

RELAZIONE ANNUALE 2004



Dipartimento
di Biologia
Strutturale
e Funzionale

Università
degli Studi
dell'Insubria



Wildflowers – Achille Ghidoni

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

INDICE

INTRODUZIONE	3
COMPOSIZIONE E STRUTTURA ORGANIZZATIVA	4
ORGANI DIPARTIMENTALI	4
PERSONALE DI RUOLO	4
Professori di I fascia.....	4
Professori di II fascia.....	4
Ricercatori.....	4
Personale amministrativo	5
Personale tecnico.....	5
PERSONALE NON DI RUOLO	ERRORE. IL SEGNALIBRO NON È DEFINITO.
Collaboratori post-dottorato.....	5
Dottorandi	<i>Errore. Il segnalibro non è definito.</i>
Borsisti	6
INFRASTRUTTURE E SERVIZI.....	7
ATTIVITA' DI RICERCA.....	9
RIASSUNTI DELLE RICERCHE SVOLTE	11
PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI	ERRORE. IL SEGNALIBRO NON È DEFINITO.
Fondo di Ateneo per la Ricerca.....	<i>Errore. Il segnalibro non è definito.</i>
Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (PRIN)..	<i>Errore. Il segnalibro non è definito.</i>
Unione Europea	<i>Errore. Il segnalibro non è definito.</i>
CNR.....	<i>Errore. Il segnalibro non è definito.</i>
Altri Enti.....	<i>Errore. Il segnalibro non è definito.</i>
SEMINARI	47
EVENTI.....	47
ATTIVITA' DIDATTICA	47
LAUREATI.....	51
DOTTORATI DI RICERCA	55
DOTTORATO DI RICERCA IN "BIOLOGIA EVOLUZIONISTICA E DELLO SVILUPPO"	55
DOTTORATO DI RICERCA IN "ANALISI, PROTEZIONE E GESTIONE DELLA BIODIVERSITÀ"	56
ELENCO DELLE PUBBLICAZIONI 2003	58
ARTICOLI SU RIVISTE CENSITE DALL'INSTITUTE FOR SCIENTIFIC INFORMATION	58
ARTICOLI SU ALTRE RIVISTE	ERRORE. IL SEGNALIBRO NON È DEFINITO.
LIBRI E CAPITOLI DI LIBRI.....	ERRORE. IL SEGNALIBRO NON È DEFINITO.
REPORTS	ERRORE. IL SEGNALIBRO NON È DEFINITO.

INTRODUZIONE

La presente quarta edizione della relazione annuale del DBSF riassume le attività di ricerca e di didattica svolte dal Dipartimento nell'anno 2004, ottavo dalla fondazione. Nel 2004 sono stati istituiti due nuovi Dipartimenti, gemmati dal DBSF: il Dipartimento Ambiente-Sicurezza-Sanità, DASS, ed il Dipartimento di Biotecnologie e Scienze Molecolari, DBSM. Ad essi sono afferiti gruppi di ricerca già del DBSF: le sette Sezioni istituite nel 2003, si sono quindi ridotte a cinque, con conseguente diminuzione del numero dei docenti afferenti al DBSF al 31 dicembre 2004 a 31. Le unità di personale tecnico-amministrativo, per le quali a tutto il 2004 non sono state definite le afferenti ai nuovi Dipartimenti, si sono accresciute di una unità (17), mentre 47 ricercatori non strutturati (borsisti, studenti di dottorato e post-doctoral fellows) si sono succeduti nel corso del 2004 nei laboratori del Dipartimento.

I membri del DBSF hanno svolto attività didattica in oltre cento insegnamenti per i Corsi di laurea triennale in Scienze biologiche, Biologia sanitaria, Analisi e Gestione delle Risorse naturali, Biotecnologie, e per le lauree specialistiche in Scienze Biologiche, Biologia applicata alla Ricerca Biomedica ed Analisi e Gestione delle Risorse naturali. 63 studenti hanno discusso la tesi di laurea e il lavoro di stage condotti presso i laboratori del DBSF.

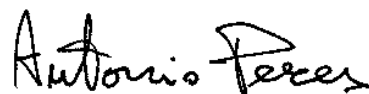
La produzione scientifica del Dipartimento durante il 2004 si è concretizzata nella pubblicazione di 41 lavori *in extenso* su riviste censite presso l'Institute for Scientific Information (ISI), un numero simile a quello del 2003, se si tiene conto della riduzione numerica degli afferenti al DBSF, dopo la gemmazione dei nuovi Dipartimenti. Ad esse vanno aggiunte numerose comunicazioni a Congressi, oltre a lavori su altre riviste, capitoli di libri, reports, ed altri tipi di pubblicazione.

