus*. In particolare, recentemente abbiamo dimostrato che PML/RAR è un migliore repressore trascrizionale di RAR, capace di imporre alla cromatina una conformazione significativamente più condensata anche in presenza di dosi farmacologiche di RA. Inoltre anche in presenza del ligando, PML/RAR si è rilevato un peggiore attivatore trascrizionale. Nell'immediato futuro è nostra intenzione valutare se PML/RAR sia capace di inibire la trascrizione a distanza ed inoltre valuteremo la capacità della proteina di modificare la struttura della cromatina e le modificazioni post-traduzionali degli istoni assemblati sia sulle zone regolative che su quelle non regolative poste in zone distali rispetto ai siti di legame della proteina oncogenica. Infine, utilizzando un approccio TAP adattato agli oociti di *Xenopus*, ci interessiamo di confrontare le proteine interagenti con PML/RAR da quelle interagenti con RAR, sia in presenza che in assenza di RA.

---

### **30. identificazione e caratterizzazione di nuove proteine interagenti con MeCP2: fattore chiave nell'insorgenza della sindrome di Rett.**

#### *Biologia molecolare*

La sindrome di Rett (RTT) è un grave difetto neuro-differenziativo che colpisce prevalentemente le femmine con un'incidenza di un caso ogni 15000 nascite, risultando, di conseguenza, la seconda causa più comune di ritardo mentale nel sesso femminile. Gli individui affetti presentano uno sviluppo normale per i primi 6-18 mesi della loro esistenza e solo successivamente manifestano la malattia caratterizzata da microcefalia post-natale, perdita della parola, della deambulazione, della coordinazione dei movimenti, riduzione della socialità con manifestazioni autistiche ed anomalie della respirazione. Le basi molecolari della RTT sono rimaste a lungo sconosciute e solo nel 1999 il gene MECP2 (Methyl CpG binding protein 2), codificante per una proteina che lega specificamente il DNA metilato, è stato identificato come la causa molecolare di questa sindrome. MECP2 codifica per una proteina nucleare espressa in molti tessuti ed in particolare modo nel cervello. La proteina contiene due principali domini funzionali: un dominio di legame al DNA metilato (MBD) ed uno di repressione trascrizionale (TRD), capace di silenziare l'espressione genica quando portato artificialmente sul DNA. MeCP2 si lega specificamente al DNA metilato attraverso il suo MBD e recluta, tramite il TRD, un complesso di silenziamento trascrizionale che porta alla formazione di una struttura

cromatinica estremamente condensata, e quindi inaccessibile all'apparato trascrizionale. Recenti pubblicazioni riportano la generazione di topi knock-out per MeCP2 e di un mutante condizionale in cui l'eliminazione di MeCP2 è limitata al cervello. I topi alla nascita sono vitali e privi di qualunque fenotipo ma successivamente sviluppano manifestazioni cliniche simili alla RTT. E' interessante notare che la delezione mirata di MECP2 nei soli neuroni post-mitotici del cervello causa un fenotipo molto simile a quello osservato nei topi knock-out. Ciò indica che MeCP2 è importante per il mantenimento della funzione neuronale, ancor più che per il suo sviluppo. A tutt'oggi mutazioni nel gene che codifica per MeCP2 sono state trovate nel 70-80% dei pazienti affetti da RTT sporadica e nel 40-50% dei casi famigliari. Nelle femmine RTT sono stati identificati tutti i tipi di mutazioni: puntiformi (missenso, non-senso), frameshift, piccole e grandi delezioni ed alcune mutazioni che interessano i siti di splicing. Se la scoperta di mutazioni nel gene che codifica per MeCP2 ha fornito una spiegazione genetica per l'insorgenza di questa sindrome, ha anche aperto molteplici domande relative al meccanismo molecolare responsabile di questa patologia. Poiché il modello più accreditato sulla funzione biologica di MeCP2 ipotizza che questa proteina funzioni come globale repressore dell'espressione genica, probabilmente importante per ridurre "il rumore trascrizionale di fondo" dell'intero genoma, è stato ipotizzato che la RTT sia la causa di un difetto nel silenziamento genico. Per questo motivo i trascrittomi di topi wild-type e mutanti in MeCP2 sono stati comparati: inaspettatamente, è stato trovato che la mancanza di MeCP2 nei cervelli mutati porta a minime modificazioni dell'espressione genica. Di fatto anche se un difetto generale nel silenziamento genico è ancora una possibile causa di questa malattia, altri modelli devono essere invocati per giustificare l'insorgenza. Da quanto detto emerge chiaramente come il reale meccanismo molecolare responsabile di questa patologia sia ancora del tutto sconosciuto; inoltre, poiché non esiste una correlazione tra genotipo e fenotipo, appare chiaro come altri loci, diversi da MECP2, possano influenzare la severità della malattia. Infine, rimane ancora del tutto ignota la causa della RTT in quella frazione di pazienti (25%) che presenta un normale gene per MeCP2; bisogna quindi ipotizzare il coinvolgimento di una regolazione post-trascrizionale della medesima proteina o mutazioni in diversi loci, che probabilmente influenzano lo stesso sistema di inattivazione genica. L'obiettivo generale della ricerca da noi intrapresa è quello di identificare e caratterizzare molecolarmente e funzionalmente nuove proteine capaci di interagire con MeCP2. In particolare, ci stiamo occupando di meglio comprendere le modalità d'interazione e il ruolo biologico dell'interazione di tre proteine capaci di associarsi specificamente con MeCP2. Di queste una sembra coinvolta nella regolazione del turn-over della methyl-binding protein, la seconda nella localizzazione nucleare del DNA associato con MeCP2 e la terza nella repressione trascrizionale. Infine mediante two-hybrid screening in lievito ci stiamo occupando dell'isolamento di nuovi interattori.

---

### **31. Le attività di ricerca dell'Unità di Analisi e Gestione delle Biocenosi**

*Guido TOSI, Bruno CERABOLINI, Adriano MARTINOLI, Guido BRUSA, Roberta M. CERIANI, Rossella DE ANDREIS, Alessandra GAGLIARDI, Davide PERINI, Damiano G. PREATONI, Barbara RAIMONDI, Clara TATTONI, Ilaria TRIZIO.*

Temi centrali delle attività di ricerca dell'UAGB sono l'individuazione e la sperimentazione di approcci innovativi all'analisi ed al monitoraggio della biodiversità, quali strumenti di supporto decisionale per la definizione di strategie di conservazione e utilizzo sostenibile delle risorse naturali. Le ricerche in atto si focalizzano su tematiche quali l'identificazione e la quantificazione delle influenze di variabili ambientali sulla distribuzione di fauna e

vegetazione, sulla dinamica di popolazione, sulle preferenze di *habitat* e sulla biologia della riproduzione di specie di particolare interesse conservazionistico. Di grande importanza risultano i temi legati alla biologia della conservazione di specie rare, minacciate o di interesse gestionale.

Le ricerche condotte dall'UAGB vengono incentrate su ecosistemi alpini, prealpini e mediterranei in Italia, e forestali e di savana in Tanzania, finalizzate all'analisi di struttura ed interazioni delle comunità animali e vegetali, alla realizzazione di modelli di distribuzione e dinamica di popolazione per la predizione dell'idoneità ambientale e della predizione dei potenziali effetti dei cambiamenti climatici sulla biodiversità. Un ulteriore approccio ai predetti temi è la caratterizzazione biomolecolare di specie mediante tecniche quali RAPDs, microsattelliti, AFLP che consentono la discriminazione tra specie sorelle o la quantificazione della variabilità entro e tra popolazioni. Tali attività di ricerca prevedono sovente anche un aspetto applicativo quale realizzazione di cartografie ambientali, formulazione di scenari relativi a *status*, potenzialità e rischi per le risorse naturali, valutazioni di impatto ambientale in relazione a grandi strutture (autostrade, dighe, aeroporti, ecc.), opere di pianificazione territoriale, redazione e realizzazione di piani e programmi di conservazione, gestione e utilizzo sostenibile delle risorse naturali o di interventi di recupero e miglioramento ambientale.

---

### **32. Le attività di ricerca dell'Unità di Analisi e Gestione delle Biocenosi in ambito faunistico**

*Adriano MARTINOLI, Damiano G. PREATONI, Barbara BADIELLO, Alessandra GAGLIARDI, Clara TATTONI, Ilaria TRIZIO, Guido TOSI.*

I progetti di ricerca in ambito faunistico sono riconducibili a cinque settori principali: 1-quantificazione delle influenze di variabili ambientali e di interazioni *intra* ed *inter* specifiche sulla distribuzione di Vertebrati; 2-definizione di strategie di conservazione; 3-caratterizzazione genetica di specie mediante tecniche molecolari; 4-realizzazione di modelli; 5-analisi e monitoraggio della biodiversità in ambienti tropicali. Nel dettaglio, i progetti di ricerca in corso, prevedono un approccio di sperimentazione in natura o in laboratorio, di verifica e validazione dei dati raccolti ed eventualmente di progettazione di interventi applicativi. Le ricerche condotte attualmente sono focalizzate sulla conservazione della biodiversità delle foreste alpine mediante interventi di gestione integrata della componente faunistica che si pone l'obiettivo di massimizzare la biodiversità in ambito forestale, finalità che prevede una interazione sia sperimentale sia applicativa con i botanici. Nell'ambito di tale settore rientra anche il progetto volto alla definizione delle interazioni di alcune specie dell'avifauna acquatica sull'ittiofauna dei corpi idrici dell'Insubria con l'obiettivo di quantificare i flussi tra le diverse componenti e di valutare l'influenza di alcuni fattori abiotici. Nell'ambito degli aspetti più strettamente finalizzati al recupero di componenti faunistiche particolarmente rare o minacciate, agendo anche sul contesto ambientale, è in corso un progetto di reintroduzione dell'Orso bruno sulle alpi centrali che si prefigge lo scopo di ristabilire una popolazione vitale della specie. Analogamente, le ricerche in corso sui Chiroteri, attraverso l'identificazione dei fattori limitanti e la sperimentazione di specifici interventi ambientali, si prefiggono di ristabilire le consistenze delle popolazioni di specie in regresso. Quale strumento trasversale di sintesi e rielaborazione dei dati raccolti viene utilizzata la modellistica, anche con finalità predittive.

### **33. Le attività di ricerca dell'Unità di Analisi e Gestione delle Biocenosi in ambito floristico-vegetazionale**

*Bruno CERABOLINI, Guido BRUSA, Roberta M. CERIANI, Rossella DE ANDREIS, Davide PERINI, Barbara RAIMONDI, Guido TOSI.*

I progetti di ricerca in ambito floristico-vegetazionale sono riconducibili a quattro settori principali: 1- analisi e monitoraggio della biodiversità in ambienti prealpini ed alpini; 2- caratterizzazione genetica di popolazioni mediante tecniche biomolecolari; 3- formalizzazione delle interazioni strutturali e funzionali specie-*habitat*-utilizzo antropico del territorio; 4- realizzazione di modelli. I progetti in corso, a partire dalla raccolta e verifica di dati sperimentali sia in laboratorio sia in natura, mirano anche ad elaborare metodologie e strumenti applicativi di interesse conservazionistico e gestionale. L'analisi e il monitoraggio della biodiversità prevedono diverse fasi quali, la stima della diversità floristica esistente, l'individuazione dei tipi funzionali presenti e la raccolta di dati riproduttivi e in particolare *test* di germinabilità di oltre 200 specie. Particolare attenzione viene rivolta a specie rare, endemiche o minacciate. A tale proposito le analisi di campo e di laboratorio sono affiancate da tecniche specifiche di biologia molecolare, allo scopo di valutare la diversità genetica entro e tra popolazioni. Il risvolto applicativo di tali indagini consiste nella messa a punto di tecniche di coltivazione floro-vivaistiche di specie autoctone di interesse ambientale e nella coltivazione *in vitro* di specie minacciate o di interesse conservazionistico. Gli studi legati alle interazioni strutturali e funzionali specie-*habitat*-utilizzo antropico del territorio, eseguiti in contesti forestali dell'arco alpino italiano, vengono impiegati anche per la formulazione di scenari e la definizione di opzioni di gestione nell'ambito di piani di conservazione e di sviluppo sostenibile. L'approccio modellistico, concentrato principalmente sull'ottenimento di un modello bioclimatico georeferenziato, per l'individuazione della vegetazione naturale potenziale, prevede risvolti applicativi quale ad esempio la valutazione degli effetti del cambiamento climatico globale.

---

### **34. CARATTERIZZAZIONE DI RNASE6PL, UN PUTATIVO GENE ONCOSOPPRESSORE UMANO.**

*Francesco Acquati, Marco Giorgio Bianchi, Raffaella Cinquetti, Paola Campomenosi, Silvana Bardelli, Diego Negri, Sara Castiglioni, Silvia Salis, Laura Monti, Valentina Chini, Antonella Russo, Laura Possati, G. Barbanti-Brodano e Roberto Taramelli.*

La regione cromosomica 6q27, localizzata tra i marcatori genetici D6S297 e D6S193, risulta frequentemente deleta o riarrangiata in tumori solidi umani quali carcinomi dell'ovaio, della mammella, dello stomaco, del rene e nei linfomi non Hodgkin. Il gene RNASET2 da noi identificato codifica per una ribonucleasi extracellulare appartenente alla famiglia delle RNasi Rh/T2/S, i cui membri sono presenti in tutti gli organismi finora analizzati. Abbiamo dimostrato che tale gene è ipoespresso o non espresso in una frazione significativa di tumori e linee cellulari di derivazione ovarica, e una volta introdotto in linee cellulari tumorali ovariche induce scomparsa del fenotipo tumorale e abolizione del potere metastatizzante. Tali evidenze suggeriscono che RNASET2 possa rappresentare un gene oncosoppressore di classe II. Il nostro gruppo si propone di definire le relazioni struttura-funzione e di caratterizzare i meccanismi (biochimici, fisiologici e biologici) d'azione di RNASET2 mediante: a) esperimenti di trasferimento genico in linee cellulari tumorali di origine ovarica, mammaria e da melanoma e determinazione delle proprietà antiproliferative *in vitro* e antitumorigeniche *in vivo* dei cloni cellulari overesprimenti RNASET2; b) espressione di alleli mutanti di RNASET2 per verificare le proprietà biologiche ed enzimatiche di tale proteina. Tali studi saranno assistiti da analisi

bioinformatiche volte ad effettuare confronti di sequenze geniche da altre specie reperibili dai databases disponibili; c) espressione della proteina RNASET2 ricombinante nel sistema Baculovirus/cellule di insetto per studi funzionali ed enzimologici e produzione di anticorpi specifici; d) creazione di un modello murino knock-out condizionale per RNASET2.

Nella stessa regione 6q27 abbiamo iniziato la caratterizzazione di un sito fragile (FRA6E) associato ad un clustering di delezioni e riarrangiamenti presenti in tumori dell'ovaio, della mammella e dello stomaco. Alcuni cloni BAC ricombinanti sono già stati mappati in coincidenza del sito fragile e intendiamo isolare da tali cloni sequenze codificanti (EST, esoni) e altre sequenze che mediante "computer modelling" mostrino caratteristiche di alta flessibilità e bassa stabilità (proprietà tipiche dei siti fragili).

---

### **35. CARATTERIZZAZIONE DI DRAP1/BACE2, UNA ASPARTIL PROTEASI POTENZIALMENTE IMPLICATA NELLA PATOGENESI DEL MORBO DI ALZHEIMER E NELLA METASTATIZZAZIONE TUMORALE.**

*Francesco Acquati, Antonella Russo, Nikoletta Skagiakou, Paola Campomenosi, Raffaella Cinquetti, Elisabetta Bortolotto e Roberto Taramelli.*

DRAP1/BACE2 è una proteina recentemente caratterizzata, appartenente alla famiglia delle aspartil proteasi, il cui gene mappa sul cromosoma 21q22.3, nella regione critica per la sindrome di Down. La proteina DRAP1 presenta un'omologia elevata con BACE1, la  $\beta$ -secretasi responsabile del taglio proteolitico della proteina APP e della conseguente produzione del frammento A $\beta$ , coinvolto nella formazione delle placche senili patognomiche del morbo di Alzheimer. Il trascritto primario di BACE2 è stato caratterizzato e sono state descritte alcune forme alternative di splicing, una delle quali produce una proteina priva del dominio transmembrana, che quindi indirizzerebbe la proteina per la secrezione.

Recentemente abbiamo intrapreso alcuni esperimenti per meglio caratterizzare il pattern di espressione di BACE2 in alcune linee cellulari tramite esperimenti di Western blotting utilizzando due sieri policlonali, uno commerciale ed uno gentilmente fornito dal Dr. J. Lah. I risultati preliminari mostrano che: a) l'anticorpo non commerciale ha una più elevata specificità rispetto all'anticorpo commerciale per DRAP1; b) linee cellulari tumorali hanno apparentemente un livello di espressione di DRAP1 più elevato rispetto a linee cellulari solo immortalizzate.

Inoltre, allo scopo di studiare la localizzazione subcellulare della proteina, si sono effettuati esperimenti di immunofluorescenza sulle stesse linee cellulari ed è stato allestito un costrutto per l'espressione di DRAP1 come prodotto di fusione con GFP. I prossimi esperimenti in questo ambito saranno volti a verificare se l'espressione di DRAP1 sia costitutiva o inducibile ed eventualmente caratterizzare gli stimoli in grado di indurre l'espressione. Infine sono state create linee transgeniche murine esprimenti DRAP1/BACE2 umana allo scopo di stabilire un modello sperimentale per lo studio delle eventuali proprietà amiloidogeniche di tale gene.

---

### **36. IDENTIFICAZIONE E CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DEL BREAKPOINT IN UN PAZIENTE AFFETTO DA RITORNO POLMONARE VENOSO ANOMALO TOTALE .**

*Raffaella Cinquetti, Francesco Acquati, Adelio Cangemi, Roberto Valli, Mattia Cremona, Chiara Camesasca, , Silvana Bardelli e Roberto Taramelli.*



Il progetto è finalizzato all'identificazione di nuovi geni localizzati a livello del punto di rottura di una traslocazione bilanciata t(10;21) (q23.1;q11.2) riscontrata in un paziente affetto da Ritorno Venoso Polmonare Anomalo Totale (TAPV, OMIM #106700). Questa condizione è caratterizzata dalla mancata crescita del plesso venoso splancnico polmonare con conseguente incapacità delle vene polmonari di connettersi all'atrio sinistro. Abbiamo identificato il punto di rottura della traslocazione in esame mediante analisi di FISH, su preparati metafasici del paziente, con una serie di cloni ricombinanti PAC e BAC, e successivamente è stato clonato e sequenziato il breakpoint su entrambi i cromosomi derivativi, confermando la natura bilanciata del riarrangiamento. Intendiamo procedere con l'isolamento, dalle regioni adiacenti ai breakpoint, di sequenze EST, esoni (mediante exon trapping e cDNA selection) e sequenze codificanti contenute in database genomici. Anche in tale contesto si prevede di effettuare una dettagliata analisi "in silico" per l'identificazione di sequenze codificanti. I vari geni candidati isolati saranno caratterizzati dettagliatamente per definire il loro ruolo nella patogenesi di questa cardiopatia

---

### 37. ANALISI DELLA VARIABILITÀ GENETICA IN POPOLAZIONI DI SPECIE DI INTERESSE CONSERVAZIONISTICO (CONIFERE E PRIMULACEAE) DELLE ALPI.

*Marilena Meloni, Davide Perini, Giorgio Binelli.*

La conservazione delle risorse biologiche può essere affrontata sotto gli aspetti ecologico, sistematico ed evolutivo, ma, nonostante le diverse priorità di ciascuno di questi approcci, esiste un possibile fattore unificante che è rappresentato dall'analisi genetica a livello molecolare. Infatti, l'analisi genetica mediante marcatori molecolari consente studi di Genetica di popolazioni basati su stime non distorte del grado di variabilità genetica presente entro e tra popolazioni. Qualsiasi azione volta alla conservazione di una specie deve pertanto necessariamente tenere conto della preservazione della sua varietà genetica.

Numerose specie vegetali sono divenute oggetto di preoccupazione dal punto di vista della conservazione delle risorse, dovuto ai fattori congiunti della deforestazione, dell'intervento umano, e dei danni forestali di nuovo tipo. La perdita di diversità porta alla drastica riduzione del pool genico di cui una specie può fruire e la perdita del bagaglio di risorse genetiche può portare ugualmente all'estinzione, per il semplice fatto che a questa specie mancherà lo slancio evolutivo per adattarsi a un ambiente in continua trasformazione; tale fenomeno è chiamato, con un termine molto suggestivo, **erosione genetica**. Le Conifere risultano particolarmente colpite da questi eventi, tanto che circa la metà delle specie note sono state inserite nella lista delle specie arboree in pericolo di estinzione.

Negli ultimi vent'anni, lo sviluppo delle tecniche di biologia molecolare, in particolare quelle legate alla produzione di nuove classi di marcatori genetici molecolari (RFLP, RAPD, SCAR, AFLP, SSR), ha rivoluzionato l'applicazione dei marcatori genetici allo studio dei processi ecologici ed evolutivi, consentendo la tipizzazione genotipica di grandi numeri di individui a molti loci contemporaneamente in modo relativamente economico. In particolare, l'applicazione di queste tecniche alle specie forestali ha messo in luce insospettite quantità di variabilità genetica intraspecifica. In questa linea di ricerca si sta studiando il grado e la distribuzione della variabilità genetica in popolazioni di Abete rosso, Ginepro e Primula delle Alpi Occidentali, con particolare riguardo alle Alpi Marittime, che rappresentano un importante centro di endemismo.

---

### 38. FILOGENESI MOLECOLARE DI SEQUENZE DI GENOMI VIRALI.

*Marilena Meloni, Giorgio Binelli.*

I virus responsabili dell'epatite B (HBV) ed epatite C (HCV) nell'uomo appartengono alla famiglia degli Hepadnavirus e sono responsabili della maggior parte dei casi di morte per tumore al fegato, che in più del 95% dei casi è conseguenza diretta di un'epatite B o C. L'importanza per la salute di programmi di studio volti ad elucidare i meccanismi molecolari di insorgenza delle epatiti, e quindi del possibile sviluppo dell'epatocarcinoma (HCC) è di rilevanza mondiale. Molti ricercatori hanno focalizzato la loro attenzione sulla variabilità genetica dei virus HBV e HCV, che sono entrambi presenti in natura in alcuni gruppi filogenetici, detti "genotipi" (per l'HBV, il più studiato, ne sono riconosciuti 5 o 6). Questi genotipi sono tipicamente associati a diverse aree geografiche: ad es., l'HBV presente in Italia è, nella quasi totalità dei casi, di genotipo D. L'interesse della classificazione filogenetica risiede inoltre nel fatto che genotipi diversi presentano anche gradi diversi di gravità nello sviluppo del quadro clinico epatite-cirrosi-HCC.

Lo scopo di una ricerca condotta in collaborazione con l'Istituto di Virologia dell'Università degli Studi di Milano, è quello di cercare di mettere in evidenza relazioni tra il genotipo, inteso come sequenza di geni fondamentali per l'insorgenza dell'HCC (ad es. il gene X per HBV, il gene Ns5 per HCV) o responsabili della responsività al trattamento con interferone. In particolare, sono state analizzate le sequenze di virus ricavati dal siero di pazienti con HCC e di controlli, costituiti da persone che, pur avendo contratto il virus, non presentano alcun quadro clinico nel corso degli anni. Le informazioni di sequenza sono state utilizzate per: *i* – l'analisi filogenetica sia a livello nucleotidico che della proteina codificata; *ii* – l'analisi della struttura secondaria delle proteine; *iii* – lo studio della struttura 3D dell'RNA pregenomico utilizzato dal virus come stampo per la sintesi del genoma a dsDNA del virus maturo.

Tra i risultati ottenuti finora mediante le analisi condotte secondo metodologie di tassonomia numerica e filogenesi ci sono: *i* – la caratterizzazione filogenetica di un nuovo virus epatico, il TTV; *ii* – la provata attribuzione di ceppi virali di HBV e HCV ai rispettivi genotipi mediante analisi della sequenza; *iii* – la dimostrazione che le differenze nel gene codificante per la proteina X dell'HBV corrispondono quadri clinici di crescente gravità; *iv* – la dimostrazione di trasmissioni epidemiche in outburst di infezione nosocomiali.

---

### 39. INTERAZIONE FRA BIO-MOLECOLE E METALLI IN BASSO STATO DI OSSIDAZIONE. SINTESI DI ANALOGHI DEL *cis*-PLATINO

*Diego Basso, Maria Teresa Loria, Marco Pastori e Alessandro Fumagalli*

I metalli in basso stato di ossidazione, comunemente ritenuti poco portati a coordinare leganti all'azoto o all'ossigeno, in qualche caso hanno dato a vedere interazioni di insospettabile stabilità con molecole di rilevanza biologica. Questa reattività nei confronti delle bio-molecole è stata osservata anche per qualche composto cluster metallo-carbonilico, composti dati dall'aggregazione di  $n$  atomi metallici (di transizione) in basso stato di ossidazione ( $\leq 0$ ), stabilizzati da un "guscio" esterno di CO. In tali *cluster*, formulabili  $[M_n(CO)_x]^{c-}$  (spesso sono anioni), la densità elettronica delocalizzata sui metalli, è decisamente a sfavore della sostituzione di uno o più carbonili ( $\pi$ -acidi) con altri leganti puramente basici. Abbastanza recentemente (pubblicaz. 2002), ed inaspettatamente, abbiamo trovato che un cluster di rodio, l'anione  $[Rh_5(CO)_{15}]^-$  reagisce anche con ammine alifatiche (leganti  $\sigma$  puri) dando sostituzione di uno o due carbonili. Tale *reattività, del tutto*

nuova, ha portato all'isolamento e caratterizzazione di due derivati, il dianione  $\{[\text{Rh}_5(\text{CO})_{14}]-(\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2)-[\text{Rh}_5(\text{CO})_{14}]\}^{2-}$  (costituito da due cluster a geometria di bipyramide trigonale incatenati dalla *putrescina*) ed il monoanione  $[\text{Rh}_5(\text{CO})_{13}(\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2)]^-$  (dove l'*etilendiammina* sostituisce ben due carbonili agendo da chelante). Questo risultato ha fatto intravedere la possibilità che anche altre molecole di particolare rilevanza biologica ed ovviamente contenenti atomi di azoto adeguatamente basici, possano reagire similmente.

Attualmente stiamo studiando la reattività di alcune specie relate all'anione pentanucleare  $[\text{Rh}_5(\text{CO})_{15}]^-$ , come pure composti mononucleari carbonilici di rodio in basso stato di ossidazione. Tale indagine condotta su molecole quali *glucosamina*, *dopamina*, *istamina*, ha portato all'isolamento di un derivato cristallino, l'anione  $[\text{Rh}_5(\text{CO})_{13}(\text{istamina})]^-$  (come sale di  $[\text{NMe}_4]^+$ ). Questo ha permesso di dedurre la struttura R-X, dove è evidente la chelazione dell'istamina su di un metallo posto in posizione apicale. Di rilievo è la reattività che stiamo trovando, nei confronti delle *nucleobasi* per i cluster e più recentemente per frammenti planari quadrati del tipo  $[\text{Rh}(\text{CO})_x\text{L}_y]^{+/0/-}$  che possono essere considerati analoghi del *cis-platino*, il ben noto farmaco antitumorale che interagisce a livello del DNA legandosi in N7 a due guanine adiacenti. Spesso l'interazione che noi rileviamo è *specificata* nei confronti di alcune nucleobasi. Un'ipotesi sulla quale stiamo lavorando è che questo sia il risultato di una chelazione dove sarebbero coinvolte due specifiche posizioni della nucleobase.

---

#### **40. Voltage- and activity-dependence of a novel chloride conductance dynamically controls the resting status of the intact rat sympathetic neuron.**

FESCE RICCARDO°, MARIA LISA ROSSI, RITA CANELLA and OSCAR SACCHI, Department of Biology, University of Ferrara, Ferrara and °Center of Neuroscience, University of Insubria, Varese, Italy.

We discovered a novel voltage-dependent, non-inactivating chloride conductance in the intact, mature rat sympathetic neuron, by means of the two-electrode voltage-clamp technique. When the neuron is hyperpolarized, inward transient currents ensue; thereafter they decay over tens of seconds, accompanied by internal chloride ion redistribution (which however remains more concentrated than at equilibrium) and a parallel decrease in cell input conductance, suggesting that the current is sustained by channels initially open and then slowly closed by hyperpolarization.

Recently we observed a remarkable activity-dependence of this conductance. Both direct and synaptic neuron tetanization (15 Hz, 10 s duration to saturate the response) result in a long-lasting (not less than 15 min) increase of cell input conductance (+70-150% 10 min after tetanus) and an inward current with the same time course. Following synaptic stimulation, both processes display similar properties under current- or voltage-clamp conditions, and upon direct stimulation they are unaffected by external calcium.

The posttetanic effects are sustained by *gCl* increase, since both conductance and current modifications are blocked by 0.5 mM 9AC (a chloride channel blocker) but unaffected by TEACl or cesium chloride treatments. The chloride channel kinetic properties are modified by stimulation: their voltage sensitivity and rate of closure in response to hyperpolarization strongly increase.

When the voltage dependence of the three major conductances governing the cell subthreshold status (*gCl*, *gK* and *gL*) is evaluated over the -40/-110 mV membrane potential range in resting or stimulated neurons, voltage-conductance profiles drastically change, due exclusively to *gCl* increase.

This previously neglected, active chloride conductance moulds neuronal excitability below threshold, and appears to host an intrinsic mechanism, a memory of previous neuron activity, which makes the chloride current a likely candidate for natural controller of the balance between opposite resting currents, and thus of membrane potential level. [Supported by COFIN 2001]

---

#### **41. Trasferimento dell'energia di eccitazione nei batteri fotosintetici verdi: un approccio comparato**

*Anna Giulia Cattaneo\**, *Paolo D. Gerola°* e *Alberto Vianelli\**; *Shigeru Itoh^*; *Donatella Carbonera, Enrica Bordignon§*

*\*Unità di Fotobioenergetica, DBSF; °Cattedra di Botanica, Facoltà di Scienze MM.FF.NN.-Varese; ^Dipartimento di Fisica, Università di Nagoya, Giappone; §Dipartimento di Chimica Fisica, Università degli Studi di Padova*

La nostra ricerca ha come oggetto la struttura, funzione e regolazione dell'apparato fotosintetico dei batteri verdi come modello dell'apparato fotosintetico delle piante superiori. In particolare, viene studiata la regolazione del trasferimento di energia nell'antenna e, in generale, si cerca di evidenziare e caratterizzare possibili meccanismi fotoprotettivi. A) E' stato analizzato lo smorzamento della fluorescenza (indice dell'energia di eccitazione) in condizioni ossidanti in due specie rappresentative dei batteri verdi rispettivamente sulfurei e non-sulfurei, *Chlorobium tepidum* (fotoautotrofo anaerobio obbligato) e *Chloroflexus aurantiacus* (fotoautotrofo o fotoeterotrofo facoltativo in condizioni anaerobiche, oppure chemoorganotrofo in condizioni aerobiche). Entrambe moderatamente termofile, posseggono lo stesso tipo di antenna (clorosomi) ma un diverso tipo di centro di reazione. Misure di assorbimento e di fluorescenza (allo stato stazionario e risolta nel tempo) condotte su clorosomi isolati hanno evidenziato, in *Cf. aurantiacus* ma non in *Cb. tepidum*, un meccanismo efficiente di smorzamento dell'energia in condizioni più ossidanti di quelle di un ambiente aerobico (ottenute mediante l'aggiunta di ferricianuro). Tali misure e l' $E_m$  apparente dello smorzatore (di circa +450 mV) suggeriscono che esso sia un catione di batterioclorofilla c. Esperimenti preliminari *in vivo* indicano una possibile rilevanza del fenomeno in condizioni fisiologiche, tenendo anche conto dell'ecofisiologia dei due microorganismi. B) L'analisi di questi ed altri risultati ottenuti precedentemente nel nostro laboratorio, confrontati e integrati con la letteratura disponibile, ha consentito di proporre un modello del processo di acclimatazione alla luce nei due tipi di batteri. Tale modello cerca di razionalizzare dati fisiologici apparentemente contraddittori alla luce delle conoscenze più recenti della struttura e funzione dei clorosomi.

In futuro, ci si propone di approfondire lo studio del meccanismo di smorzamento non-fotochimico della fluorescenza in *Chloroflexus*, concentrandosi in particolare sul possibile ruolo giocato dall'ossigeno molecolare. Saranno altresì effettuate misure di ODMR (Risonanza Magnetica Rivelata Otticamente) su membrane intatte di *Chlorobium* al fine di chiarire il ruolo della proteina FMO nel trasferimento di energia di eccitazione ed il suo eventuale coinvolgimento in fenomeni di fotoprotezione.

---

#### **42. Evoluzione e funzioni del sistema immunitario innato: relazioni a livello molecolare e cellulare tra parassiti e ospiti.**

*Maurizio F. Brivio, Maristella Mastore, Massimo Moro.*

Il sistema immunitario esplica le sue funzioni, mediante una complessa serie di eventi, seguendo due principali tipi di risposta: quella anticipatoria anticorpo-mediata (immunità acquisita) e quella non anticipatoria (immunità naturale).

Entrambi questi meccanismi d'azione sono presenti nei Vertebrati, mentre gli Invertebrati sembrano possedere esclusivamente un sistema immunitario di tipo naturale, privo di immunoglobuline e di cellule linfocita B-simili.

Le difese immunitarie naturali negli invertebrati (in particolare negli Insetti, il modello biologico a cui si farà riferimento) possono essere suddivise in risposta cellulare (o cellulomediata) e risposta umorale; la suddivisione è comunque arbitraria, in quanto l'azione difensiva contro il *non self* è sinergica e concertata.

La risposta cellulare viene espletata da popolazioni di cellule generalmente libere nell'emolinfa e da cellule macrofago-simili che possono migrare nei tessuti dell'animale. Le attività principali svolte dalle cellule immunocompetenti comprendono fagocitosi, attività citotossica e incapsulazione cellulare. I tipi cellulari identificati sono suddivisi in: granulociti (con attività secretoria) e plasmaciti (cellule aderenti con attività fagocitica)

Per quanto riguarda la difesa umorale, mediata da componenti molecolari presenti nell'emolinfa, diverse classi di molecole immunocompetenti sono state identificate prevalentemente negli insetti. Il sistema proPO; un sistema a cascata enzimatica evolutivamente correlato al sistema complemento dei vertebrati, la cui funzione principale è la sintesi di precursori della melanina che portano all'incapsulazione umorale del *non self*. Le lectine (o sugar-binding proteins), deputate al *riconoscimento* e coinvolte nei processi di opsonizzazione ed agglutinazione. I peptidi antibatterici, sintetizzati e secreti da cellule dei *fat bodies* (negli insetti); sono componenti inducibili la cui sintesi è attivata dalla presenza del *non self*; la loro struttura sembra essere piuttosto conservata, sono infatti state identificate anche in mammiferi (ceropine) ed anfibi (magainine).

Sia la struttura, morfologica e/o molecolare, che la funzione, di cellule e molecole attive nelle difese immunitarie negli invertebrati, sono un campo d'indagine di grande attualità le cui implicazioni spaziano dalla ricerca di base a quella applicativa.

Per quanto riguarda la ricerca di base, lo studio dei meccanismi immunitari presenti negli Invertebrati può essere estremamente utile nella comprensione dell'evoluzione del complesso sistema immunitario dei Vertebrati superiori.

Dal punto di vista applicativo, il modello biologico stesso (Insetti), utilizzato in questo progetto è significativo sia dal punto di vista biomedico che biotecnologico.

Gli insetti rappresentano uno dei principali vettori intermedi di agenti patogeni per l'uomo, studiarne le difese immunitarie può fornire un approccio innovativo al controllo della diffusione di patologie mediata da insetti-vettore.

La comprensione del loro sistema immunitario è quindi fondamentale per la messa a punto di efficaci sistemi di *controllo biologico* realizzati mediante utilizzo di organismi parassiti, che potrebbero rivelarsi una migliore alternativa ai pesticidi per il controllo della loro diffusione. In conclusione lo studio delle interazioni tra sistema immunitario degli ospiti (insetti) ed organismi entomoparassiti potrebbe fornire *tools* applicativi innovativi sia in applicazioni di carattere biotecnologico che biologico-sanitario.

---

### **43. Temi di ricerca del Gruppo di Ricerche Ambientali**

*Davide CALAMARI, Antonio DI GUARDO, Sara CASTIGLIONI*

Il gruppo di ricerche ambientali si occupa in special modo di valutare l'esposizione alle sostanze chimiche per potere effettuare una valutazione del rischio chimico. Cio' viene fatto valutando le concentrazioni raggiunte nell'ambiente mediante tecniche di monitoraggio ambientale o con la messa a punto di modelli di distribuzione adatti a diversi

scenari ambientali. Qui di seguito vengono illustrati alcuni fra i principali temi di ricerca insieme ad una breve illustrazione per ciascuno di essi:

- 1) *Distribuzione di composti farmaceutici nelle acque superficiali: (Responsabile: Davide Calamari)* L'attenzione del mondo scientifico si è recentemente focalizzata sui composti farmaceutici come possibili contaminanti ambientali poiché queste molecole sono state rilevate in numerosi ecosistemi acquatici. Per comprendere i potenziali effetti di queste sostanze vi è l'esigenza di predire le concentrazioni nei corsi d'acqua poiché i composti farmaceutici vi sono stati rilevati in gran numero e i carichi che giungono continuamente in ambiente acquatico attraverso le acque reflue possono essere elevati.
- 2) *Sviluppo di modelli di destino ambientale a diversa scala spaziale e temporale (responsabile Antonio Di Guardo):* Fra i modelli sviluppati da questo gruppo di ricerca si possono individuare 2 categorie: locali (come i modelli Agrifug e SoilFug) e regionali (come EQC e ChemCAN). Il primo tipo di modelli permette di valutare situazioni sito-specifiche, dove il prodotto chimico viene applicato in particolari situazioni (ad es. l'uso di antiparassitari in un bacino agricolo); tali modelli permettono di calcolare le concentrazioni raggiunte nelle diverse fasi ambientali, con particolare attenzione alla contaminazione delle acque superficiali. I modelli regionali permettono di allargare la prospettiva spaziale di contaminazione su una scala più ampia. Fra i modelli più recenti vi sono i modelli che permettono di valutare il comportamento di molecole in un lago valutando la ripartizione in condizioni steady e unsteady-state (modello Lake Maggiore) e i modelli di rete trofica, come il modello Aquaweb che calcola il bioaccumulo di contaminanti in reti trofiche acquatiche. In ultimo si cita l'attività di ricerca tesa ad integrare i modelli sito-specifici (suolo e acqua) con sistemi GIS per permettere una migliore gestione dei dati di input ed output su scala spazialmente esplicita.
- 3) *Monitoraggio e modellizzazione di POPs (persistent organic pollutants) in un gradiente altitudinale (responsabile Antonio Di Guardo):* in questo progetto di ricerca vengono monitorate le deposizioni atmosferiche (deposizioni secche ed umide), la biomassa vegetale, la lettiera e il suolo a diverse altitudini in una zona campione delle Alpi per monitorare e modellizzare il comportamento di POPs (PCB, DDT, HCH, HCB) in tali particolari condizioni. Tale attività permette di valutare il ruolo dei diversi parametri ambientali che dipendono dalle caratteristiche altitudinali e dalle diverse tipologie delle comunità vegetali sulla diversa composizione (fingerprint) e concentrazioni assolute dei POPs.