I membri del DBSF hanno ottenuto importanti finanziamenti per condurre le loro ricerche da Enti pubblici e privati, nazionali ed internazionali, Fondazioni, Aziende ed Associazioni. Tra questi, di particolare rilevanza per l'alta selettività dell'assegnazione, sono i finanziamenti ministeriali PRIN (Progetti di Rilevante Interesse Nazionale) e FIRB (Fondo per l'Incentivazione della Ricerca di Base), nonché quelli dell'Unione Europea.

Il 30 dicembre 2004 è mancato il prof. Davide Calamari, insigne studioso nel campo dell'ecotossicologia. Noto in campo internazionale, il prof. Calamari è stato fra i fondatori del DBSF, sebbene avesse poi optato per l'afferenza al nuovo Dipartimento di Biotecnologie e Scienze Molecolari. Con vivo rammarico la comunità scientifica del DBSF si è unita al lutto per la sua scomparsa.

Marzo 2005

Il Direttore
Antonio Peres



COMPOSIZIONE E STRUTTURA ORGANIZZATIVA

Organi dipartimentali

Direttore:

Prof. Antonio Peres

Vice Direttore:

Prof. Mauro Fasano

Giunta:

Prof. Gianfranco Badaracco

Prof. Paolo Gerola

Prof.ssa Daniela Parolaro

Prof. Roberto Valvassori

Prof. Paola Barbieri

Prof. Stefano Banfi

Prof.ssa Paola Gramatica

Dr. Marzia Gariboldi

Dr. Stefano Giovannardi

Dr.ssa Annalisa Grimaldi

Sig. Adriana Jacona

Sig. Giorgio Terzaghi

Al 31 dicembre 2004 afferiva al DBSF il seguente personale:

Personale di ruolo

Professori di I fascia

Gianfranco Badaracco

Paolo Gerola

Daniela Parolaro

Antonio Peres

Roberto Valvassori

Biologia molecolare

Botanica generale

Farmacologia

Fisiologia

Zoologia

Professori di II fascia

Stefano Banfi

Paola Barbieri

Magda de Eguileor

Mauro Fasano

Riccardo Fesce

Alessandro Fumagalli

Paola Gramatica

Chimica organica

Microbiologia generale

Zoologia

Biochimica

Fisiologia

Chimica generale ed inorganica

Chimica organica (dal 1/10/03: Chimica dell'Ambiente)

Farmacologia

Fisica matematica

Paleontologia

Elena Monti

Alfredo Porati

Silvio Renesto

Ricercatori

Marc Bonapace

Patologia generale

Elena Bossi	Fisiologia
Maurizio Brivio	Anatomia comparata e Citologia
Bruno Cerabolini	Ecologia vegetale
Antonio Di Guardo	Ecologia
Marzia Bruna Gariboldi	Farmacologia
Stefano Giovannardi	Fisiologia
Maria Ilde Granero	Fisica
Annalisa Grimaldi	Zoologia
Charlotte Kilstrup-Nielsen	Biologia molecolare
Nicoletta Landsberger	Biologia molecolare
Gianpaolo Perletti	Farmacologia
Tiziana Rubino	Farmacologia
Alberto Vianelli	Fisiologia vegetale

Ricercatori non confermati

Gianluca Tettamanti	Zoologia
Enrico Caruso	Chimica

Personale amministrativo

Dr. Stefano Motta	Segretario amministrativo
Adriana Jacona	
Dr. Fabio Messina	
Daniela Pozzi	

Personale tecnico

Dr. Angelo Boselli	Dr. Emanuela Pilotto*
Dr. Ferruccio Bolognese*	Cinzia Roganti
Dr. Anna Giulia Cattaneo	Rosa Rossi
Patrizia D'Angelo	Marco Sordelli*
Luisa Guidali	Giorgio Terzaghi
Dr. Emanuela Marras	Raffaele Terzaghi
Dr. Luisa Paracchini	
* a tempo determinato	

Collaboratori post-dottorato

Dr. Katrine Borgaa	Dr. Simon Pierce
Dr. Marco Bianchi	Dr. Raffaele Ravizza
Roberta M. Ceriani	Dr. Francesca Saracino
Dr. R. Papait	