---

#### **44. MECCANISMO D'AZIONE DELL'ONCOSOPPRESSORE PKC $\delta$**

*Gianpaolo Perletti, Emanuela Marras, Daniela Osti*

Il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato che l'isoforma delta della Protein chinasi C (PKC $\delta$ ) esercita una funzione oncosoppressiva in cellule tumorali di colon di ratto (Perletti G., Marras, E., Concari P., Piccinini F. and Tashjian Jr A.H. (1999). Protein Kinase C  $\delta$  acts as a growth and tumor suppressor in rat colonic epithelial cells. *Oncogene* 18:1251-1256). Per confermare questi dati in modelli cellulari umani, la PKC $\delta$  è stata trasdotta con vettori retrovirali in alcune linee di carcinoma del colon (HCT116, HT-20, LoVo). Tra queste, la linea HCT116 ha mostrato una risposta molto marcata alla sovraespressione dell'enzima: le cellule subiscono una modificazione fenotipica molto evidente, acquisiscono o sovraesprimono markers morfologici e biochimici del differenziamento e dell'apoptosi, presentano caratteristiche proliferative e clonogeniche che suggeriscono una

reversione verso un fenotipo non trasformato, e vanno incontro a “catastrofe mitotica”, con formazione di cellule multinucleate contenenti micronuclei, nuclei giganti poliploidi, nuclei polilobati e strutture centriolari multiple e anomale. Inoltre, le cellule HCT116 sovraesprimenti la PKC $\delta$  perdono la propria capacità tumorigenica quando inoculate in vivo in topi nudi atimici.

Queste marcate modificazioni fenotipiche suggeriscono che la PKC $\delta$  abbia come effettore comune un elemento trasduttore del segnale coinvolto nel controllo del ciclo cellulare a livello dei checkpoints G1-S, G2-M e spindle, oltre che nei processi di apoptosi, differenziamento, proliferazione, clonogenesi ancoraggio-indipendente, tumorigenesi. La proteina inibitrice delle cicline-chinasi p21<sup>waf1/cip1</sup>, coinvolta nella regolazione di questi processi, è un probabile candidato al ruolo di effettore della PKC $\delta$ . Un'analisi dell'espressione a livello proteico ha mostrato che p21 è upregolata in seguito a trasduzione della linea HCT116 con il cDNA codificante la PKC $\delta$ . La PKC $\delta$  è stata poi trasdotta e sovraespressa in una linea p21 null derivata dalla linea madre HCT116. E' stato osservato che l'assenza di p21 rende le cellule indifferenti all'azione della PKC $\delta$ , il che mostra il coinvolgimento della stessa p21 nell'attività dell'oncosoppressore. Per caratterizzare la catena di trasduzione del segnale verso p21 a valle della PKC $\delta$  è stato ipotizzato il coinvolgimento del Signal Transducer and Activator of Transcription 1 (STAT1) e di p73, un analogo strutturale e funzionale di p53. Queste proteine sono state selezionate come probabili diretti effettori di PKC $\delta$  nel nostro modello perché recenti dati di letteratura le indicano come substrati in vitro della chinasi. Sono in corso studi per accertarne il coinvolgimento nell'attività oncosoppressiva di PKC $\delta$  via p21.

---

#### **45. MODELLI MATEMATICI DI RETI TROFICHE**

*M.I.GRANERO A. PORATI N.CHIRICO A.INFANTINO*

I modelli matematici di reti trofiche da noi studiati utilizzano Sistemi di Equazioni Differenziali non lineari del tipo Lotka-Volterra generalizzate, nelle quali le variabili rappresentano le biomasse delle varie specie e i parametri le varie caratteristiche delle specie stesse ( per es. l'autoregolazione, la capacità portante, l'intensità delle interazioni ecc.). Ci stiamo in particolare interessando a due problemi, in qualche modo correlati:

- A. L'influenza che l'efficienza del trasporto di biomassa da un livello trofico a un altro ha sulla stabilità della rete.
- B. La risposta della rete all'introduzione una nuova specie ( “invasore”) in funzione della complessità (“connettanza”) della rete stessa e delle caratteristiche dell'invasore.

Fin dove possibile verranno usate tecniche puramente analitiche, che permettono di ottenere risultati di carattere più generale, per passare poi, nei casi più complessi a simulazioni numeriche ( matrici random) nelle quali i parametri di interazione vengono estratti da distribuzioni rettangolari o pseudo-gaussiane, simulando così la loro naturale variabilità.

---

#### **46. APPROCCIO STATISTICO ALL'ANALISI DELL'EVOLUZIONE DEGLI OVERLAPPING GENES**

*M.I.Granero, A.Maineri, A.Porati A.Vianelli*

La ricerca si propone di individuare il frame di lettura più antico nelle zone di genomi virali a doppia lettura, partendo da ipotesi relative all'uso dei codoni sinonimi nei due geni

sovrapposti. In particolare si vuole analizzare la presenza di eventuali "bias" relativi a quei codoni che potrebbero portare, per shift, a codoni di STOP nel gene sovrapposto. Questa metodologia consente di indagare sul tipo di eventi evolutivi che hanno portato alla lettura sovrapposta permettendo di discriminare, semplificando le diverse casistiche, fra varie ipotesi. Tra queste una è l'estensione di un gene che conduce ad una sovrapposizione con un gene preesistente e un'altra l'evoluzione, dovuta all'insorgere di un nuovo "frame" di lettura, di un gene "ex novo", sovrapposto ad uno già presente. Si può pertanto considerare la possibilità di comparare diverse modalità di acquisizione, durante l'evoluzione, di nuovi geni (nuove funzioni): in particolare, appare interessante approfondire, per le ragioni sopra esposte, l'insorgenza di "frame" di lettura sovrapposti, confrontandola con il rimescolamento di esoni ("exon shuffling") mediante ricombinazione e/o l'evoluzione divergente in seguito a duplicazione genica. Per ciascuno di tali processi, in opportune condizioni al contorno comparabili fra loro, potrebbe essere definibile un potenziale generativo di nuove funzioni ed una velocità media/istantanea di evoluzione molecolare. Lo studio di genomi virali sarà inoltre affiancato dall'analisi di casi di geni sovrapposti in organismi eucariotici (in particolare mammiferi) che vengono sempre più frequentemente riportati in letteratura

---

#### **47. Biologia applicata**

*Carlo Rossetti, Monica Molteni, Samanta Staurengo*

I Cianobatteri sono un ampio Taxa, caratterizzati dalla capacità di fare fotosintesi pur essendo dei procarioti. In letteratura sono studiati per diversi aspetti, principalmente per la capacità di alcuni di produrre tossine e per le proprietà farmacologiche dei loro estratti. In questo lavoro si sono caratterizzati gli effetti degli estratti idrofilici e mediamente idrofobici di un Cianobatterio isolato dal Lago di Varese e identificato morfologicamente e geneticamente come un' *Oscillatoria planktothrix*.

Sia gli estratti in ambiente idrofilico che quelli in ambiente idrofobico hanno mostrato la capacità di indurre maturazione delle Cellule Dendritiche e di funzionare come adiuvanti nella risposta immunitaria pur non mostrando capacità antigeniche.

La maturazione delle Cellule Dendritiche sembra essere caratterizzata dall'assenza di induzione di citochine pro-infiammatorie e dall'assenza di espressione dei recettori di "homing" verso i linfonodi, che si osservano invece nella maturazione indotta con gli estratti ottenuti da altri procarioti non fotosintetici.

L'estratto in ambiente idrofobico, alla stessa concentrazione in cui è in grado di indurre maturazione nelle Cellule Dendritiche, ha mostrato capacità inibenti la proliferazione di linee tumorali di melanoma.

Le molecole biologicamente attive sembrano essere i LipoOligoSaccaridi presenti sulla membrana esterna del Cianobatterio. Le prime caratterizzazioni strutturali hanno evidenziato che questi composti sono molto differenti da quelli estraibili da altri procarioti. In particolare: (1) non sembrano essere LipoPoliSaccaridi; (2) i composti biologicamente attivi sembrano compartimentarsi nella fase mediamente idrofobica invece che in quella idrofilica; (3) non sembrano presentare la frazione O-antigen.

Questi risultati, che sono ancora in una fase preliminare, supportano l'ipotesi che i composti estraibili del Cianobatterio FP1 hanno diversi effetti biologici, prevalentemente a carico della componente Liposaccaridica, non ancora descritti in letteratura. In particolare il tipo di maturazione delle Cellule Dendritiche senza la produzione di citochine infiammatorie suggerisce un loro potenziale impiego come adiuvanti nei vaccini senza i classici effetti indesiderati.



L'attenzione futura sarà concentrata sull'impiego di questi composti come attivatori della risposta immunitaria in funzione antitumorale.

*Progetti di ricerca finanziati*

**Fondo di Ateneo per la Ricerca**

Responsabile: prof. Fabrizio C. Celentano

Ammontare: € 2043

Titolo: Spianamento delle pagine curve e spiegazzate di manoscritti e libri antichi

Responsabile: Elena Bossi

Ammontare: 4837

Titolo: Ruolo strutturale e Funzionale dei domini extracellulari dei trasportatori di neurotrasmettitori

Responsabile: Maurizio Brivio

Ammontare: 2950

Titolo:

Responsabile Dr. A. Di Guardo

Ammontare € 3563,40

Titolo: Contaminazione dell'aria da PAH (idrocarburi policiclici aromatici) nei pressi dell'aeroporto di Malpensa: l'impatto di un aeroporto

Responsabile Prof. D. Calamari

Ammontare € 3147.47

Titolo: Monitoraggio e modellizzazione di farmaci di uso umano e veterinario nel fiume Po

Responsabile: Riccardo Fesce

Ammontare: € 4458

Titolo: Analisi elettrofisiologica delle interazioni funzionali tra recettori endorfinergici e cannabinoidi a livello di singole cellule neuronali

Responsabile: Stefano Giovannardi

Ammontare: € 3470

Titolo:

Responsabile: prof. D. Parolaro

Ammontare: 7073 euro

Titolo "Ruolo delle MAP kinasi nei processi neuroadattativi indotti dall'esposizione cronica al  $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo"

Responsabile: Prof. Paola Gramatica

Ammontare: € 3.306

Titolo: "Modelli QSAR per la predizione del comportamento ambientale di inquinanti organici

Responsabile: Prof. P. Barbieri

Ammontare: € 5035,11

Titolo: Evoluzione molecolare *in vitro* della toluene-o-xilene monoossigenasi di *Pseudomonas stutzeri* OX1.

Responsabile: prof. Giovanni Bernardini

Ammontare: € 5286

Titolo: Caratterizzazione molecolare ed evolutiva dell'allantoicasi

Responsabile: prof. Magda de Eguileor

Ammontare: € 12.911.529

Titolo:

Responsabile: prof. Marcella Bracale  
Ammontare: € 5175  
Titolo:

Responsabile: Prof. Roberto Taramelli  
Ammontare: € 8500  
Titolo: Identificazione e caratterizzazione di geni umani rilevanti per la patogenesi di malattie complesse

Responsabili: M.S. Pilone – G. Molla  
Ammontare: € 5344  
Titolo: Mutagenesi evolutiva di una proteina modello FAD-dipendente

Responsabili: L. Pollegioni – L. Piubelli  
Ammontare: € 5100  
Titolo: Caratterizzazione della Pipecolato Ossidasi umana: un flavoenzima coinvolto in numerose patologie collegate alla biogenesi dei perossisomi

Responsabile: Paolo Gerola  
Ammontare: € 3578,99  
Titolo: Inibizione dell'attività glucuronidasi in stili di Nicotiana: studio sulla presenza di inibitori di natura proteica.

Responsabile: Mauro Fasano  
Ammontare: €6198.65  
Titolo: Proprietà allosteriche e di legame dell'emalbumina umana

Responsabile: Dr. Alberto Vianelli  
Ammontare: € 3206.40  
Titolo: Studi comparativi sulla regolazione della composizione dell'apparato fotosintetico dei batteri verdi in risposta a variazioni dell'intensità di luce

### ***Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (PRIN)***

Responsabile: Giorgio Binelli  
Ammontare: € 33.569.  
Titolo: Scelta e validazione di geni candidati che influenzano nelle piante caratteri di interesse agro-forestale.

**Responsabile: M.S. Pilone (coordinatore nazionale)**  
Ammontare: € 75200 (quota M.S. Pilone) - € 17300 (quota M. Fasano)  
Durata: 24 mesi  
Titolo: Ingegneria evolutiva di proprietà di legame e di riconoscimento molecolare nelle proteine

Responsabile: prof. M. Bracale (coord. Nazionale)  
Ammontare € 36.000  
Titolo: Analisi della funzione di geni Myb4-like in piante di interesse agrario in relazione alla tolleranza a stress abiotici.

Responsabile: prof. D. Parolaro  
Ammontare: € 55778  
cofinanziamento MIUR € 39251  
Titolo "Alterazioni cellulari indotte da farmaci d'abuso e da stimoli avversivi non evitabili nel sistema nervoso centrale di ratto" all'interno del Progetto nazionale "Neurobiologia dei disturbi

motivazionali: interazione tra meccanismi di apprendimento associativo e non- associativo nel sistema mesolimbico” (coord. Gaetano DiChiara)

Responsabile: prof. D. Parolaro

Ammontare: 27100 euro

Cofinanziamento MIUR 19000 euro

Titolo “Interazione tra cannabinoidi ed oppioidi nel sistema nervoso centrale di ratto: correlati neurochimici ed elettrofisiologici” all’interno del Progetto nazionale “Interazioni tra sistema oppioide e cannabinoide: aspetti funzionali, neurochimici ed immunitari” (coord. Walter Fratta)

Responsabile: prof. A. Peres (coordinatore nazionale)

Ammontare: 45.000 €

Titolo: Relazioni struttura-funzione nella famiglia di cotrasportatori Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>-dipendenti

Responsabile: Prof. P. Barbieri.

Ammontare : Lit. 93.000.000.

Titolo del progetto: Toluene-o-xilene monoossigenasi di *P. stutzeri* OX1: costruzione di monoossigenasi chimeriche e studio dell’attivazione del promotore *PToMO*.

Ruolo della cromatina e della metilazione del DNA nella replicazione genica.

COFINANZIAMENTO MINISTERIALE 2001-2003.

Responsabile Dr Antonio Di Guardo

Ammontare: : € 52.500

Titolo: Modellizzazione del destino nel suolo e nell’acqua di prodotti fitosanitari e integrazione in Sistemi Informativi Territoriali per la valutazione del rischio ambientale verso organismi non bersaglio”.

Responsabile: prof. Davide Calamari

TITOLO: La presenza di farmaci negli effluenti dei depuratori municipali e nelle acque superficiali: monitoraggio, valutazioni ecotossicologiche e processi avanzati di rimozione.

Ammontare: euro 50.000,00 da MIUR + 27.000,00 = 77.000,00

### **Unione Europea**

Responsabile: prof. G.Crosa

Ammontare: 49.580 €.

Titolo: Conservazione di *Austropotamobius pallipes* in due SIC della Lombardia

Responsabile: Prof. Paola Gramatica

Ammontare: 25.716 Euro

Titolo: Progetto EEC- EVK1-CT- 1999-00012-BEAM: “Bridging Effects Assessment of Mixtures to Ecosystem Situations and Regulation” (Coord.: Prof. L.Grimme Univ. Bremen-Germany)

Responsabile: prof. Guido Tosi

Ammontare: 135.360,00 Euro

Titolo: Biological conservation and sustainable management of Mount Meru natural system in Tanzania (Extension)

Ente: Commissione Europea

Responsabile: dott. Bruno Cerabolini

Ammontare: 41.317 Euro

Titolo: Riproduzione ex-situ di specie vegetali (LIFE00NET/IT/7258)

Ente: Commissione Europea

### **Altri Enti**

Responsabile: G. Crosa

Ammontare: 15.000,00 €

Titolo: Development of integrated water management tools for the Tuyamuyn reservoir complex for the improvement of the drinking water supply and public health in the disaster zone of the lower

Ente: Amu-Darya (IWMT)

Responsabile: D. Calamari

Ammontare: 15.000,00 €

Titolo: Investigation of innovative pollution clean-up and avoidance strategies for surface water and groundwater resources at the "Disaster Zone" of the Amu-Darya lowers

Ente: OPAL

Responsabile: prof. A. Peres

Ammontare: 25.000 €

Titolo: Struttura e funzioni in cotrasportatori

Ente: Fondazione CARIPLO

Responsabile: Prof. Paola Gramatica

Ammontare: 12.900 Euro

Titolo: Applicazione di modelli QSAR per la predizione di proprietà chimico fisiche e tossicità di composti chimici utilizzati nell'industria chimica Italiana

Ente: Federchimica

Responsabile: M.S. Pilone

Ammontare: € 125000 (progetto totale) – € 40500 (quota M.S. Pilone - L. Pollegioni)

Durata: 24 mesi

Titolo: Struttura e funzione nella scienza delle proteine

*Università degli Studi dell'Insubria – Progetto di Eccellenza 2002:*

Responsabili: L. Pollegioni - M.S. Pilone

Ammontare: € 120000

Durata: 16 mesi

Titolo: Produzione di enzimi per intermedi di antibiotici  $\beta$ -lattamici (società Antibioticos S.p.A.)

Responsabile: Mauro Fasano

Ammontare: 82600 €

Titolo: DAOS – Danno ossidativo nella malattia di Parkinson

Ente: Fondazione Monzino

Identification and characterization of proteins that, interacting with MeCP2, could be involved in Rett Syndrome;

FINANZIAMENTO TELETHON 2001-2003.

Characterization of four proteins that, interacting with MeCP2, could be involved in Rett Syndrome.

FINANZIAMENTO IRSA (International Rett syndrome association) 2002-2004

Responsabile: prof. Guido Tosi

Ammontare: 9.296,00 Euro

Titolo: Cartografia di base del Parco Regionale della Pineta di Appiano Gentile e Tradate

Ente: Parco Pineta di Appiano Gentile e Tradate

Responsabile: prof. Guido Tosi  
Ammontare: 8.607,00 Euro  
Titolo: Progetto Life Natura 2000 - Chiroterri, habitat calcarei e sorgenti petrificanti nel Parco Campo dei Fiori (LIFE00 NAT/IT/007139)  
Ente: Parco Naturale Campo dei Fiori

Responsabile: prof. Guido Tosi  
Ammontare: 4.304,00 Euro  
Titolo: Programma di intervento per la conservazione del gallo cedrone *Tetrao urogallus* nelle aree protette della Lombardia  
Ente: Parco Orobie Valtellinesi

Responsabile: prof. Guido Tosi  
Ammontare: 3.000,00 Euro  
Titolo: Indagini ornitologiche presso l'aeroporto di Orio al Serio (BG)  
Ente: SACBO S.p.A.

Responsabile: prof. Roberto Taramelli  
Ammontare: 86.000 euro  
Titolo: Nuovi approcci per lo studio ed il trattamento delle patologie neurodegenerative  
Ente: FIRB

Responsabile: prof. Roberto Valvassori  
Ammontare 7000 euro  
Titolo:  
Ente: FIRB

Responsabile: prof. Davide Calamari  
Titolo: Ricerca Permafrost - Istituto Nazionale Ricerca Montagna  
euro 39.950,86

Responsabile: prof. Davide Calamari  
Progetto OPAL  
euro 6741,26

Responsabile: dr. Carlo Rossetti  
Titolo: Progetto Cianobatteri  
Ente: Fondazione Cariplo

Responsabile: dr. Carlo Rossetti  
Titolo: Progetto Cianobatteri e Cianotossine  
Ente: Istituto Superiore di Sanità

## SEMINARI

Il DBSF organizza con cadenza settimanale seminari scientifici, a tenere i quali sono invitati ricercatori italiani e stranieri di Università ed Enti di Ricerca.

Le due scuole di Dottorato di Ricerca organizzano Cicli di seminari nell'ambito dell'attività didattica rivolta ai dottorandi.