Dottorandi

Dr. Silvana Bardelli
Dr. Anna Bergo
Dr. Barbara Bernasconi
Dr. Guido Brusa*
Dr. Barbara Conca
Dr. Roberto Ferrarese
Dr. Giorgia Lalumera
Dr. Alessandra Luzzaro
Dr. Mariastella Mastore
Dr. Laura Motteran
Dr. Davide Perini
Dr. Mauro Mengoni

Dr. Luca Nizzetto
Dr. Ester Papa
Dr. Roberto Papait
Dr. Rossana Pisani*
Dr. Cristina Pisoni
Dr. Francesca Radice
Dr. Liliana Rinaldi
Dr. Maria Luisa Rivas (dottorato internazionale)
Dr. Simona Segalla
Dr. Andrea Soragna*
Dr. Ilaria Trizio
Dr. Angelo Vaccani*

*) svolgono al DBSF un corso di dottorato consorziato presso strutture dell'Università dell'Insubria o di altre Università.

Borsisti

Dr. S. Azimonti
Dr. S. Bianchessi
Dr. Monica Colapinto
Dr. Arianna Colombo
Dr. Silvia Cucinotta
Dr. D. Pecoraro
Dr. R. De Andreis

Dr. F. Di Febo
Dr. Gabriella Fanali
Dr. Claudia Ferrari
Dr. Luigi Mazzagatti
Dr. Daniela Osti
Dr. Pamela Pilutti

Assegnisti

Dr. Viviana Orlandi

Dr. Daniela Viganò

Co. Co. Co.

Dr. Silvia Mila (Co. Co. Co.)

Hanno fatto parte del DBSF durante il 2004:

Davide Calamari

Deceduto

Francesco Acquati
Giovanni Bernardini
Paola Campomenosi
Giuseppe Crosa
Rosalba Gornati
Gianluca Molla
Mirella Pione
Luciano Piubelli
Loredano Pollegioni
Mariangela Prati
Carlo Rossetti
Marco Saroglia

Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM

Roberto Taramelli
Genciana Terova

Afferenza al DBSM
Afferenza al DBSM

Marcella Bracale
Fabio Conti
Adriano Martinoli
Guido Tosi
Giordano Urbini
Candida Vannini

Afferenza al DASS
Afferenza al DASS
Afferenza al DASS
Afferenza al DASS
Afferenza al DASS
Afferenza al DASS

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 (Busto Arsizio)
- 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. La strumentazione ed i servizi è stata ripartita fra i tre Dipartimenti solo alla fine del 2004.

Servizio – Responsabile

Acqua deionizzata	G. Terzaghi
Acqua MilliQ	A. Boselli
Assorbimento atomico	A. Fumagalli – G. Terzaghi
Audiovisivi	L. Guidali
Camera calda	G. Molla
Camera oscura	P. Campomenosi
Colture cellulari invertebrato	M. deEguileor
Colture cellulari mammifero	S. Giovannardi
Disposable / 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	M. DeEguileor
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.

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

L'asterisco identifica il coordinatore del gruppo.

Sezione	Gruppo	Componenti - (*) P.I.	Abstracts
AMBIENTE	EMG	Antonio Di Guardo* Claudia Ferrari, Luca Nizzetto Katrine Borgaa	1-3
AMBIENTE	Ecologia vegetale e fitogeografia	Bruno Cerabolini* S.Pierce G. Brusa R. M. Ceriani R. De Andreis D. Perini	4-9
AMBIENTE	Immunologia comparata e Parassitologia	Maurizio F. Brivio* Maristella Mastore	19
AMBIENTE	Unità di Ricerca QSAR e Chimica ambientale	Paola Gramatica* Ester Papa Pamela Pilutti	10-13
AMBIENTE	Microbiologia	Paola Barbieri* Silvia Cucinotta Viviana Orlandi Francesca Radice Valentina Massa	14-17
AMBIENTE	Laboratorio di Chimica	A. Fumagalli G. Terzaghi	18
FARMACOLOGIA	Chimica Organica	Stefano Banfi Enrico Caruso L. Buccafurni	20
FARMACOLOGIA	Farmacologia	Marzia Gariboldi Gianpaolo Perletti* Elena Monti Emanuela Marras Raffaella Ravizza Daniela Osti	21-23
FARMACOLOGIA	Neurobiologia	D. Parolaro T. Rubino D. Vigano A. Vaccani B. Colombo, S. Bianchessi	24
	Biochimica	M. Fasano M. Colapinto	25-29

FARMACOLOGIA		S. Mila G. Fanali	
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Neurofisiologia	R. Fesce F. Di Febo	30,31
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Fisiologia cellulare e molecolare	Antonio Peres* Riccardo Fesce Elena Bossi S. Giovannardi Andrea Soragna Rossana Pisani	32-34
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Metodi matematici	Alfredo Porati * Marilde Granero A. Infantino	35
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Fotobioenergetica	Alberto Vianelli	36-37
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Botanica	Paolo. Gerola* Cristina Pisoni Luigi Mazzagatti	38-40
BIOLOGIA E PATOLOGIA MOLECOLARE	Biologia Molecolare	G. Badaracco* F. Bolognese C. Kilstrup- Nielsen N. Landsberger I-M Bonapace A. Bergo M. Mengoni F. Saracino B. Conca D.Pecoraro S. Azimonti D.Osti	41-46
ZOOLOGIA E PALEONTOLOGIA	Paleontologia	Silvio Renesto	47
ZOOLOGIA E PALEONTOLOGIA	Biologia degli invertebrati	R. Valvassori M. de Eguileor* A. Grimaldi G. Tettamanti L. Guidali R. Ferrarese L. Rinaldi M.L. Rivas	48-50

Riassunti delle ricerche svolte

Sezione Ambiente

1. DESTINO AMBIENTALE DI CONTAMINANTI ORGANICI

Luca Nizzetto, Antonio DiGuardo.
Environmental Modelling Group, EMG.

L'Environmental Modelling Group si occupa dello studio del destino ambientale di contaminanti organici attraverso lo sviluppo, messa a punto e calibrazione di modelli ambientali. Tali modelli vengono costruiti a partire da unità modellistiche esistenti e da unità modellistiche create ad hoc quando un nuovo meccanismo viene indagato e descritto adeguatamente. In quest'ultimo caso viene effettuata un'opportuna indagine sperimentale che comprende il set up di esperimenti in campo e successive analisi in laboratorio. In questa presentazione verranno riportati degli esempi dei modelli del destino ambientale sviluppati e degli studi effettuati per la messa a punto dei submodelli. I principali temi di ricerca sui quali si articola l'attività del gruppo sono i seguenti:

- Ruolo della vegetazione nell'accumulo dei POPs dall'aria in fasce vegetazionali alpine.
- Ruolo delle fasce tampone nel ridurre la contaminazione delle acque superficiali da pesticidi
- Modelli di tipo Unsteady-state per la previsione del destino ambientale di contaminanti organici nel suolo e nelle acque superficiali con particolare attenzione ai problemi di spazializzazione ed integrazione con sistemi GIS
- Modelli di rete trofica acquatica

2. POLYCHLORINATED BIPHENYLS (PCBs) AND DDTs IN FOREST ALONG AN ALTITUDINAL GRADIENT

Antonio Di Guardo, Luca Nizzetto, Bruno Cerabolini, Paola Grammatica.
Environmental Modelling Group, QSAR Group

Some POPs, (persistent organic pollutants) such as Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and DDTs, are characterized by elevated persistence and mobility potentially affecting all environmental compartments at a variety of spatial scales. Models were developed to understand their fate in the environment and initially they comprise only basic compartments such as air, soil, water and sediments as part of the model scenarios, while more recently the focus shifted on the role of forests in influencing the transport of pollutant from air to soil and viceversa. Vegetable biomass appear as a key factor for determining levels in soil, and consequently the exposure of terrestrial trophic chains. For example, forest soils generally present levels of POPs 2-3 times higher than agricultural soils. This phenomenon was related to the ability of leaves to accumulate organic pollutants, and consequently to transfer them to soil ("Forest Filter Effect"). In regional scale the question becomes of primary interest for environmental modelling, considering that in some geographical contexts forests cover a conspicuous amount of the land surface. However, scarce information is available about POPs fate in forests situated at different altitudes. This work presents results on the distribution of PCBs and DDTs in leaves, litter and soil of three different forest types in the Italian Alps along an altitudinal gradient, showing different accumulation trends for broadleaves and coniferous, and

different contaminants profiles between different vegetable associations. Moreover an evaluation of the "filter effect" has been carried on comparing levels between forested soils and bared soils at the same altitudes.