Nel corso del 2002 sono stati tenuti i seguenti seminari:

<ul style="list-style-type: none"><li>• 4/04/02 Dr Katrine Borgaa Norwegian Polar Institute, Norway Bioaccumulation of persistent organic pollutants in Arctic marine food chains</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 07/02/2002 - Hélène Barbier-Brygoo CNRS Gif-sur-Yvette, France Ion channels and cell signalling in <i>Arabidopsis</i></li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 11/02/2002 - Martin Kater Università degli Studi di Milano The use of floral homeotic mutants to study sex determination in cucumber</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 14/02/2002 - Paola Bonfante Università degli Studi di Torino Batteri endosimbionti nei funghi micorrizici arbuscolari: dalla morfologia alle sequenze genomiche</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 14/02/2002 - Dott.ssa Federica Sallusto Istituto di Ricerche Biomediche di Bellinzona Il ruolo delle cellule dendritiche nell'induzione della risposta immunitaria</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 18/02/2002 - Stefania Grillo CNR Portici, Napoli Vie di trasduzione del segnale a stress abiotici: fra specificità e cross-talk</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 19/02/2002 - Ciclo seminari sulle neuroscienze: Prof. Leonardo Lopiano Dip. di neuroscienze e I clinica neurologica dell'Università di Torino Deep brain stimulation e malattia di Parkinson</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 26/02/2002 - Ciclo di seminari sulle neuroscienze: Prof.ssa. Elena Cattaneo Dip. di scienze farmacologiche e centro di eccellenza sulle malattie neurodegenerative, Università di Milano Meccanismi molecolari alla base della corea di Huntington</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 05/03/2002 - Ciclo di seminari sulle neuroscienze: Prof. Stefano Cappa Facoltà di psicologia, Università vita-salute San Raffaele Applicazione delle neuroimmagini allo studio delle basi neurologiche del linguaggio</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 09/04/2002 - Paolo Costantino Università degli Studi di Roma Oncogeni e fattori di trascrizione nello sviluppo delle piante</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 23/04/2002 - Seminari di Facoltà: Prof. Gianmarco Gaspari Università dell'Insubria Tra letteratura e scienza. Percorsi dell'illuminismo italiano.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 30/04/2002 - Seminari di Facoltà: Prof. Ezio Vaccari Università dell'Insubria Lo sviluppo delle scienze della terra tra Cinquecento e Settecento: aspetti e problemi di uno studio storico-scientifico</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 09/05/2002 - Dott. Paolo Francalacci Università degli Studi di Sassari La filogenesi del cromosoma Y e la diffusione di Homo sapiens</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 16/05/2002 - Seminari di Facoltà: Prof. Andrea Spiriti Università dell'Insubria Iconografia e iconologia: un approccio alla storia sociale dell'arte</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• 28/05/2002 - Dott.ssa Francesca Cagnacci</li></ul>

<p>Università di Siena Dall'uso delle risorse trofiche all'ecologia comportamentale dei meso-carnivori: approcci ed esperienze</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>04/06/2002 - Ciclo di seminari sulle neuroscienze: Prof. Antonio Peres DBSF Fisiologia molecolare del trasportatore del GABA rGAT1</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>05/06/2002 - Dott. Andrea Mustoni Parco Naturale Adamello-Brenta Life Ursus: il progetto di reintroduzione dell'Orso bruno (<i>Ursus arctos</i>) sulle Alpi italiane</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>10/06/2002 - Dott. Luigi Cagnolaro Direttore del Museo Civico di Storia Naturale di Milano, Presidente dell'Associazione Teriologica Italiana (A.T.It.) I musei di storia naturale e l'educazione ambientale</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>11/06/2002 - Dott. Franco Andreone Museo Regionale di Scienze Naturali di Torino Biodiversità e conservazione di una fauna tropicale: l'esempio degli Anfibi e dei Rettili del Madagascar</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>18/06/2002 - Dr. Luigi Calzolari Institute for Molecular Biology and Biophysics, ETH-Honggerberger HPK, Zurich, Switzerland From Mad Cow Disease to Creutzfeldt-Jacob Disease: how NMR can help</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>10/09/2002 - Dr. Lluís Tort Bardolet Libera Università di Barcellona Fish health challenge after stress. Indicators of immunosuppressive status</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>30/09/2002 - Dr. John B. Lowe Howard Hughes Medical Institute and University of Michigan Genes and glycosylation pathways that control leukocyte trafficking</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>21/10/2002 - Prof. Marco Saroglia (ore 12:00-13:00) DBSF L'acquacoltura in Italia "lezione per gli studenti dell'Istituto Agronomico di Poisy (Alta Savoia)"</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>28/10/2002 - Prof. Loredano Pollegioni Laboratorio di Biochimica delle Proteine - DBSF L'effetto dello stato di oligomerizzazione sulla stabilità proteica: studi di ingegneria proteica e di unfolding</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>28/10/2002 - Dr. Ferruccio Maltagliati Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, sezione di Biologia Marina dell'Università di Pisa Aspetti di genetica della conservazione in <i>Aphanius fasciatus</i> (Teleostei, Cyprinodontidae) di ambienti salmastri del complesso sardo-corso</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>05/11/2002 - Prof. Davide Calamari DBSF Distribuzione e destino ambientale di PCBs e diossine ed implicazioni tossicologiche</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>19/11/2002 - Seminari dei dottorandi in BEV XVI ciclo DBSF Dr. Marco Bianchi: "Isolamento, caratterizzazione e comparazione evolutiva di geni localizzati nella regione peritelomerica del braccio lungo del cromosoma 6 (6q27)" Dr. Francesca Binda: "Effetti della temperatura sulle correnti di stato pre stazionario e trasporto-accoppiate del trasportatore del GABA rGAT1" Dr. Raffaella Cinquetti: "Ricerca di geni candidati coinvolti nel ritorno venoso polmonare anomalo totale" Dr. Simona Segalla: "La proteina di fusione PML/RAR, responsabile della leucemia promielocitica acuta, differisce da RAR nelle sue proprietà trascrizionali e nei suoi effetti sulla struttura cromatinica"</li> </ul>



- 10/12/2002 - Prof. Silvana Canevari  
Istituto tumori di Milano  
titolo

## EVENTI

Il DBSF ospita presso le sue strutture, ed in particolare nell'Aula Magna e nei locali di servizio, numerose manifestazioni, organizzate dall'Ateneo, come anche da altri Enti pubblici e privati.

<b>Titolo</b>	<b>Date</b>	<b>Organizzazione</b>
Il collaudo tecnico-funzionale delle opere di collettamento e depurazione dei liquami	29 Gennaio 2002	Ordine degli Ingegneri della Provincia di Varese
Il risanamento del lago di Varese: questi i risultati	19 Aprile 2002	Provincia di Varese - Sogeiva - Università dell'Insubria
Colloquio telematico con l'INPS	6 Maggio 2002	INPS - Sede di Varese
Sudan: Terra dei Faraoni neri	11 Maggio 2002	Comune di Varese - Università dell'Insubria Int. Res. Center for Local Histories and Cultural Diversities
Le radici dell'identità europea	29 Maggio 2002	Centro Culturale "Massimiliano Kolbe"

## ATTIVITA' DIDATTICA

I docenti del DBSF hanno tenuto i seguenti insegnamenti ufficiali per i corsi di Laurea e di Diploma della Facoltà di Scienze MFN di Varese:

Insegnamento	CFU	Docente
Acquacoltura	5	Prof. Marco saroglia
Analisi e gestione della biocenosi	5	Prof. Guido Tosi
Anatomia comparata (Varesee Busto Arsizio)	5	Prof. Mariangela Prati
Antropologie ed etnografia	5	Prof. Giulio Lanzavecchia
Biochimica Applicata (Scuola di Specialità in Biochimica Clinica)		Prof. Mirella Pilone
Biochimica cellulare	5	Prof. Loredano Pollegioni
Biochimica industriale	5	Prof. Mirella Pilone
Biochimica del Metabolismo (LS Biologia)	3	Prof. Mirella Pilone
Biogeografia	5	Dr. Adriano Martinoli
Biologia cellulare della riproduzione e sviluppo	5	Dr. Maurizio Brivio
Biologia dello sviluppo e teratologia	3	Prof. Mariangela Prati
Biologia e Farmacologia dei processi neoplastici	2	Prof. Elena Monti
Biologia molecolare	5	Prof. Gianfranco Badaracco
Biologia molecolare II	10	Dr. Nicoletta Lansberger
Biologia strutturale e funzionale	5	Prof. Giovanni Bernardini (coord) Prof. Loredano Pollegioni Dr. Maurizio Brivio
Biotecnologie cellulari	5	Prof. Giovanni Bernardini (coord) Dr. Maurizio Brivio
Biotecnologie vegetali	5	Prof. Marcella Bracale
Botanica	5	Prof. Paolo Gerola
Botanica (II modulo)	5	Prof. Paolo Gerola
Botanica ambientale ed applicata	5	Dr. Bruno Cerabolini
Botanica sistematica	5	Dr. Bruno Cerabolini
Botanica II	5	Prof. Marcella Bracale
Chemioterapia	5	Prof. Elena Monti
Chimica ambientale e chemiometria	5	Prof. Paola Gramatica
Chimica analitica	5	Prof. Paola Gramatica Prof. Stefano Banfi Dr. Alessandro Fumagalli Dr. Antonio DiGuardo
Chimica biologica (Varese)	5	Prof. Mirella Pilone
Chimica biologica (Busto Arsizio)	5	Prof. Mauro Fasano
Chimica biologica (esercitazioni Busto Arsizio)	0.5	Dr. Luciano Piubelli
Chimica biologica II (Biochimica strutturale)	5	Prof. Loredano Pollegioni
(Enzimologia)	5	
Chimica dell'ambiente	5	Prof. Paola Gramatica
Chimica generale ed inorganica	5	Prof. Alessandro Fumagalli
Chimica organica	5	Prof. Paola Gramatica

Chimica organica (Busto Arsizio)	5	Prof. Stefano Banfi
Citologia e Istologia (Busto Arsizio)	5	Prof. Giovanni Bernardini
Citologia e Istologia (Varese)	5	Dr. Rosalba Gornati
Citogenetica	5	Prof. Achille Ghidoni
Ecofisiologia vegetale		Prof. Paolo Gerola
Ecologia	5	Prof. Davide Calamari
Ecologia acquatica	5	Prof. Giuseppe Crosa
Ecologia microbica	5	Prof. Paola Barbieri
Ecologia quantitativa	5	Prof. Giuseppe Crosa
Educazione ambientale		Prof. Guido Tosi
Ecologia vegetale		Dr. Bruno Cerabolini
Elementi di Biologia vegetale		Dr. Candida Vannini
Evoluzione biologica	5	Prof. Giulio Lanzavecchia
Farmacologia	5	Prof. Elena Monti
Farmacologia cellulare e molecolare	5	Prof. Daniela Parolaro
Filogenesi vegetale	5	Prof. Paolo Gerola
Fisica (per Informatica)	5	Prof. Fabrizio Celentano
Fisica (Varese)	5	Prof. Fabrizio Celentano
Fisica (Busto Arsizio)	5	Prof. Alfredo Porati
Fisica II	10	Dr. Maria Ilde Granero
Fisiologia cellulare	5	Dr. Stefano Giovannardi
Fisiologia generale	5	Dr. Stefano Giovannardi
Fisiologia I (Busto Arsizio)	5	Prof. Riccardo Fesce
Fisiologia II (Busto Arsizio)	5	Prof. Riccardo Fesce
Fisiologia generale II		
Fisiologia dei sistemi	5	Dr. Carlo Rossetti
Neurofisiologia	5	Prof. Riccardo Fesce
Fisiologia vegetale	5	Dr. Alberto Vianelli
Fitogeografia	5	Dr. Bruno Cerabolini
Fondamenti di valutazione di impatto ambientale (Chimica dell'ambiente) (Ecologia applicata)	5 5	Prof. Paola Gramatica Dr. Antonio Di Guardo
Genetica	5	Prof. Giorgio Binelli
Genetica (Busto Arsizio)	5	Prof. Achille Ghidoni
Genetica funzionale e Genomica	5	Prof. Roberto Taramelli
Genetica molecolare	5	Prof. Roberto Taramelli
Genetica molecolare ed evolutiva	5	Prof. Giorgio Binelli
Genetica II (Genetica II) (Genetica molecolare)		Dr. Francesco Acquati Prof. Giorgio Binelli
Genetica di popolazione	5	Prof. Giorgio Binelli
Genetica umana	5	Prof. Roberto Taramelli
Immunologia	5	Dr. Ian Marc Bonapace
Ittiologia	5	Prof. Marco Saroglia
Laboratorio di Biologia sperimentale I	5	Prof. Magda de Eguileor (coord.)
Laboratorio di Biologia sperimentale II	5	Dr. Maurizio Brivio (coord.) Dr. Paola Campomenosi
Laboratorio di Chimica	5	Prof. Stefano Banfi
Laboratorio di Chimica (Busto Arsizio)	5	Dr. Lucia Carlucci

Laboratorio di Enzimologia		Dr. Gianluca Molla
Laboratorio di Fisica applicata (Varese e Busto Arsizio)	5	Dr. Maria Ilde Granero
Laboratorio di farmacologia cellulare e molecolare	5	Dr. Marzia Gariboldi
Laboratorio integrato di biologia	3	Dr. Luciano Piubelli Prof. Gianfranco Badaracco
Laboratorio di Metodologie biochimiche (Biotecnologie)		Dr. Gianluca Molla
Laboratorio di Neuropsicofarmacologia	3	Prof. Daniela Parolaro
Laboratorio di tecniche fisiologiche	3	Dr. Elena Bossi
Laboratorio di tecniche istologiche (Busto Arsizio)	5	Dr. Annalisa Grimaldi
Metodi matematici e statistici	10	Prof. Alfredo Porati
Metodologie Biochimiche	5	Prof. Mauro Fasano
Metodologie biologico-molecolari	5	Dr. Nicoletta Landsberger
Microbiologia generale	5	Prof. Paola Barbieri
Microbiologia ambientale	5	Prof. Paola Barbieri
Modelli animali sperimentali	5	Prof. Magda De Eguileor
Modelli in vivo		Prof. Magda De Eguileor Dr. Carlo Rossetti
Modelli matematici in biologia LS Scienze Biologiche		Prof. Alfredo Porati
Morfologia e fisiologia vegetale		Prof. Marcella Bracale
Neuropsicofarmacologia con esercitazioni	3	Prof. Daniela Parolaro
Patologia generale	5	Dr. Ian Marc Bonapace
Principi di Neuroscienze		
Saggi e dosaggi farmacologici	3	Prof. Elena Monti
Scienze della Vita 1 (Varese e Busto Arsizio)	5	Prof. Giovanni Bernardini (coord) Prof. Giorgio Binelli Prof. Loredano Pollegioni
Scienze della Vita 2 (Varese e Busto Arsizio)	5	Prof. Roberto Valvassori (coord) Prof. Paolo Gerola Prof. Paola Barbieri Prof. Loredano Pollegioni
Scienze della Vita 3	5	Prof. Giorgio Binelli Prof. Gianfranco Badaracco
Scienze della Vita 4	5	Dr. Luciano Piubelli Dr. Stefano Giovannardi
Simulazione		Prof. Fabrizio Celentano
Sistemi informativi territoriali		Dr. Damiano Preatoni
Statistica	5	Prof. Alfredo Porati
Tossicologia	5	Dr. Gianpaolo Perletti
Tossicologia applicata	3	Dr. Gianpaolo Perletti
Tossicologia cellulare e molecolare	2	Dr. Gianpaolo Perletti
Valutazione di impatto ambientale	5	Prof. Davide Calamari
Zoocenosi e gestione della fauna	5	Prof. Guido Tosi
Zoologia	5	Prof. Roberto Valvassori
Zoologia II (AGRN)	5	Prof. Roberto Valvassori
Zoologia II Entomologia	5	Prof. Magda de Eguileor

Zoologie e morfologia funzionale	5	Prof. Magda De Eguileor
----------------------------------	---	-------------------------

## LAUREATI

Studente	Corso di Laurea	Relatore	Titolo della tesi
Andriolo Gabriella	F19 –F32	Prof. Pollegioni Loredano	Studi funzionali della glicina ossidasi da <i>Bacillus subtilis</i> : effetto del pH ed interazione del cofattore con la forma apoproteica
Armiento Deborah	F58	Dr. Alberto Vianelli	<i>Chloroflexus auranticus</i> : effetto di condizioni ossidanti sulla funzionalità dei clorosomi
Arnaboldi Francesca	F19 –F32	Prof. de Eguileor Magda	Modificazione nell'organizzazione strutturale del collagene durante la riparazione di ferite in <i>hirudo medicinalis</i> .
Bacconi Andrea	F19 –F32	Prof. Riccardo Fesce	Relazione tra movimento di carica e corrente associata al trasporto nel cotrasportatore neuronale di gaba, <i>rgat1</i> .
Balanzoni Annalisa	F19 –F32	Prof. Daniela Parolaro	Effetto degli interferoni sulle catecolamine endogene nelle cellule mononucleate circolanti umane: possibile rilevanza per la sclerosi multipla.
Balzarotti Ambra	F55	Prof. Gianfranco Badaracco	Le basi molecolari della malattia linfoproliferativa legata al cromosoma x
Barocco Laura	F19 –F32	Dr. Carlo Rossetti	Gli anticorpi anti-citrullina nell'artrite reumatoide.
Basso Patrizia	F19 –F32	Prof. de Eguileor Magda	I livelli di Ossigeno influenzano l'organizzazione strutturale e funzionale delle branchie in <i>Dicentrarchus Labrax</i> .
Bellinetto Sonia	F19 –F32	Prof. Mariangela Prati	Embriotossicità da Arsenico: <i>Xenopus tropicalis</i> come modello alternativo allo <i>Xenopus laevis</i> .
Bernascone Ilenia	F19 –F32	Prof. Taramelli Roberto	Malattia cistica della midollare e glomerulonefrite cistica: forme alleliche dovute ad alterata dinamica di secrezione dell'uromodulina.
Bernasconi Mariagrazia	F19 –F32	Prof. Loredano Pollegioni	L'uso della spettrofotometria a stopped - flow nello studio della reazione di alfa,beta-eliminazione della D-aminoacido ossidasi.
Bertuletti Norma	F19 –F32	Dr. Carlo Rossetti	Espressione del recettore per l'ormone rilasciante le gonadotropine (GnRHR) nelle cellule ipofisarie normali e negli adenomi ipofisari.
Bonfadini Chiara	F19 –F32	Prof. Elena Monti	Modulazione del sistema p53-p21: possibili strategie per il superamento della resistenza alla doxorubicina in linee cellulari tumorali umane.
Bossi Gabriella	F55	Prof. Daniela Parolaro	Effetto Antiproliferativo Dell' Arvanil in una Linea Cellulare di Glioma
Brocca Marco	F19 –F32	Prof. Mirella Pilone	Valutazione globale e locale dello

Giovanni			sviluppo del settore Biotecnologico con particolare attenzione al ruolo dei servizi a valore aggiunto: analisi di casi concreti.
Caccia Roberta	F19 –F32	Prof. Roberto Taramelli	Studi di genetica molecolare di casi di diabete neonatale permanente.
Calloni Ester	F19 –F32	Prof. Fumagalli Alessandro	Rilevamento ambientale di metalli in tracce. Uno studio preliminare sulla diffusione di platino e rodio.
Campa Manuela	F19 –F32	Prof. Bracale Marcella	Ascorbato perossidasi tilicoidale: Risultati da piante transgeniche di arabidopsis thaliana.
Campagnaro Stefania	F19 –F32	Dr. M. Brivio	Ruolo delle cellule dendritiche nella proliferazione antigene-indipendente dei linfociti T.
Cangemi Adelio	F19 –F32	Prof. Roberto Taramelli	Caratterizzazione molecolare del punto di rottura (10,21) (923, 911) associato ad un caso di ritorno venoso polmonare anomalo totale.
Cappelletti Elena	F19 –F32	Prof. Gianfranco Badaracco	Studio di una proteina coinvolta nei meccanismi molecolari responsabili dell'insorgenza della sindrome di Rett.
Caprioli Stefania	F19 –F32	Prof. Banfi Stefano	Attivazione dell'ossigeno Molecolare fotocatalizzata da ftalocianine funzionalizzate: applicazioni in vitro.
Carcano Elena	F19 –F32	Prof.ssa Parolaro Daniela	Immagazzinamento e liberazione di catecolamine endogene nei linfociti umani: studio farmacologico in vitro
Carelle Francesca	F55	Prof. Gianpaolo Perletti	Costruzione di un Vettore Retrovirale per il Trasferimento Genico Dell' Isoforma d della Protein Chinasi c
Carnevali Ileana	F19 –F32	Prof. Elena Monti	Espressione del fattore di crescita epatocitario (HGF) e del suo recettore Met nelle cellule endocrine e nei tumori endocrini gastroenteropancreatici.
Casati Emanuela		Dr. Gianpaolo Perletti	Costruzione del Vettore Retrovirale pBabe/GFP/PKCd ed Esperimenti di Trasferimento Genetico della Protein Chinasi c d
Carravieri Sara	F19 –F32	Prof. Marcella Bracale	Studio dell'espressione delle ascorbato perossidasi cloroplastiche in Arabidopsis thaliana.
Cassetti Simone	F58	Prof. G. Badaracco	Produzione e purificazione di LBR (lamin B receptor) ricombinante
Castellani Diletta	F19 –F32	Prof. de Eguileor Magda	Un segnale sonic Hedgehog - like è coinvolto nel differenziamento delle fibre muscolari lente in sepiia officinalis.
Castellani Gianmaria	F19 –F32	Prof. L. Pollegioni	Problematiche nell'utilizzo biotecnologico di una flavoproteina.
Castiglioni Arianna	F19 –F32	Prof. Crosa Giuseppe	Fiume Olona: funzionalità fluviale,effetti tossici dei sedimenti e stato ecologico.
Castiglioni Loredana	F19 –F32	Dr. Cerabolini Bruno	Studio delle caratteristiche morfo-funzionali riproduttive di specie erbacee dei boschi latifoglie decidue