3. A COUPLED SOIL-SURFACE WATER UNSTEADY STATE MODEL: DEVELOPMENT OF A MODEL UNIT

Antonio Di Guardo, Claudia Ferrari.
Environmental Modelling Group - EMG

Mathematical models are considered useful tools to study the fate of chemicals applied to an environmental system; in particular, many of them were developed to predict the behaviour of organic compounds such as pesticides in surface waters and soil. A model can simulate a steady-state situation, based on continuous discharge of a contaminant and fixed environmental properties, or an unsteady-state situation, in which the fate of a chemical is studied starting with a "clean" system and adding the contaminant at a constant input until steady state is reached. This type of models are generally based on a "static" water unit and a single soil scenario, but in certain environmental situations, such as lake basin or river basin, this approach is not adequate; in this type of systems many environmental factors change every day and chemical application can be episodic. A different approach for these environmental systems is a single modelling unit composed by two unsteady-state models working together, one for the soil scenario and one for the water scenario. This work presents a new modelling unit built with two existing models. This new model can be used to simulate a non continuous application of chemicals in a system, for example a drainage basin, and to study how the temporal changes in the environmental parameters may influence the fate of a contaminant (such as a PEC in water or soil). This new unit allows the study of wide geographical areas when connected to a GIS; using this approach it is possible to assign spatial locations on a map to model's concentrations and to characterize, for example, the spatial change with time. Some examples of the application of the model to different environmental scenarios are presented to illustrate its usefulness.

4. DA RIO A KYOTO OVVERO DALLA BIODIVERSITA' ALLA FUNZIONALITA': RICERCHE E APPLICAZIONI IN ECOLOGIA VEGETALE

Bruno Cerabolini, Guido Brusa, Roberta M. Ceriani, Rossella De Andreis, Alessandra Luzzaro, Simon Pierce, Barbara Raimondi
Unità di Ecologia Vegetale e Fitogeografia

L'Unità di Ecologia Vegetale e Fitogeografia si occupa dell'analisi delle comunità vegetali e delle specie che le costituiscono. Il primo fondamentale aspetto prevede lo studio della vegetazione attraverso metodi tradizionali basati sul rilievo fitosociologico e sulle tecniche di analisi multivariata: in questo ambito particolare attenzione viene posta alle fitocenosi tipiche della Pianura Padana, delle Prealpi e della catena alpina (ad es. brughiere pedemontane, boschi di latifoglie, ecc.). Innovativo è poi l'approccio funzionale che consente di classificare le specie prima e le comunità poi sulla base delle caratteristiche morfologiche delle piante e tenendo conto di fattori rilevanti quali competizione, stress e disturbo. Questo approccio rappresenta un valido strumento per l'analisi dei meccanismi di coesistenza delle specie e della biodiversità, permettendo tra l'altro di fornire indicazioni a livello gestionale e promuovere specifici progetti di conservazione. E' in questo contesto

che si collocano le attività connesse con lo studio della propagazione *ex situ* di specie autoctone, con particolare riguardo per quelle rare, endemiche e/o minacciate: dettagliate ricerche in questo campo riguardano ad esempio specie dell'Allegato IV della Direttiva Habitat (e.g. *Primula glaucescens*, *Physoplexis comosa*) e orchidee alpine e prealpine. La raccolta di parametri morfo-funzionali consente infine di esaminare i processi e le funzioni globali all'interno degli ecosistemi, prendendo in considerazione soprattutto gruppi di specie dominanti, quali ad esempio quello delle piante legnose. Le informazioni così raccolte potranno essere utilizzate per lo sviluppo di nuovi campi di ricerca soprattutto in relazione ai cambiamenti globali. A questo proposito è in corso un'indagine volta alla quantificazione del sequestro del carbonio da parte della vegetazione, allo scopo di stimare l'effetto delle diverse fitocenosi sul ciclo del carbonio stesso, secondo le indicazioni del protocollo di Kyoto.