			(Quercus Fagetea).
Castiglioni Sara	F19 –F32	Prof. Taramelli Roberto	Caratterizzazione funzionale di RNASE6PL e REV3L, due potenziali geni oncosoppressori umani localizzati in 6q27 e 6q21.
Cavaliere Rosalia	F19 –F32	Prof. Bernardini Giovanni	La densità di allevamento influenza l'espressione genica in dicentrarchus labrax
Cereda Elena	F19 –F32	Prof. Monti Elena	Effetto chemiosensibilizzante del nitrossido piperidinico tempol nei confronti della temozolomide su linee cellulari di glioma maligno umano.
Chirico Nicola	F19 –F32	Prof. Alfredo Porati	Efficienza nel trasferimento della biomassa e stabilità in catena alimentare modello.
Clerici Francesca	F55	Prof.ssa Daniela Parolaro	Uso di linee cellulari umane in coltura per lo studio dell'azione citotossica di composti fotosensibilizzanti
Colombo Alessio	F19 –F32	Prof. Taramelli roberto	Espressione di antigeni correlati con l'attività proliferativa nei carcinomi gastrointestinali con instabilità dei microsatelliti
Colombo Cristina	F19 –F32	Prof. Elena Monti	Modulazione dopaminergica dell'apoptosi nelle cellule mononucleate circolanti umane: valutazione farmacologica dei meccanismi implicati.
Crema Simone	F19 –F32	Prof. G. Badaracco	La PCR (Polimerase Chain Reaction) differenziale nella diagnosi della Sindrome Riproduttivo-Respiratoria del suino. Valutazione di due metodiche.
Cremona Mattia	F19 –F32	Prof. Antonella Russo	Caratterizzazione citogenetica fine del breakpoint sui cromosomi 10 e 21 nella traslocazione t(10;21)(q23.1;q11.2) osservata in un soggetto affetto da una rara cardiopatia congenita.
Crespi Alessia	F19 –F32	Prof.ssa Monti Elena	Diagnostica di laboratorio nella malattia celiaca: efficienza del test Elisanelle nella ricerca di IgA anti-transglutaminasi in comparazione con il metodo endomisio in immunofluorescenza
Croce Paolo	F19 –F32	Prof. M. Bracale	Sovrespressione di osmyb4 in arabidopsis thaliana: analisi fisiologica e molecolare.
Cucchi Ulisse	F19 –F32	Prof. L. Pollegioni	Studio delle modifiche del proteoma dopo trattamento con inibitori del ciclo cellulare.
Dainese Alessia	F19 –F32	Prof. Badaracco Gianfranco	Analisi strutturale e funzionale del DNA metilato organizzato in cromatina
Dal Pozzolo Luce	F19 –F32	Dott. Cerabolini Bruno	Utilizzo di tecniche in vitro per la riproduzione di specie vegetali di particolare interesse conservazionistico

De Angelis Letizia	F19 –F32	Prof. Elena Monti	Identificazione della melatonina in topi sani ed affetti da leucemia e linfoma.
De Bernardi Daniele	F19 –F32	Prof.ssa Bracale Marcella	Sviluppo di un sistema di real-time pcr di tipo multiplex con sonde taqman mgb (minor groove binder) per la determinazione quantitativa di alimenti contenenti soia roudap ready
De Girolamo Laura	F19 –F32	Prof. Guido Tosi	Caratterizzazione degli ecotipi di trota (salmo trutta) della provincia di Varese: L'impiego integrato di analisi ecologiche e tecniche di genetica molecolare.
Delle Carne Marco	F19 –F32	Prof. Bernardini Giovanni	Possibile ruolo della melatonina nel timo, organico linfoide primario del sistema immunitario.
Dondi Davide	F19 –F32	Dr. Gianpaolo Perletti	Costruzione di vettori di espressione codificanti il fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF) per l'angiogenesi terapeutica.
D'Orazio Valeria	F55	Prof. Gian Vico Melzi d'Eril	Determinazione dell'emoglobina glicata: confronto tra metodi
Drentin Ilaria	F19 –F32	Prof. Monti Elena	Effetto sinergico del nitrossido piperidinico tempol e doxorubicina su linee cellulari si carcinoma mammario umano.
Dufosse Beatrice	F19 –F32	Prof. M. de Eguileor	Espressione in hirudo medicinalis di alcuni fattori di crescita in risposta ad eventi traumatici sperimentali.
Fanali Gabriella	F19 –F32	Prof. Mauro Fasano	Analisi spettroscopica dei parametri termodinamici di unfolding dell'emalbumina umana.
Ferrari Claudia	F19 –F32	Dr. Di Guardo Antonio	Un modello dinamico per la valutazione del destino ambientale di molecole organiche nelle acque superficiali.
Ferrario Deborah	F19 –F32	Prof. A. Fumagalli	Determinazione di metalli in tracce nelle acque lacustri per mezzo della spettroscopia di assorbimento atomico.
Ferrario Ylenia	F19 –F32	Prof. Badaracco Gianfranco	Effetto proliferativo della proteina Tat di HIV - 1 su cellule epiteali, analisi dell'espressione genica nelle cellule trattate.
Ferrazzi Nicoletta	F19 –F32	Prof. Valvassori Roberto	I nematodi gastrointestinali abomasali quali indicatori biologici della variabilità in alcune popolazioni di capriolo in trentino Alto Adige
Francioli Silvia	F19 –F32	Prof. Giovanni Bernardini	L'uso di colture cellulari nei test di tossicità richiesti per legge: quadri tossicologici relativi a metalli in tracce.
François Stephanie Anne	F19 –F32	Dr. Nicoletta Landsberger	Studio e caratterizzazione dell'interazione tra le proteine MCCP2 e LBR.
Galimberti Marta	F19 –F32	Prof. Marcella Bracale	Analisi molecolare della tolleranza allo stress salino in vite.
Garuti Elena	F19 –F32	Dr. Vianelli Alberto	Meccanismo di tolleranza alla Fe-

			carezza in Paretarieta L. diffusa.
Gentili Enrico	F19 –F32	Prof. Badaracco Gianfranco Dr. Ian Marc Bonapace	Studio della funzione di nasp e valutazione del suo ruolo nel processo di proliferazione cellulare.
Gerola Stefano	F58	Prof. L. Pollegioni	Costruzione di un vettore per l'espressione di ripetizioni multiple dell'ubiquitina in forma tagged in cellule eucarioti
Giani Elisa	F58	Prof. Paola Gramatica	Fussi di nichel, piombo e mercurio nella regione piemonte valutati mediante muschi e suoli
Gilardini Georgia	F19 –F32	Prof. A. Ghidoni	Caratterizzazione citogenetica e molecolare di delezioni 6q in 22 linfomi maligni umani.
Girelli Serena	F55	Prof. Pier Giulio Conaldi	Uso delle colture cellulari e di metodiche di Western Blot per lo studio degli effetti cellulari di farmaci antitumorali
Giuliani Daniela	F19 –F32	Prof. Elena Monti	Modificazioni di sensibilità ad agonisti per i recettori a2 adrenergici oppioidi nel plesso mienterico del colon di cavia dopo denervazione simpatica cronica : Ruolo delle proteine G.
Gomiero Paola Bruna	F19 –F32	Prof. G. Badaracco	Caratterizzazione dell' interazione di Np95 con la cromatina.
Gorla Giorgio	F19 –F32	Prof. Fasano Mauro	Ruolo del plasmigeno nella diffusione retrograda della proteina PrP patologica
Grampa Monica	F55	Prof. Pier Giulio Conaldi	Studio della distribuzione di ceppi farmacoresistenti in campioni di urina di pazienti ricoverati in ospedale o esterni
Gualandris Simona	F19 –F32	Prof. Elena Monti	Modalità di morte cellulare indotta da paclitaxel in cellule di carcinoma della prostata.
Gualdoni Sara	F19 –F32	Prof. Bernardini Giovanni	Effetto della biomassa sull'espressionie genica in fegato di dicentrarchus labrax: ricerca di biomarcatori.
Guiggi Alessandro	F19 –F32	Prof. Gerola Paolo	Processi di mondializzazione della flora: il caso delle opuntioideae (cactaceae) in italia.
Guolo Bortolo	F19 –F32	Dr. Cerabolini Bruno	Interpretazione della vegetazione forestale della lombardia tramite I concetti di tipo funzionale e di strategie delle piante.
Guzzetti Sonia	F58	Prof. G. Bernardini	Chimica delle reazioni enzimatiche nei fluidi corporei:applicazioni del sistema per chimica clinica dimension RXL nella definizione di un caso clinico di pancreatite acuta
Le Mura Angelo	F19 –F32	Prof. Crosa Giuseppe	Contributo alla conoscenza della Parassitofauna di Scardinius Erythrophthalmus
Lemmo Antonio	F19 –F32	Prof. Ghidoni Achille	Anomalie dei centrosomi in tumori

			solidi con instabilità cromosomica: studio citogenetico ed ultra strutturale
Loria Maria Teresa	F19 –F32	Prof. Alessandro Fumagalli	Interazione fra bio-molecole e metalli in basso stato di ossidazione.
Luciani Paolo	F58	Dr. Stefano Giovannardi	Utilizzo degli oociti di <i>Xenopus laevis</i> come sistema di espressione eterologa
Mainini Ester	F55	Prof. Pier Giulio Conaldi	Messa a punto del metodo di dosaggio microbiologico per la Ramoplanina nelle feci di Hamster
Maio Ramona Consuelo	F19 –F32	Dr. Rossetti Carlo	Studi in vitro degli effetti di vb3320,1 estratto dal cianobatterio planktothrix FP1 sulla funzionalità dei granulociti neutrofili umani.
Malvestiti Francesca	F19 –F32	Prof. Ghidoni Achille	Analisi di 50 casi di sindromi mielodisplastiche con tecniche di citogenetica molecolare e citofluorimetria.
Marangoni Simona	F19 –F32	Dr. B. Cerabolini	Studio della germinazione e dell'allocazione riproduttiva in specie delle praterie dei substrati carbonatici delle prealpi lombarde.
Marcomini Barbara	F19 –F32	Prof. Bernardin Giovanni	Genetica molecolare di carcinomi primitivi sincroni dell'endometrio e dell'ovaio.
Marelli Silvia	F19 –F32	Prof. M. Pilone	Identificazione dei determinanti strutturali responsabili della dimerizzazione della d-aminoacido ossidasi da <i>Rhodotorula gracilis</i> : ruolo della dimensione del loop beta 12-beta13.
Marmorato Patrick	F55	Prof. Daniela Parolaro	Determinazione di analiti nelle matrici biologiche solide: recensione critica dal 1995 al 2002 e confronto sperimentale di alcune metodiche
Marsoni Milena	F19 –F32	Prof. Marcella Bracale	Sovraespressione del gene di riso OsMyb7, indotto da anossia, in piante transgeniche di <i>Arabidopsis thaliana</i> .
Martin Vittoria	F19 –F32	Prof. Taramelli Roberto	Definizione del pattern di delezione 6q in tumori ovarici epiteliali con tecniche di citogenetica molecolare.
Martinenghi Massimo	F19 –F32	Prof. Tosi Guido	Ecologia comportamentale dello svasso maggiore ( <i>Podiceps cristatus</i> ) a sperimentazione di Metodi ecologici di dissuasione sulle popolazioni dei principali corpi idrici prealpini
Martinengo Alessandro Maurizio	F19 –F32	Dr. Carlo Rossetti	Produzione ed accumulo di saxitossina nel cianobatterio <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> .
Mascheroni Alessandro	F19 –F32	Prof. P. Gerola	Gradiente altitudinale e cenosi corticicole in una valle alpina (valle anzasca-massiccio del monte rosa).
Mastore Maristella	F19 –F32	Dr. Maurizio Brivio	Controllo biologico di insetti - vettore : I
Mastroeni Roberto		Prof. Gianfranco Badaracco	Determinazione di analiti nelle matrici biologiche solide: recensione critica dal 1995 al 2002 e confronto sperimentale

			di alcune metodiche
Mattarucchi Elia	F19 –F32	Prof. Bracale Marcella	Studio e sviluppo di materiali di riferimento standard di una nuova generazione per l'identificazione e la qualifica di organismi geneticamente modificati (OGM).
Mazzagatti Luigi	F19 –F32	Prof. Banfi Stefano	Nouve porfirine e clorine come catalizzatori nella PDT dei tumori: studi preliminari in vitro.
Migliazza Cristina	F19 –F32	Prof. Tosi Guido	Influenza della attività di ripopolamento sulla variabilità fenotipica e genetica di trota fario (Salmo trutta) in alcuni bacini dell'Italia settentrionale
Montalto Cristina	F58	Prof. Giovanni Bernardini	Meccanismo d'azione della glucosamina solfato nell'osteoartrosi: modulazione di geni indotti dall'attivazione di NF - KB
Montani Laura	F19 –F32	Prof. Renesto Silvio	Un nuovo attinotterigio del norico dell'italia settentrionale
Monti Laura	F19 –F32	Prof. Taramelli Roberto	Studio della attività Antiproliferativa del gene RNASET2 in linee cellulari di Melanoma e Carcinoma mammario.
Monti Raffaella	F19 –F32	Prof. Mariangela Prati	Localizzazione dell'allantoicasi in embrioni di xenopus mediante ibridazione in situ.
Moretto Monica	F19 –F32	Prof. A. Peres	Studio delle aritmie cardiache atriali ad origine focale mediante sistema di mappaggio elettroanatomico.
Mussida Maria Elena	F19 –F32	Prof. Giovanni Bernardini	Identificazione e clonaggio in Xenopus laevis di SP22, una proteina coinvolta nella fertilita' .
Negri Diego	F19 –F32	Prof. Roberto Taramelli	Caratterizzazione funzionale di un gene (FOP), con potenziale attività antiproliferativa, che mappa in una regione cromosomica (6q27) deleta in numerose neoplasie umane.
Niada Monica	F19 –F32	Prof. Roberto Taramelli	Espressioni del fattore di crescita vascolare-endoteliale (VEGF) e dei suoi recettori nelle cellule normali e nei tumori del sistema endocrino gastroenteropancreatico.
Nizzetto Luca	F19 –F32	Dr. Di Guardo Antonio	Contaminanti organici persistenti (POPs) in specie arboree lungo un gradiente altitudinale.
Olivetto Sabrina	F19 –F32	Prof. Badaracco Gianfranco	Studio genotipico delle resistenze del virus dell'HIV.
Osti Daniela	F19 –F32	Dr. Perletti Gianpaolo	Effetto oncosoppressivo dell'isoforma (delta) della proteina chinasi c in un modello cellulare umano di adenocarcinoma del colon
Otto Erika	F19 –F32	Dr. Bruno Cerabolini	Individuazione di tipi funzionali e strategie in specie della flora dell'Italia nord-occidentale.
Palazzo Marco	F19 –F32	Dr. Rossetti Carlo	Effetti regolatori in vitro dell' lps del cianobatterio planktothrix fp1 in linee

			tumorali umane.
Palumbo Simona	F19 –F32	Prof. Monti Elena	Modulazione oppioide di aspetti funzionali delle cellule dentritiche.
Papis Elena	F19 –F32	Prof. Bernardini Giovanni	Espressione e Clonaggio della sat II in xenopus laevis.
Pastori Marco	F19 –F32	Prof. Alessandro Fumagalli	Bio-molecole e clusters carbonifici omo- ed eterometallici del 9° e 10° gruppo. Uno screening delle reattività di ammine,aminoacidi e nucleobasi.
Pedrazzini Massimo	F55	Prof. Gian Vico Melzi d'Eril	Uso della real-time PCR per la valutazione quantitativa della contaminazione microbica
Pezzoni Laura	F19 –F32	Prof. Tosi Guido	Spettro trofico e strategie alimentari del cormorano (Phalacrocorax carbo) nei principali corpi idrici prealpini.
Pilutti Pamela	F19 –F32	Prof. P. Gramatica	Studi qsar per la predizione della reattività troposferica di inquinanti atmosferici.
Pisani Rossana	F19 –F32	Prof. Daniela Parolaro	Studio dell'espressione dei recettori alfa 2 - adrenergici e delle proteine G di trasduzione nel plesso mienterico del colon di cavia dopo trattamento cronico con desipramina.
Platini Andrea	F19 –F32	Prof. Porati Alfredo	Conseguenze dell'immissione di una nuova specie in un ecosistema stabile: un modello matematico.
Priore Nathalie	F58	Dr. S. Giovannardi	Utilizzo della GFP nello studio dei trasportatori di neuro trasmettitori
Putzo Valentina	F58	Prof. Paola Barbieri	Nuove tecnologie per l'identificazione di batteri gram-negativi non fermentati e per la valutazione della loro sensibilità ai farmaci
Rabbachin Alessandro	F58	Dr. Bruno Cerabolini	Analisi del tasso di accrescimento relativo di specie vegetali di praterie di substrati carbonatici delle prealpi lombarde
Raimondi Andrea	F19 –F32	Prof. Calamari Davide	Flussi doi ioni dall'atmosfera al suolo in sei aree forestali italiane inserite nel programma nazionale integrato per il controllo degli ecosistemi forestali (con.eco.for.).
Ramazzotti Ivana	F19 –F32	Prof. G. Tosi	Valutazione dell'efficienza di tre sistemi di classificazione dell'idoneità ambientale applicati a specie di ambienti alpini.
Ribolzi Davide	F19 –F32	Dr. Cerabolini Bruno	Analisi floristiche e strutturali delle principali fitocenosi forestali lombarde.
Rimoldi Simona	F19 –F32	Prof. Giovanni Bernardini	Caratterizzazione genica e funzionale dell' allantoicasi di topo.
Rinaldi Laura	F19 –F32	Prof. G. Badaracco	Studio della capacità di rimodellamento della cromatina e delle proprietà trascrizionali indotte dall'oncoproteina PML/RAR.
Ripolone Michela	F19 –F32	Prof. Trinchera Marco	Identificazione del promotore del gene B3Gal-T5, codificante la B1,3

			galattosiltransferasi implicata nella sintesi dell'antigene tumorale CA19,9.
Romeo Elisa	F19 –F32	Prof. Antonio Peres	Loop extra citoplasmatici dei trasportatori na + /ci- - dipendenti coinvolti nella selettività del substrato.
Roveda Veronica	F19 –F32	Prof. P. Gerola	Studi preliminari sulla presenza della melatonina nelle spermatophyta.
Ruvolo Elena	F19 –F32	Prof. Barbieri Paolo	Indagini biomolecolari per la caratterizzazione e la classificazione filogenetica di un ceppo di pseudomonas
Sala Barbara	F19 –F32	Prof. Pollegioni Loredano	Ruolo di un residuo specifico nella stabilità strutturale di un metallo proteina.
Salvaderi Debora	F19 –F32	Prof. Badaracco Gianfranco	Analisi morfologica ed immunoistochimica dei tumori metastatici al sistema nervoso centrale.
Sciacca Laura	F19 –F32	Prof. de Eguileor Magda	Toxoneuron nigriceps vs heliothis virescens: strategie di parassitizzazione.
Serino Giovanni	F19 –F32	Prof. Guido Tosi	Allocazione riproduttiva e valenza trofica di specie legnose rappresentative delle tipologie forestali lombarde.
Skagiakou Nikoletta	F19 –F32	Prof. Roberto Taramelli	Localizzazione intracellulare della proteina codificata dal gene umano drap/bace2.
Staurengo Samantha	F19 –F32	Prof. Achille Ghidoni	Studio Morfologico, immunoistochimico e citogenetico di 29 casi di metastasi ovariche da carcinomi coloretali.
Stirati Diana	F58	Prof. Giovanni Bernardini	Il monitoraggio della sperimentazione clinica del farmaco
Tedeschi Andrea	F19 –F32	Prof. Barbieri Paola	Isolamento e caratterizzazione di un antigene polisaccarico
Tedesco Ilaria	F19 –F32	Prof. G. Crosa	Analisi limnologiche dei laghi di Varese, Comabbio e Monate.
Triacca Elvira	F19 –F32	Prof. Loredano Pollegioni	Directed Evulution della specificità di substrato della D - aminoacido ossidasi mediante error PCR.
Uboldi Chiara	F19 –F32	Prof. Giovanni Bernardini	Tossicologia in vitro di metalli in tracce: studi con colture cellulari.
Ueso Patrizia	F19 –F32	Dr. Brivio Maurizio	Aspetti della risposta cellulo - mediati e meccanismi di immunoevasione in un modello ospite - parassita.
Uguccione Stefania	F19 –F32	Prof. Elena Monti	Alterazioni della trasduzione del segnale nei leucociti polimorfonucleati neutrofili nella glicogenosi 1b. Effetti del trattamento con G-CSF.
Usai Chiara	F19 –F32	Prof. Badaracco Gianfranco	Effetti patogenetici della proteina regolatoria tat di HIV - 1 sulle cellule epiteliali glomerulari.
Valli Eleonora	F19 –F32	Dr. Giovannardi stefano	Domini funzionali coinvolti nella selettività al substrato in due trasportatori di aminoacidi neutri

			altamente omologhi.
Valli Lorenzo	F19 –F32	Prof. G. Tosi	Analisi delle relazioni quali-quantitative tra alcuni Vertebrati e componente forestale degli ecosistemi boschivi alpini e prealpini.
Vanzulli Raul	F19 –F32	Prof.ssa Parolaro Daniela	Esposizione personale agli inquinanti atmosferici e biomarkers di effetto: studio in una popolazione urbana.
Zanini Fabiola	F19 –F32	Dr. Giovannardi stefano	Effetti dello ione cloro sul funzionamento del cotrasportatore di Gaba Na <sup>+</sup> /Cl <sup>-</sup> -dipendente rGat1
Zaro Filippo	F19 –F32	Prof. Crosa Giuseppe	Analisi della struttura tassonomica della comunità zooplantonica del lago di Varese.



## **DOTTORATI DI RICERCA**

Fanno riferimento al DBSF le seguenti scuole di Dottorato con sede amministrativa presso l'Università dell'Insubria:

- A. Biologia Evoluzionistica e dello Sviluppo (Sede)**
- B. Analisi, protezione e gestione della Biodiversità (Sede)**

Il DBSF è consorziato con altre Università per i seguenti altri Corsi di Dottorato:

- C. **Fisiologia** - Referente: prof. Antonio Peres
- D. **Chimica, Biochimica ed Ecologia degli Antiparassitari** - Referente: Dr. Antonio Di Guardo
- E. **Scienze Chimiche** -Referente: Prof.ssa Paola Gramatica
- F. **Farmacologia, Chemioterapia e Tossicologia mediche** - Referente: Prof. Danela Parolaro
- G. **Farmacologia, Chemioterapia e Microbiologia** – Referente: prof. Elena Monti

## **Dottorato di Ricerca in “Biologia evoluzionistica e dello sviluppo”**

Coordinatore: Prof. Roberto Taramelli

**Durata del Dottorato:** 3 anni

**Programma formativo:** Il Dottorato di ricerca in Biologia Evoluzionistica e dello Sviluppo dalla sua attivazione, avvenuta nel Novembre 1996, si caratterizza per tematiche e progettualità di ricerca che riguardano l'evoluzione dei sistemi biologici. Lo studio degli aspetti evolutivi viene affrontato a vari livelli:

- genetico-molecolare (identificazione e caratterizzazione di geni che controllano la proliferazione/differenziamento cellulare conservati evolutivamente; variabilità delle strutture cromatiniche e dei meccanismi epigenetici nelle diverse fila)
- biochimico (analisi comparativa di meccanismi di catalisi),
- fisiologico (conservazione di molecole specializzate quali canali ionici e trasportatori).

Contemporaneamente sono anche presenti linee tematiche che riguardano lo sviluppo affrontato da un punto di vista genetico-molecolare (isolamento geni coinvolti nell'interazione uovo-spermatozoo in *Xenopus*; caratterizzazione geni che partecipano al fenomeno dell'incompatibilità gametofitica in *Nicotiana alata*) e morfo-funzionale (muscologenesi in vertebrati). L'attività di ricerca nell'ambito delle linee sopra menzionate è affiancata da seminari e lezioni a carattere monografico riguardanti argomenti di biologia evolutiva e dello sviluppo.

### **Collegio Docenti:**

Prof. Gianfranco Badaracco  
Prof. Giovanni Bernardini  
Prof. Marcella Bracale  
Dr. Maurizio Brivio  
Prof. Magda deEguileor  
Prof. Riccardo Fesce  
Prof. Paolo Gerola  
Dr. Stefano Giovannardi  
Prof. Mirella Pilone  
Prof. Loredano Pollegioni  
Dr. Alberto Vianelli

## **Dottorato di ricerca in “Analisi, protezione e gestione della biodiversità”**

**Coordinatore:** Prof. Davide Calamari

**Durata del Dottorato:** 3 anni

**Programma formativo:** Il dottorando nel corso dei tre anni dovrà condurre un progetto di ricerca riguardante analisi, protezione e gestione della biodiversità presso uno dei gruppi di ricerca a cui appartengono i proponenti, sui temi indicati:

- valutazione del rischio chimico per la protezione della biodiversità in relazione a sostanze xenobiotiche
- Integrazione di indicatori di biodiversità e qualità ambientale per la gestione territoriale riferiti a flora, vegetazione e paesaggio
- Meccanismi genetici influenti sull'adattamento ambientale di specie nocive
- Studi comparativi e filogenetici della muscolatura e della cavità corporea di invertebrati a corpo molle
- assorbimento della materia organica disciolta da parte del tegumento, come strumento per investigare i meccanismi adattativi di invertebrati acquatici
- Relazioni quantitative struttura-attività di composti chimici nei confronti di varie specie di organismi acquatici e terrestri
- Analisi e gestione della biodiversità nel sistema dei parchi della Tanzania
- Conservazione delle risorse naturali nel Parco Nazionale del Tarangire: i corridoi ecologici come strumento di conservazione della biodiversità
- Chiroterofauna e biodiversità: un approccio ecologico-molecolare
- Ecologia, distribuzione e variabilità della flora alpina ai fini della conservazione della biodiversità
- Allocazione riproduttiva, valenza trofica e modelli di dispersione per il mantenimento della diversità della dendroflora lombarda a frutti carnosì
- Metodi di valutazione degli effetti di xenobiotici sulla riproduzione e sullo sviluppo quale strumento nell'ecotossicologia
- Biologia ed ecologia delle alghe tossiche e loro effetti sugli ecosistemi acquatici

### **Collegio Docenti:**

Prof. Paola Barbieri  
Prof. Giorgio Binelli  
Dr. Bruno Cerabolini  
Prof. Giuseppe Crosa  
Prof. Paola Gramatica  
Prof. Mariangela Prati  
Prof. Marco Saroglia  
Prof. Guido Tosi  
Prof. Roberto Valvassori

## Elenco delle pubblicazioni 2002

### Articoli su riviste censite dall'Institute for Scientific Information

1. ARDINI, E., B. SPORCHIA, L. POLLEGIONI, M. MODUGNO, C. GHIRELLI, F. CASTIGLIONI, E. TAGLIABUE and S. MÉNARD Identification of a novel function for 67 kDa laminin receptor: Increase in laminin degradation rate and release of motility-fragments (2002) *Cancer Research* **62**, 1321-1325
2. Ascenzi, P, M. Fasano, L. Gradoni, "Do hemoglobin and hemocyanin impair *Schistosoma* killing by NO?", *IUBMB Life* **53**, 287-288 (2002).
3. Ascenzi, P, M. Fasano, M. Marino, G. Venturini, R. Federico, "Agmatine oxidation by copper amine oxidase: biosynthesis and biochemical characterization of N-amidino-2-hydroxypyrrolidine", *Eur. J. Biochem.* (2002).
4. Bacci A, Sancini G, Verderio C, Armano S, Pravettoni E, Fesce R, Franceschetti S, Matteoli M. Block of glutamate-glutamine cycle between astrocytes and neurons inhibits epileptiform activity in hippocampus. *J Neurophysiol.* 2002 **88**:2302-10
5. Banfi, S, L. Carlucci, E. Caruso, G. Ciani\* and D. M. Proserpio. Using long bis(4-pyridyl) ligands designed for the self-assembly of coordination frameworks and architectures. *J.Chem.Soc. Dalton Trans.* 2002, 2714-2721.
6. Binda, F., Bossi, E., Giovannardi, S., Forlani, G., & Peres, A. (2002). Temperature effects on the presteady-state and transport-associated currents of GABA cotransporter rGAT1. *FEBS Letters* **512**, 303-307.
7. Bolzoni, F., S. Giraud, B. Bergamasco, L. Lopiano, M. Fasano, P.R. Crippa, "Magnetic investigations of human mesencephalic neuromelanin" *Biochim. Biophys. Acta* **1586**, 210-218 (2002).
8. BORDIGNON E., SCARZELLO M., AGOSTINI G., GIACOMETTI G., A.VIANELLI, VANNINI C., CARBONERA D. (2002) Optically detected magnetic resonance of intact membranes from *Chloroflexus aurantiacus*. Evidence for exciton interaction between the RC and the B806-866 complex. *Photosynthesis Research* **71**: 45-57.
9. BOSELLI, A. S. SACCHI, V. JOB, M.S. PILONE and L. POLLEGIONI Role of tyrosine 238 in the active site of *Rhodospirillum rubrum* D-amino acid oxidase. A site-directed mutagenesis study (2002) *Eur. J. Biochem.* **269**, 4762-4771
10. Bossi, E., Giovannardi, S., Binda, F., Forlani, G., & Peres, A. (2002). Role of anion-cation interactions on the presteady-state currents of Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> -dependent cotransporters. *Journal of Physiology* **541**, 343-350.
11. Brivio, M. F., M. Pagani, S. Restelli. Immune suppression of *Galleria mellonella* (Insecta, Lepidoptera) humoral defenses induced by *Steinernema feltiae* (Nematoda, Rhabditida): involvement of the parasite cuticle. *Experimental Parasitology*, **101**, 149-156 2002.
12. BRUSA T., ZUCCHI M., PISONI C., GEROLA P., SORLINI C. (2002). Tovel "the red lake" preliminary microbiological studies. *ANNALS OF MICROBIOLOGY*. vol. 52, pp. 13-23.
13. CALAMARI D.(2002) Assessment of persistent and bioaccumulating chemicals in the aquatic environment. *Toxicology* **181-182**,183-186.
14. CALAMARI D., ZHANG L.(2002) Environmental risk assessment of pesticides on aquatic life in Xiamen,China.*Toxicology Letters.* **128**,45-53.
15. Casu M, Maltagliati F, Meloni M, Casu D, Cossu P, Binelli G, Curini-Galletti M, Castelli A (2002). Genetic structure of *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda) from the Mediterranean Sea as revealed by a microsatellite locus. *Journal of Italian Zoology*, **69**: 295-300.
16. Cecchini S., Saroglia M. (2002) Antibody response in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in relation to water temperature and oxygenation. *Aquaculture Research*, **33**(8):607-613
17. Consonni, V, R.Todeschini, M.Pavan and P.Gramatica. Structure/Response Correlations and Similarity/Diversity Analysis by GETAWAY descriptors. Part 2. Application of the novel 3D-molecular descriptors to QSAR/QSPR studies.*J. Chem.*

- Inf. Comput. Sci., 42, (2002) 693-705.
18. Costa B., Parolaro D., Colleoni M.; Chronic treatment with the endocannabinoid anandamide increases cytochrome P450 metabolizing system in the rat, "EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY", 449, 1-2, pp.61-69 (2002)
  19. Conti S., Costa B, Colleoni M, Parolaro D., Giagnoni G.; Antiinflammatory action of endocannabinoid palmitoylethanolamide and the synthetic cannabinoid nabilone in a model of acute inflammation in the rat, "BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY", 135, pp.181-187 (2002)
  20. Crosa G., and Buffagni A. Spatial and temporal niche overlap of two mayfly species (Ephemeroptera): the role of substratum roughness and body size. *Hydrobiologia*, 474: 107-115.
  21. Crosa G., Villa S., Cotta-Ramusino M. Local versus longitudinal biological variability in a high gradient stream. *Hydrobiologia*, 477: 107-114.
  22. CURRADI M., IZZO A., BADARACCO G., LANDSBERGER N. (2002). Molecular mechanisms of gene silencing mediated by DNA methylation. *MCB*. vol. 22, pp. 3157-73
  23. Delli Castelli, D., E. Lovera, P. Ascenzi, M. Fasano, "Unfolding of the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) myoglobin: A <sup>1</sup>H-NMR and electronic absorbance study". *Protein Sci.* 11, 2273-2278 (2002).
  24. DI VALENTIN M., MALORNI D., MANIERO A.L., AGOSTINI G., GIACOMETTI G., VIANELLI A., CATTANEO A.G., BRUNEL L.C., CARBONERA D. (2002) Structural investigation of oxidized chlorosomes from green bacteria using multifrequency Electron Paramagnetic Resonance up to 330 GHz. *Photosynthesis Research* 71: 33-44.
  25. Fasano, M., M. Mattu, M. Coletta, P. Ascenzi, "The heme-iron geometry of ferrous nitrosylated heme-serum lipoproteins, hemopexin, and albumin: a comparative EPR study", *J. Inorg. Biochem.* 91, 487-490 (2002).
  26. Fesce, R., Giovannardi, S., Binda, F., Bossi, E., & Peres, A. (2002). The relation between charge movement and transport-associated currents in the GABA cotransporter rGAT1. *Journal of Physiology* 545, 739-750.
  27. Fumagalli A.,\* Malatesta M. C., Tentori A., Monti D., Macchi P., Sironi A.\*, Synthesis and structural characterization of the {[Rh<sub>5</sub>(CO)<sub>14</sub>]-[H<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>]-[Rh<sub>5</sub>(CO)<sub>14</sub>]}<sup>2-</sup> and [Rh<sub>5</sub>(CO)<sub>13</sub>(H<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)]<sup>-</sup> anions (as [PPh<sub>4</sub>]<sup>+</sup> salts): an unprecedented example of carbonyl substitution by alkyl amines in a homoleptic metal carbonyl cluster anion. *Inorg. Chem.* 2002, 41, 76-85.
  28. Giovannardi, S., Forlani, G., Balestrini, M., Bossi, E., Tonini, R., Sturani, E., Peres, A., & Zippel, R. (2002). Modulation of the inward rectifier potassium channel IRK1 by the Ras signaling pathway. *J.Biol.Chem.* 277, 12158-12163.
  29. Gonzalez S., Fernandez-Ruiz J., Sparpaglione V., Parolaro D., Ramos JA.; Chronic exposure to morphine, cocaine or ethanol in rats produced different effects in brain cannabinoid CB(1) receptor binding and mRNA levels, "DRUG AND ALCOHOL DEPENDENCE", 66, 1, pp.77-84 (2002)
  30. Gornati, R, B. Berra, C. Martini, G. Montorfano, G. Ciana, P. Ferrari, M. Romano and B. Bembi. Glycolipid analysis of different tissues and cerebrospinal fluid in type 2 Gaucher disease. *J. of Inherited Metabolic Disease*: 2002; 25:47-55.
  31. Gornati, R, C. Monetti, D. Vigetti, S. Bosisio, S. Fortaner, E. Sabbioni, G. Bernardini and M. Prati. Arsenic toxicity and HSP70 expression in *Xenopus laevis* embryos. *ATLA*: 2002;30: 597-603.
  32. Gramatica, P and A. Di Guardo. Screening of pesticides for environmental partitioning tendency. *Chemosphere* , 47, (2002), 947-956.
  33. Gramatica, P Angela Santagostino, Ezio Bolzacchini and Bruno Rindone . Atmospheric monitoring toxicology and QSAR modelling of nitrophenols. *Fresenius Environ. Bull.*, 11, (2002) 757-762.
  34. Gramatica, P, Pamela Pilutti and Ester Papa. Ranking of Volatile Organic Compounds for Tropospheric Degradability by Oxidants: a QSPR Approach. *SAR & QSAR Env Res.*, 13 (2002) 743-753.

35. Gramatica, P, S.Pozzi, V.Consonni and A. Di Guardo. Classification of environmental pollutants for global mobility potential. SAR and QSAR in Env. Res., 13 (2), (2002) 205-217.
36. JOB, V, L. MARCONE, M.S. PILONE and L. POLLEGIONI Glycine oxidase from *Bacillus subtilis*: characterization of a new flavoprotein (2002) J. Biol. Chem. 277, 6985-6993
37. JOB, V, M.S. PILONE and L. POLLEGIONI Overexpression of a recombinant wild-type and His-tagged *Bacillus subtilis* glycine oxidase in *Escherichia coli* (2002) Eur. J. Biochem. 269, 1456-1463
38. Labra M., Ghiani A., Citterio S., Sgorbati S., Sala F., Vannini C., Ruffini-Castiglione M., Bracale M.(2002) Analysis of cytosine methylation pattern in response to water deficit in pea root tips. Plant Biol.6: 694-699.
39. Labra M., Vannini C., Sala F., Bracale M. (2002) Methylation changes in specific sequences in response to water deficit. Plant Biosyst. 136 (3): 269-276.
40. Larghi A, Zuin M, Crosignani A, Ribero ML, Pipia C, Battezzati PM, Binelli G, Donato F, Zanetti AR, Podda M, Tagger A (2002). Outcome of an outbreak of acute hepatitis C among healthy volunteers participating in pharmacokinetics studies. Hepatology, **36**: 993-1000.
41. Maccarrone M., Cartoni A., Parolaro D., Margonelli A., Massi P., Bari M., Battista N., Finazzi-Agrò A.; Cannabimimetic activity, binding, and degradation of stearyl ethanolamide within the mouse central nervous system., "MOLECULAR AND CELLULAR NEUROSCIENCE", 21, pp.126-140 (2002).
42. Mattu,M, M. Fasano, A. Spallarossa, M. Bolognesi, P. Ascenzi, "Hemopexin – The primary specific carrier of plasma heme" , Biochem. Mol. Biol. Educ. 30, 332-335 (2002).
43. Meschini S., Marra M., Calcabrini A., Monti E., Gariboldi M., Dolfini E., Arancia G. Role of the lung resistance related protein (LRP) in the drug sensitivity of cultured tumor cells. Toxicology in vitro 16: 389-398, 2002.
44. Molteni M., Kohn LD., Rossetti C., Scrofani S., Bonara P., Scorza R.: Co-expression of CD8 receptor in human CD4+ T-cell clone influences proliferation, cytosolic Ca<sup>2+</sup> release and cytokine production. Immunology letters 83: 111-117, 2002
45. Monetti, C, D. Vigetti, R. Gornati, M. Prati, G. R. Klinefelter, G. Bernardini. Identification and molecular cloning of *Xenopus laevis* SP22, a protein associated with fertilization in mammals. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.: 2002;132:761-767.
46. Monetti,C, D. Vigetti, M. Prati, E. Sabbioni, G. Bernardini, R. Gornati. Gene expression in *Xenopus* embryos after methylmercury exposure: a search for molecular biomarkers. Environmental Toxicology & Chemistry: 2002; 21:2731-2736.
47. Monti P, Campomenosi P, Ciribilli Y, Iannone R, Inga A, Abbondandolo A, Resnick MA, Fronza G. Tumour p53 mutations exhibit promoter selective dominance over wild type p53. *Oncogene*. 2002 Mar 7;21(11):1641-8.
48. Monti P, Campomenosi P, Ciribilli Y, Iannone R, Inga A, Shah D, Scott G,Burns PA, Menichini P, Abbondandolo A, Gold B, Fronza G. Influences of base excision repair defects on the lethality and mutagenicity induced by Me-lex, a sequence-selective N3-adenine methylating agent. *J Biol Chem*. 2002 Aug 9;277(32):28663-8.
49. Monzani, E., M. Curto, M. Galliano, L. Minchiotti, S. Aime, S. Baroni, M. Fasano, A. Amoresano, A. M. Salzano, P. Pucci, L. Casella, "Binding and Relaxometric Properties of Heme Complexes with Cyanogen Bromide Fragments of Human Serum Albumin", Biophys. J. 83, 2248-2258 (2002).
50. Parolaro D., Rubino T. Is cannabinoid transmission involved in rewarding properties of drugs of abuse?, "BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY", 136, pp.1083-1084 (2002)
51. Parolaro,D., Paola Massi, Tiziana Rubino, Elena Monti. Endocannabinoids in the immune system and cancer. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 66: 319-332, 2002.

52. PILONE MS and L. POLLEGIONI D-amino acid oxidase as an industrial biocatalyst (2002) *Biocatalysis and Biotransformation* 20, 145-159
53. PIUBELLI, L., L. CALDINELLI, G. MOLLA., M.S. PILONE and L. POLLEGIONI Conversion of the dimeric D-amino acid oxidase from *Rhodotorula gracilis* to a monomeric form. A rational mutagenesis approach (2002) *FEBS Letters* 512, 323-328
54. POLLEGIONI, L., K. DIEDERICHS, G. MOLLA, W. WELTE, S. UMHAU, S. GHISLA and M.S. PILONE Yeast D-amino acid oxidase: structural basis of its catalytic properties (2002) *J. Mol. Biol.* 324, 535-546
55. Prati M., Molteni M., Pomati F., Rossetti C., Bernardini G. Biological effect of the *Planktothrix* sp. FP1 cyanobacterial extract. *Toxicon* 2002, 40: 267-272.
56. Prati, M., R. Gornati, P. Boracchi, E. Biganzoli, S. Fortaner, R. Pietra, E. Sabbioni and G. Bernardini. A comparative study of the toxicity of mercury dichloride and methylmercury assayed by the Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX). *ATLA*: 2002;30:23-32.
57. Rizzo, AM, B. Berra, F. Rossi, A. Guerra, R. Gornati, G. Bernardini, T. Taki, T. Kasama, L. Mauri and S. Sonnino. Structure of the main ganglioside from the brain of *Xenopus laevis*. *Glycoconjugate J.*: 2002; 19: 53-57.
58. SACCHI, S, S. LORENZI, G. MOLLA, M.S. PILONE, C. ROSSETTI and L. POLLEGIONI Engineering the substrate specificity of D-amino-acid oxidase (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 27510-27516
59. Saroglia, M., G. Terova, A. De Stradis and A. Caputo (2002) Morphometric adaptations of sea bass gills to different dissolved oxygen partial pressure. *J. Fish Biology* 60:1423-1430.
60. Sidenius N, Andolfo A, Fesce R, Blasi F. Urokinase regulates vitronectin binding by controlling urokinase receptor oligomerization. *J Biol Chem.* 2002 277:27982-90.
61. Vigetti, D., C. Monetti, M. Prati, R. Gornati and G. Bernardini. Genomic organization and chromosome localization of the murine and humane allantoicase gene. *Gene*: 2002; 289:13-17.
62. VIGETTI, D., L. POLLEGIONI, C. MONETTI, M. PRATI, G. BERNARDINI and R. GORNATI Property comparison of recombinant amphibian and mammalian allantoicases (2002) *FEBS Letters* 512, 323-328
63. Walter, H, F. Consolaro, P. Gramatica, M. Scholze, R. Altenburger. Mixture toxicity of priority pollutants at No Observed Effect Concentrations (NOECs). *Ecotoxicology*, 11, (2002), 299-310
64. WAUTERS L.A., GURNELL J., MARTINOLI A., TOSI G., 2002. Interspecific competition between native Eurasian red squirrels and alien grey squirrels: does resource partitioning occur? *Behaviour Ecology and Sociobiology*, 52(4): 332-341.
65. WAUTERS L.A., TOSI G., GURNELL J., 2002. Interspecific competition in tree squirrels: do introduced grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) deplete tree seeds hoarded by red squirrels (*Sciurus vulgaris*)? *Behaviour Ecology and Sociobiology*, 51:360-367.

## Articoli su altre riviste

1. Caccianiga M., Andreis C., Cerabolini B. Vegetation and environmental factors during primary succession on glacier forelands: some outlines from the Italian Alps. *Plant Biosystems*, 135(3):295-310.
2. Galli P., Crosa G., Gentili A., Santagostino M. New geographical records of parasitic nematodes from *Bufo bufo* in Italy. *Parassitologia*, 43: 147-149.
3. Galli P., Stefani F., Zaccara S., Crosa G. Occurrence of Monogenea in Italian freshwater fish (PO river basin). *Parassitologia*, 44: 189-197.
4. Kemp J.L. , Harper D.M., Crosa G. A deeper understanding of river habitat-scale ecohydraulics: interpreting the relationship between habitat type, depth and velocity using knowledge of sediment dynamics and macrophyte growth. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 2: 271-282.
5. Suzuki T., Ezure T., Nakamura Y., Pomati F., Manarolla G., Rossetti C., Fabia W.M.F.: Extracts with in-vitro antitumor activity from cyanobacterium *Anabaena cylindrica* and its combined activity with some anticancer agents. *Anal Pharm* 35: 123-129, 2002



## Libri e capitoli di libri

1.	ANDREIS C., BARATELLI D., BELTRACCHINI M., CERABOLINI B., POGGIAGLIOLMI M., ROVELLI P., 2002. Monte Canto fra pianura e montagna - Il bosco come guida. Provincia di Bergamo - Servizio Gestione Vincoli - Parchi. Ferrari Grafiche, Clusone (BG), pp. 95
2.	BOSELLI, S. SACCHI, L. MOTTERAN, G. MOLLA, L. PIUBELLI, L. POLLEGIONI and M.S. PILONE Active site of yeast D-amino acid oxidase: mutations and inferences (2002) in <i>Flavins and Flavoproteins 2002</i> (Chapman, S., Perham, R. and Scrutton, N., eds.) pp. 137-142, R. Weber Publ., Berlin
3.	CALAMARI D.(2002) The fate of PCBs and dioxins in the environment and foodstuff. Basurco B and Saroglia M (Eds) <i>Seafarming today and tomorrow</i> . European Aquaculture Society. Special Publication N 32. 15-21.
4.	CASTIGLIONI R., ORIANI A., MARTINOLI A. Analisi dei dati delle microstorie (Il rapporto uomo - lupo nella storia dell'Italia settentrionale: note biologiche): 123-142. In Comincini M.(a cura di) -L'uomo e la "bestia antropofaga"-. Storia del lupo nell'Italia settentrionale dal XV al XIX secolo. Ed. UNICOPLI, pp. 337.
5.	DE EGUILEOR M., TETTAMANTI G., GRIMALDI A., FERRARESE R., PERLETTI G., VALVASSORI R., COOPER E.L. AND LANZAVECCHIA G. Leech immune responses: contributions and biomedical applications. In: Cooper E.L., Beschin A. & Biley M. (eds) 2002. A new model for analyzing antimicrobial peptides with biomedical applications. <i>Nato Science Series: Life and behavioural Sciences</i> 343: 93-102.
6.	MOLLA, S. GHISLA, , M.S. PILONE and L. POLLEGIONI Studies on the elimination reaction of <i>Rhodotorula gracilis</i> D-amino acid oxidase with $\alpha$ -chloro-D-alanine (2002) in <i>Flavins and Flavoproteins 2002</i> (Chapman, S., Perham, R. and Scrutton, N., eds.) pp. 299-304, R. Weber Publ., Berlin
7.	Monetti C., Vigetti D., Prati M, Bernardini G., Terova G., Saroglia M, Gornati R. (2002) Fish welfare and molecular markers. In: B. Basurco and M. Saroglia (Eds.) <i>Seafarming Today and Tomorrow</i> , EAS Spec. Publ. N°32, EAS, Oostende. Pp. 357-358.
8.	MOTTERAN, L, G.L. MARCONE, G. MOLLA, V. JOB, M.S. PILONE and L. POLLEGIONI Characterization of the new flavoprotein glycine oxidase from <i>Bacillus subtilis</i> (2002) in <i>Flavins and Flavoproteins 2002</i> (Chapman, S., Perham, R. and Scrutton, N., eds.) pp. 1015-1020, R. Weber Publ., Berlin
9.	PILONE,MS, K. DIEDERICHS, G. MOLLA, W. WELTE, S. GHISLA and L. POLLEGIONI Yeast D-amino acid oxidase: structural basis of its catalytic properties (2002) in <i>Flavins and Flavoproteins 2002</i> (Chapman, S., Perham, R. and Scrutton, N., eds.) pp. 335-340, R. Weber Publ., Berlin
10.	PIUBELLI,L, L. POLLEGIONI, L. CALDINELLI, M.S. PILONE, S. IAMETTI, D. FESSAS, A. BARBIROLI and F. BONOMI Thermal stability of yeast D-amino acid oxidase: Deconvoluting the contributions of the dimeric aggregation state (2002) in <i>Flavins and Flavoproteins 2002</i> (Chapman, S., Perham, R. and Scrutton, N., eds.) pp. 341-346, R. Weber Publ., Berlin
11.	POLLEGIONI, L,G. MOLLA, L. MOTTERAN, V. JOB and M.S. PILONE Kinetic mechanism of glycine oxidase (2002) in <i>Flavins and Flavoproteins 2002</i> (Chapman, S., Perham, R. and Scrutton, N., eds.) pp. 347-352, R. Weber Publ., Berlin
12.	Rinaldi L., Grimaldi A., Tettamanti G., Terova G., Saroglia M., Valvassori R., de Eguileor M. (2002) Oxygen partial pressure in water affects gill structural organization in sea bass <i>Dicentrarchus labrax</i> , L.: A preliminary study. In: B. Basurco and M. Saroglia (Eds.) <i>Seafarming Today and Tomorrow</i> , EAS Spec. Publ. N°32, EAS, Oostende. Pp. 441-442.
13.	SACCHI, S, S. LORENZI, E. ROSINI, G. MOLLA, M.S. PILONE and L. POLLEGIONI Engineering the substrate specificity of D-amino acid oxidase by rational and irrational design (2002) in <i>Flavins and Flavoproteins 2002</i> (Chapman, S., Perham, R. and

	Scrutton, N., eds.) pp. 353-358, R. Weber Publ., Berlin
14.	Saroglia M., Terova G., Caricato G., Caputo A., de Eguileor M. (2002) Oxygen availability and gill morphology: is hyperoxygenation an advantage in the osmo-respiratory compromise? In: B. Basurco and M. Saroglia (Eds.) Seafarming Today and Tomorrow, EAS Spec. Publ. N°32, EAS, Oostende. Pp. 462-463.
15.	TOSI G., MARTINOLI A. La fauna tra spopolamento e reintroduzione. Capitolo del libro "Montagne d'Italia" edito dall'Istituto Geografico De Agostini di Novara, in collaborazione con la Società Geografica Italiana e il Club Alpino Italiano.
16.	TOSI G., ZILIO A., CERABOLINI B., RAIMONDI B., BARATELLI D., CHIARENZI B., PICCININI S., SCHERINI G., VIGANÒ A., PREATONI D. Conoscenza delle risorse ambientali della Provincia di Varese. - Amm. Prov. Varese. Univ. degli Studi dell'Insubria. Tip. De Rosa (CS) 297 pp.

## Comunicazioni a Congressi

1.	Acquati F, Bianchi MG, Cinquetti R, Campomenosi P, Russo A, Varesco L, Possati L, Tibiletti MG, Daidone MG, Barbanti-Brodano G, Taramelli R. "Molecular characterization of RNASE6PL, a putative human tumour suppressor gene on chromosome 6q27". USGEB, 7-8 marzo 2002 Lugano.
2.	Acquati F, Cinquetti R, Bardelli S, Camesasca C, Bianchi MG, Tibiletti MG, Russo A, Taramelli R. "Molecular characterization of the (10;21) translocation breakpoint in a total anomalous pulmonary venous return patient". USGEB, 7-8 marzo 2002 Lugano.
3.	Arciello S., Fiandra L., Giordana B., de Eguileor M. and Rao R., 2002, AcMNPVCHI a protein produced in E. coli is potentially useful for plant defence. XLVI Annual Congress. Società Italiana di Genetica Agraria. (Giardini Naxos, ME).
4.	Banfi Stefano, Enrico Caruso, Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza, Elena Monti. Photodynamic effects of three novel photosensitizers in human adenocarcinoma cells: role of p53 in tumor cell response. 2002.
5.	Banfi, S., E. Caruso, M. B. Gariboldi, R. Ravizza, E. Monti - Photodynamic effects of novel photosensitizers in human adenocarcinoma cells: role of p53 in tumor cell response. USGEB, Lugano, 7,8 Marzo 2002.
6.	Baroni S., Mattu M., Fanali G., Aime S., Ascenzi P., Fasano M. (2002). Allosteric and ligand binding properties of human serum albumin: a <sup>1</sup> H-NMR relaxometric study. XXII Congresso Nazionale di Risonanze Magnetiche. 18-21 settembre 2002, Pavia. p.38.
7.	Baroni S., Mattu M., Vannini A., Cipollone R., Aime S., Ascenzi P., Fasano M. (2002). Spectroscopic characterization and drug binding properties of human hemalbumin. USGEB 2002, 7-8 marzo 2002, Lugano. p.152.
8.	Basso M., Giraudo S., Lopiano L., Bergamasco B., Fasano M. (2002). Studio proteomico di tessuti mesencefalici: evidenze per la malattia di Parkinson. XXIX Congresso Nazionale LIMPE. 23-25 ottobre 2002, Lecce. p.128.
9.	Battaini, F., E. Papa e P. Gramatica. Modellamento QSAR e Predizione della Tossicità di Fenoli. VII Congresso Nazionale di Chimica Ambientale "Dal locale al globale: percorsi di sostenibilità", Venezia 11-14 giugno 2002.
10.	Binda F., Bossi E., Giovannardi S., Forlani G. and Peres A. (USGEB)Na <sup>+</sup> and Cl <sup>-</sup> interactions at the neuronal GABA cotransporter rGAT1
11.	Bolzacchini, E., V.Gianelle, P.Gramatica, V.Librando, M.G.Perrone, L.Pozzoli, B.Rindone PM10 and PM2.5 in the Milan Urban Area Symp 2002, 13-15 feb. 2002, EUROTRAC-2, Garmisch (AUS)
12.	Bolzacchini, E., V.Gianelle, L. Pozzoli, V. Librando, P.Gramatica, S. Citterio, G. Perrone e B. Rindone. Correlazioni lineari tra il Particolato Atmosferico, Concentrazione di Ozono e altre variabili ambientali. VII Congresso Nazionale di Chimica Ambientale, Venezia, 11-14 giugno 2002
13.	Bolzacchini, E., V.Gianelle, P.Gramatica V. Librando, G. Perrone, S. Citterio, L. Pozzoli, e B. Rindone. Valutazione del contributo del traffico al articolato mediante fattori di diluizione da tunnel. VII Congresso Nazionale di Chimica Ambientale, Venezia, 11-14 giugno 2002Orale
14.	Bordignon E, Scarzello M, Agostini G, Giacometti G, Vianelli A, Vannini C, Carbonera D. "Exciton interaction between the RC and the B800-866 complex in intact membranes from <i>Chloroflexus aurantiacus</i> probed by ODMR spectroscopy". EMBO Workshop on Green and Heliobacteria, Molecular Biology, Structure and Function. Passau, Germany, 19-24/4/2002.
15.	BOSELLI, A., S. SACCHI, L. MOTTERAN, G. MOLLA, L. PIUBELLI, L. POLLEGIONI and M.S. PILONE (2002) Active site of yeast D-amino acid oxidase: mutations and inferences (2002) 14 <sup>th</sup> International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Cambridge, England, P21
16.	Bossi, E., F. Binda, S.Giovannardi and A. Peres Temperature effects on the presteady-state and transport associated currents of the GABA cotransporter rGAT1
17.	Brivio M. F.. "Relationship between EPNs and their insects host: immunity defence and

	immuno-suppression” Symposium on Entomopathogenic Nematodes and their Symbionts, Univ. Milano Bicocca, Milan, 2002.
18.	Brivio M. F.. “Suppression of <i>Galleria mellonella</i> (Insecta, Lepidoptera) immune defences induced by entomopathogenic nematods: involvement of parasite body surface”. 5° Meeting SIICS, Viterbo, 2002
19.	Calamari D., Crosa G., Frobrich J., Kayumov O. Pollution management and water quality in the Amu Darya river and Karapas reservoir. Conference on Sustainability of Aquatic Ecosystems. Stresa 26-28 Novembre 2002.
20.	CASTIGLIONI A., CERIANI R.M., DE ANDREIS R., CERABOLINI B., RAIMONDI B., VILLA M. Il sentiero botanico “G. Fornaciari”: un esempio di conservazione in situ della biodiversità. Incontro Scientifico SBI: “Il ruolo degli Orti Botanici e le relative problematiche gestionali nell’ambito della Convenzione generale sulla Biodiversità”, Cogoletto (GE), 21-22 giugno 2002.
21.	Casu M, Maltagliati M, Iacolina L, Cossu P, Meloni M, Binelli G, Castelli A, Curini Galletti M (2002). Analisi della variabilità genetica del complesso di specie riferito a <i>Pseudomonocelis ophiocephala</i> (Platyhelminthes: Proseriata) tramite marcatori molecolari RAPD. XII Congresso Nazionale S.It.E. (Società Italiana di Ecologia), Urbino.
22.	CHIRICHELLA R., MATTIROLI S., PREATONI D., MARTINOLI A. Uso dell'habitat del Rinolofo maggiore ( <i>Rhinolophus ferrumequinum</i> ) e del Rinolofo minore ( <i>Rhinolophus hipposideros</i> ) nel Parco Naturale Adamello Brenta. Workshop GIRC 2002, Riserva Naturale Orientata di Onferno (RN), 26-27 gennaio 2002.
23.	N.Chirico, M.I.Granero e A.Porati. Influence of parameters distribution on the onset of a threshold effect into model food webs stability. Atti XII Congresso Nazionale S.It.E. Urbino 16-18 Settembre 2002
24.	Coha S., Giraud S., Lopiano L., Bergamasco B., Fasano M. (2002). Pattern proteico in pigmenti neuromelaninici: confronto tra casi di neurodegenerazione e controlli. XXIX Congresso Nazionale LIMPE. 23-25 ottobre 2002, Lecce. p.175.
25.	Crosa G. e Calamari D. Pollution management and water quality in the Amu Darya river and Kaparas reservoir (Uzbekistan). XII Congresso Nazionale SitE 16-18 settembre Urbino
26.	Crosa G., Frobrich J., Kayumov O. Development of integrated water management tools for the Tuyamun reservoir complex (IMWT). Conference on Sustainability of Aquatic Ecosystems. Stresa 26-28 Novembre 2002.
27.	CUCINOTTA S., MASSA V., SUARDI S., BERTONI G., BARBIERI P. 2002. Analysis of chimerical toluene monooxygenases suggests an independent evolution of the encoding operons. 7 <sup>th</sup> Symp. on Bacterial Genetics and Ecology, Bergen (Norway). p. 68.
28.	de Eguileor M., Congiu T., Grimaldi A., Perletti G., Raspanti M., Tettamanti G., Valvassori R., de Eguileor M., 2002, Tumor angiogenesis activators and inhibitors studied in leeches as a new animal model. 5 <sup>th</sup> International Symposium on Molecular Medicine. (Creta)
29.	de Eguileor M., Grimaldi A., Tettamanti G., Congiu T., Perletti G. and Valvassori R., 2002, The leech <i>Hirudo medicinalis</i> as a new in vivo model of angiogenesis. USGEB (Lugano, CH)
30.	Di Guardo A., Calamari D. (2002) Modelling DDT release from contaminated soils in Italy, poster presentato all 12th Annual meeting of SETAC-Europe, Vienna, 12-16 May 2002.
31.	Fasano M., Delli Castelli D., Ascenzi P. (2002) Unfolding of the loggerhead sea turtle ( <i>Caretta caretta</i> ) myoglobin: A <sup>1</sup> H-NMR and electronic absorbance study. Proteine 2002. 6-8 giugno 2002, L'Aquila. It. J. Biochem. 51, 63.
32.	Ferrarese, R., M. Mastore, A. Grimaldi, G. Tettamanti, F. Pennacchio, M. F. Brivio, M. de Eguileor. Influenza della parassitizzazione di <i>Toxoneuron nigriceps</i> (Hymenoptera, Braconidae) sulla risposta immunitaria di <i>Heliothis virescens</i> (Lepidoptera, Noctuidae). 63° UZI, Catania, 2002.
33.	Galli P., De Eguileor M., Zaccara S., Stefani F., Crosa G. Parassiti monogeni della fauna ittica italiana 63° Congresso Nazionale UZI 22-26 settembre Arcavata di Rende (CS).
34.	GORRETA F., RADICE F., BERTONI G., BARBIERI P. 2002. Degradation of 4-chlorotoluene by <i>Pseudomonas-Arthrobacter</i> co-cultures. Abs. 12 <sup>th</sup> Int. Biodeterioration and Biodegradation

	Symposium. Prague (Czech Republic). p. 36.
35.	Gramatica, P., E.Papa and A. Di Guardo. Ranking of Pesticides for environmental Distribution : a QSAR approach. 2nd European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment, Corfu (Grecia), 26-29 September 2002.Orale.
36.	Gramatica, P. and E. Papa. Linear modelling and prediction of BioConcentration Factor (BCF) by theoretical molecular descriptors. 10th International Workshop on Quantitative Structure Activity Relationships in Environmental Sciences (QSAR 2002), Ottawa (Canada), 25-29May 2002P.
37.	Gramatica, P., A. Di Guardo ed E. Papa. Distribuzione Ambientale di Pesticidi Organici non-ionici: Valutazione mediante Descrittori Strutturali Teorici. VII Congresso Nazionale di Chimica Ambientale "Dal locale al globale: percorsi di sostenibilità", Venezia 11-14 giugno 2002.
38.	Gramatica, P., E. Bolzacchini, L. Pozzoli, A. Santagostino, B. Rindone. Nitrophenols in Milan area, Toxicology & QSAR Modelling. 12th Annual Meeting of SETAC Europe, Vienna (Austria), 12-16 May 2002.
39.	Gramatica, P., E. Papa and S. Pozzi. Modelling of Environmental persistence and Long Range Transport of POPs by QSAR and chemometric approaches. IEMSS2002 (Int. Environ. Modeling Soc) Lugano (Switzerland), 24-27 june 2002.
40.	Gramatica, P., E. Papa, F. Battaini, P.Pilutti and L. Bozzoli. QSAR Predictions of Organic Compound Tropospheric Degradations. 10th International Workshop on Quantitative Structure Activity Relationships in Environmental Sciences (QSAR 2002), Ottawa (Canada), 25-29May 2002 oralP.
41.	Gramatica, P., E.Papa and S.Pozzi. Modelling of Long Range Transport of POPs. 10th International Workshop on Quantitative Structure Activity Relationships in Environmental Sciences (QSAR 2002), Ottawa (Canada), 25-29May 2002
42.	Gramatica, P., E.Papa, F.Battaini, P.Pilutti, L.Pozzoli. QSAR Studies on the Tropospheric degradation of Organic Compounds( -logkOH data, -logkO3 data, -logkNO3 data ). 12th Annual Meeting of SETAC Europe, Vienna (Austria), 12-16 May 2002
43.	Gramatica, P., E.Papa, P. Pilutti, F. Battaini e L. Bozzoli. Studi sulla persistenza atmosferica di inquinanti organici: modellamento QSAR e predizione di velocità di reazione con ossidanti troposferici. VII Congresso Nazionale di Chimica Ambientale, Venezia, 11-14 giugno 2002. Orale
44.	Gramatica, P., E.Papa. Linear Modelling and Prediction of BioConcentration Factor (BCF) by Theoretical Molecular Descriptors ( logBCF data ). 12th Annual Meeting of SETAC Europe, Vienna (Austria), 12-16 May 2002.
45.	Itoh S, Cattaneo A G, Gerola P D, Vianelli A. "Two types of fluorescence quenching in chlorosomes of <i>Chloroflexus aurantiacus</i> ". EMBO Workshop on Green and Heliobacteria, Molecular Biology, Structure and Function. Passau, Germany, 19-24/4/2002.
46.	Landsberger,N., Anna Bergo, Stella Carro, Charlotte Kilstrup-Nielsen, Mauro Mengoni, Gianfranco Badaracco Identification and characterization of proteins that, interacting with MeCP2, could be involved in Rett syndrome. . Telethon 2002
47.	Meloni M, Cossu P, Binelli G (2002). Genetic variability in 6 Mediterranean populations of Aleppo pine ( <i>Pinus halepensis</i> Mill.). DYGEN Conference, 1-5 Dicembre 2002, Strasburgo.
48.	Milani A., Farneti R., Ambrosecchio M.R., Grimaldi A., Digilio M.C., Leonardi M.G., Tettamanti G., de Eguileor M., Pennacchio F. and Giordana B., 2002, Assunzione di nutrienti attraverso l'epidermide durante lo sviluppo larvale di <i>Aphidius ervi</i> . XIX Congresso Nazionale di Entomologia (Catania).
49.	Mizzi L., Bracale M., Vannini C., Locatelli F., Magnani E., Coraggio I. (2002) Monitoring the expression pattern induced by <i>Osmyb4</i> overexpressing by using <i>Arabidopsis thaliana</i> microarray analysis. XLVI Convegno SIGA, Giardini di Naxos, Messina.
50.	MOLLA, G., S. GHISLA, , M.S. PILONE and L. POLLEGIONI (2002) Studies on the elimination reaction of <i>Rhodotorula gracilis</i> D-amino acid oxidase with $\alpha$ -chloro-D-alanine. 14 <sup>th</sup> International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Cambridge, England, P50
51.	Monetti, C., Davide Vigetti, Mariangela Prati, Giovanni Bernardini, Genciana Terova, Marco Saroglia and Rosalba Gornati I livelli di ossigeno influenzano l'espressione genica nelle

	branchie di <i>Dicentrarchus labrax</i> 33° Congresso della Società Italiana di Biologia Marina, Castelsardo (SS), 3 - 8 Giugno 2002
52.	Monti Elena, Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza, Stefano Banfi, Enrico Caruso, Alessandra De Simone and Gianfranco Canti. Photodynamic effects of two photosensitizers in human adonocarcinoma cells: role of p53 in tumor cell response. Proceedings of the American Association for Cancer Research, 43: (5410), 2002.
53.	Monti, E., M. B. Gariboldi, R. Ravizza, S. Banfi, E. Caruso, A. De Simone, G. Canti - Photodynamic effects of two novel photosensitizers in human adenocarcinoma cells: role of p53 in tumor cell response. AACR 93 <sup>rd</sup> Annual Meeting. San Francisco, 6 – 10 April 2002.
54.	Monti P., Campomenosi P., Ciribilli Y., Iannone R., Inga A., Aprile A., Menichini P., Abbondandolo A., Fronza G. Functional characterization of p53 mutant proteins: a way for understanding their role in carcinogenesis. XXIX Symposium of the Italian cancer Society. "From molecular oncology to molecular therapeutics" Genova, October 27 <sup>th</sup> -30 <sup>th</sup> , 2002.
55.	Monti P., Campomenosi P., Ciribilli Y., Iannone R., Inga A., Shah D., Scott G., Burns P.A., Menichini A., Abbondandolo A., Gold B., Fronza G. Influences of base excision repair defects on the lethality and mutagenicity induced by ME-LEX, a sequence selective N3-Adenine methylating agent. 4° FISV, Riva del Garda, 21-25/9/2002.
56.	MOTTERAN L., G.L. MARCONE, G. MOLLA, V. JOB, M.S. PILONE and L. POLLEGIONI (2002) Characterization of the new flavoprotein glycine oxidase from <i>Bacillus subtilis</i> . 14 <sup>th</sup> International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Cambridge, England, P150
57.	Murgia I., Tarantino D., Vannini C., Bracale M., Carravieri S. and Soave C. (2002) Production and characterisation of <i>Arabidopsis thaliana</i> lines overexpressing thylakoidal APX. XLVI Congresso SIFV, Riva del Garda.
58.	MUSTONI A., CARLINI E., CHIARENZI B., CHIOZZINI S., DAVINI S., LATTUADA E., NAVE L., ZIBORDI F., MARTINOLI A., PREATONI D., WAUTERS L., TOSI G., 2002. Home range and movements of reintroduced brown bears in the Italian Alps: first results the high variability. Proceedings of Fourteenth International Conference on Bear Research and Management, Steinkjer (Norway), July 28-August 3.
59.	MUSTONI A., CARLINI E., CHIARENZI B., CHIOZZINI S., DAVINI S., LATTUADA E., NAVE L., ZIBORDI F., MARTINOLI A., PREATONI D., WAUTERS L., TOSI G., 2002. Reintroduction of brown bear in the Italian Alps: three years of a success story preparing local people as well as bears. Proceedings of Fourteenth International Conference on Bear Research and Management, Steinkjer (Norway), July 28-August 3.
60.	NODARI M., PREATONI D., MARTINOLI A. Uso di classificatori convenzionali e non convenzionali per l'identificazione bioacustica di alcune specie di Chiroterri: il caso dei Rinolofidi. Workshop GIRC 2002, Riserva Naturale Orientata di Onferno (RN), 26-27 gennaio 2002.
61.	Oddone A., Baroni S., Aime S., Fasano M. (2002). Expression and characterization of heme and drug binding properties of a truncated human serum albumin. Proteine 2002. 6-8 giugno 2002, L'Aquila. It. J. Biochem. 51, 62.
62.	Papa, E., P.Gramatica. Modellamento QSAR e predizione del Fattore di Bioconcentrazione (BCF) di composti organici nei Pesci. VII Congresso Nazionale di Chimica Ambientale, Venezia, 11-14 giugno 2002. Orale.
63.	Peres, A., Giovannardi, S., Binda, F., Bossi, E., & Fesce, R. (2002). Pre-steady-state and transport-associated currents in the GABA cotransporter rGAT1 are simply related. Journal of Physiology 543P, 27P-28P. Liverpool Meeting of the Physiological Society
64.	Perletti G., Dondi D., de Eguileor M., Osti D and Marras E. (2002) Tumor suppressor activity of the delta isoform of protein kinase C. 7th World Congress on Advances in Oncology and 5th International Symposium on Molecular Medicine October 10-12, 2003 Hersonissos, Crete, Greece. Published in: International Journal of Molecular Medicine, 10, S76.
65.	PILONE M.S., K. DIEDERICHS, G. MOLLA, W. WELTE, S. GHISLA and L. POLLEGIONI (2002) Yeast D-amino acid oxidase: structural basis of its catalytic properties. 14 <sup>th</sup> International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Cambridge, England, P58

66.	Pilone, M. S., L. Motteran, G.L. Marcone, G. Molla, V. Job, AND L. Pollegioni (2002) REACTION MECHANISM OF GLYCINE OXIDASE, A NEW FLAVOENZYME ACTIVE ON GLYCINE, PROTEINE 2002, L'AQUILA, 4.32
67.	PILONE, M.S., L. POLLEGIONI, G. MOLLA, C. CAPPELLETTI, S. LORENZI, L. MOTTERAN, and SACCHI S. (2002) Biocatalysis and biocatalyst production. USGEB 2002, Lugano, Switzerland, MT-9
68.	PILOTTO E., MASTORE M, ONELLI E, NEWBIGIN E, LUSH L, BRIVIO M, GEROLA P (2002) Limits in the use of GUS as gene reporter in plants: LAT52 promoter activity is not differentially regulated during pollen tube growth through the style. XVII Int. Congr. Sexual Plant Reprod., Lublin, Poland
69.	PIUBELLI L, L. POLLEGIONI, L. CALDINELLI, M. S. PILONE, S. IAMETTI, D. FESSAS, A. BARBIROLI and F. BONOMI (2002) Effect of the dimeric aggregation state on the unfolding process of yeast D-amino acid oxidase, Proteine 2002, L'Aquila, R6
70.	PIUBELLI, L. L. POLLEGIONI, L. CALDINELLI, M.S. PILONE, S. IAMETTI, D. FESSAS, A. BARBIROLI and F. BONOMI (2002) Thermal stability of yeast D-amino acid oxidase: Deconvoluting the contributions of the dimeric aggregation state. 14 <sup>th</sup> International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Cambridge, England, P59
71.	POLLEGIONI, L. G. MOLLA, L. MOTTERAN, V. JOB and M.S. PILONE (2002) Kinetic mechanism of glycine oxidase. 14 <sup>th</sup> International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Cambridge, England, P60
72.	POLLEGIONI, L. M.S. PILONE, L. PIUBELLI, G. MOLLA, A. BOSELLI, V. JOB, L. MOTTERAN, S. SACCHI, L. CALDINELLI, S. LORENZI, L. MARCONE and E. ROSINI (2002) Protein engineering of flavoprotein oxidases. USGEB 2002, Lugano, Switzerland, SB-15
73.	Pollegioni, L., S. Sacchi, S. Lorenzi, G. Molla and M. S. Pilone (2002) ENGINEERING THE SUBSTRATE SPECIFICITY OF D-AMINO ACID OXIDASE: AN EVOLUTED ENZYME AND ITS APPLICATIONS, APPLIED BIOCATALYSIS 2002, COMO, ITALY, L20
74.	Rinaldi L., Grimaldi A., Tettamanti G., Terova G., Saroglia M., Valvassori R. and de Eguileor M., 2002, I livelli di ossigeno influenzano l'organizzazione strutturale delle branchie in <i>Dicentrarchus labrax</i> . 33° Congresso della Società Italiana di Biologia Marina (Castelsardo, SS).
75.	Rinaldi Liliana, Annalisa Grimaldi, Gianluca Tettamanti, Genciana Terova, Marco Saroglia, Valvassori Roberto and Magda de Eguileor I livelli di ossigeno influenzano l'organizzazione strutturale delle branchie in <i>Dicentrarchus labrax</i> 33° Congresso della Società Italiana di Biologia Marina, Castelsardo (SS), 3 - 8 Giugno 2002
76.	SACCHI, S. S. LORENZI, E. ROSINI, G. MOLLA, M.S. PILONE and L. POLLEGIONI (2002) Engineering the substrate specificity of D-amino acid oxidase by rational and irrational design. 14 <sup>th</sup> International Symposium on Flavins and Flavoproteins, Cambridge, England, P61
77.	SCARAVELLI D., MARTINOLI A., 2002. I Rinolofidi italiani: ecologia, status e prospettive di conservazione. Workshop GIRC 2002, Riserva Naturale Orientata di Onferno (RN), 26-27 gennaio 2002.
78.	Stefani F., Galli P., Crosa G., Zaccara S., Calamari D. Dispersione pleistocenica e differenziazione delle popolazioni di scardola ( <i>Scardinius erythrophthalmus</i> L.) nella penisola italiana. XII Congresso Nazionale SItE 16-18 settembre Urbino.
79.	SUARDI S., CUCINOTTA S., MASSA V., BERTONI G., BARBIERI P. 2002. Costruzione e analisi di toluene monoossigenasi chimeriche. Atti 4° Conv. FISV, Riva del Garda. p. 82.
80.	Tettamanti G., Grimaldi A., Congiu T., Ferrarese R., Perletti G., Raspanti M., Valvassori R., de Eguileor M., 2002, Collagen and extracellular matrix accumulation involved in leech wound healing. The 7 <sup>th</sup> International Symposium on Earthworm Ecology (Cardiff-Wales)
81.	Tettamanti G., Grimaldi A., Congiu T., Raspanti M., Perletti G., Valvassori R., Lanzavecchia G., de Eguileor M., 2002, I componenti della matrice extracellulare di <i>Hirudo medicinalis</i> sono coinvolti nella riparazione della ferita. 62° Congresso Nazionale Unione Zoologica Italiana (Rende, CS).
82.	Toninato L., Brancadoro L., Bracale M., Vannini C., Tenti M., Galimberti M., Scienza A.

	(2002) Grape rootstocks. VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding , Kecskemét, Hungary.
83.	TOSI G., MARTINOLI A., PREATONI D. La conservazione delle zoocenosi alpine: stato delle conoscenze e prospettive per il futuro. Atti del Convegno Internazionale "Aree Protette e Comunità locali per uno sviluppo sostenibile della montagna", 14-15 ottobre 2002 Gargnano (BS).
84.	Vannini C., Bracale M., Locatelli F., Coraggio I. (2002) OsMyb4: a Myb factor of rice involved in cold acclimation. EU Rice Conf., Torino.
85.	Vianelli A. "Light intensity acclimation in green bacteria: searching for rationales by means of a comparative analysis". EMBO Workshop on Green and Heliobacteria, Molecular Biology, Structure and Function. Passau, Germany, 19-24/4/2002.
86.	Zaccara S., Galli P., Stefani F., Fratini S., Barbaresi S., Gherardi F., Crosa G. Strategie di conservazione del gambero di fiume indigeno Austropotamobius pallipes: distribuzione delle due sottospecie in Italia settentrionale. XII Congresso Nazionale SitE 16-18 settembre Urbino



## Reports

1.	BADARACCO G., CALAMARI D., TOSI G., TRIZIO I., MARTINOLI A., PUZZI C., TRASFORINI S., LANDSBERGER N., 2002. Caratterizzazione ecologica, morfologica e comportamentale delle popolazioni di trota presenti in provincia di Varese. Provincia di Varese, Settore Politiche per l'Agricoltura e Gestione Faunistica, Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale - Varese.
2.	Calamari D., Crosa G., Lalumera G., Galli P. Presenza ed effetti sull'ecosistema dei farmaci usati in acquicoltura, rapporto finale. Progetto 5-C-24 V Piano triennale della pesca e dell'acquicoltura. Ministero delle Politiche Agricole.
3.	Finizio A., Di Guardo A. (2002) Modelli previsionali delle proprietà chimico fisiche ed ecotossicologiche per l'applicazione di indici di rischio relative ai prodotti fitosanitari, ANPA, Dipartimento Rischio Tecnologico e Naturale, Roma, RTI/TEC/1-02.
4.	Galassi S. , Di Guardo A. Studio sulla contaminazione, distribuzione ed effetti del DDT nell'area del Lago Maggiore, Relazione tecnica per l'Agenzia Nazionale per l'Ambiente, Dicembre 2002.
5.	TOSI G., MARTINOLI A., CARLINI E., CERABOLINI B., CHIARENZI B., GALLINARO N., PREATONI D.G., SCHERINI G., WAUTERS L., ADORNATO L., BADIELLO B., SUTTI F., TOSI W., 2002. Conservazione ed incremento della biodiversità delle foreste mediante interventi di gestione integrata della componente faunistica. Regione Lombardia Servizio Ambiente Rurale e Politiche Forestali, Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale - Varese.

## Organizzazione di Congressi

*Seafarming Today and Tomorrow*, European Aquaculture Society, Trieste, Ottobre 2002

## Editing atti di Congressi

M. Saroglia, B. Basurco (eds.) *Seafarming Today and Tomorrow* EAS Spec. Publ. N°32, EAS, Oostende

## Brevetti

Bracale/Vannini

Deposito della domanda di brevetto in Italia (N° di registro MI2002A001624) relativo a "Uso di specifici geni myb per la produzione di piante transgeniche tolleranti gli stress biotici e abiotici.

Bracale/Vannini

Richiesta di deposito di un brevetto dal titolo "Utilizzo del fattore di trascrizione MybLeu per il miglioramento della tolleranza a stress anossico e ipossico".