5. LA VEGETAZIONE DELLE SORGENTI PETRIFICANTI NEL PARCO REGIONALE CAMPO DEI FIORI (VARESE, LOMBARDIA)

Guido Brusa, Barbara Raimondi, Bruno Cerabolini
Ecologia vegetale e Fitogeografia

I depositi di travertino si formano quando acque ricche in bicarbonati cedono anidride carbonica all'atmosfera e/o agli organismi vegetali fotosintetici. Il riequilibrio di questa reazione chimica impone la precipitazione del carbonato di calcio. Nell'area del Parco Regionale Campo dei Fiori (VA) interessata dalla presenza di sorgenti petrificanti, la deposizione di travertino sembra chiaramente favorita sia da briofite, che da cianobatteri. Nell'ambito del Progetto Life-Natura "Chiotteri, habitat calcarei e sorgenti petrificanti" (LIFE00NAT/IT/007139 – 40), sono stati eseguiti 286 rilievi nei bacini dei corsi d'acqua interessati dal processo di travertinizzazione. In ciascun rilievo sono state censite tutte le macrofite presenti, ovvero tutti gli organismi "vegetali" che formavano colonie visibili ad occhio nudo. Sono stati pertanto rilevati gli ascomiceti lichenizzati (*Ascomycota*), le colonie di cianobatteri (*Cyanophyta*) e di alghe eucariote (*Rhodophyta*, *Xanthophyta* e *Chlorophyta*), le epatiche (*Marchantiophyta*), i muschi (*Bryophyta*) e le piante vascolari (*Polypodiophyta*, *Pinophyta* e *Magnoliophyta*). Sono stati rilevati anche alcuni parametri ambientali e microambientali ritenuti potenzialmente condizionanti le comunità oggetto di studio. I dati raccolti sono stati sottoposti ad analisi multivariata per individuare i gruppi di vegetazione (Cluster Analysis) ed i gradienti ecologici principali (Detrended Correspondence Analysis). Sono state individuate 14 comunità, per lo più appartenenti alla classe *Montio-Cardaminetea*. La deposizione di travertino è risultata influenzata dalla presenza di specie peculiari di briofite (*Eucladium verticillatum*, *Hymenostylium recurvirostrum* e *Palustriella commutata*) e di cianobatteri (*Phormidium incrustatum*, *Rivularia haematites* e *Schizotrix fasciculata*), nonché da particolari condizioni microambientali come l'elevato apporto di acqua sorgiva, la velocità moderata della corrente, l'elevata inclinazione e il basso grado di disseccamento del substrato.

6. I TIPI FUNZIONALI COME STRUMENTO PER LO STUDIO DELLA DINAMICA DI VEGETAZIONE: STRATEGIE DELLE PIANTE E SUCCESSIONE PRIMARIA IN AMBIENTE PERIGLACIALE

Alessandra Luzzaro, Marco Caccianiga, Simon Pierce, Roberta M. Ceriani, Bruno Cerabolini
Unità di Ecologia Vegetale e Fitogeografia

La classificazione tassonomica delle specie vegetali comporta difficoltà nell'affrontare problematiche ecologiche, quali il ruolo della vegetazione nei processi ecosistemici o le risposte della stessa ai cambiamenti ambientali. La classificazione per tipi funzionali (gruppi di specie con adattamenti simili nei confronti dell'ambiente) può essere uno strumento promettente per rispondere a tali domande. Secondo il modello CSR di Grime le specie che vivono in ambienti simili sviluppano adattamenti simili; pertanto è possibile individuare un set di caratteri per definire le strategie ricorrenti.

L'analisi dei tipi funzionali è stata applicata allo studio della dinamica di vegetazione in ambiente periglaciale (Ghiacciaio del Rutor, AO). Sono stati analizzati 33 caratteri su 45 specie: ad ogni specie è stata attribuita una strategia CSR ed un ruolo nella successione dinamica sulla base di 61 rilievi fitosociologici condotti nell'area.

Dalla sovrapposizione fra dati funzionali e fitosociologici è emerso come nelle vegetazioni pioniere prevalgano le specie ruderali (R), mentre nelle vegetazioni evolute prevalgono le specie stress-tolleranti (S). L'analisi tramite PCA ha permesso di individuare due assi adattativi, legati rispettivamente all'efficienza nell'utilizzo delle risorse ed all'abilità competitiva delle specie. Il primo asse è correlato positivamente a caratteri di efficienza fotosintetica (LNC e SLA) e negativamente a caratteri tipici delle strategie stress-tolleranti (LCC e LDMC). Il secondo asse è legato a caratteri dimensionali (altezza ed allargamento laterale della pianta, superficie della foglia).

7. LA CONSERVAZIONE DELLE ORCHIDEE DEL MONTE BARRO

Simon Pierce, Roberta M. Ceriani, Bruno Cerabolini, Rossella De Andreis, Daniela Scaccabarozzi
Unità di Ecologia Vegetale e Fitogeografia

Lo scopo del presente progetto è quello di: a) identificare le orchidee autoctone che necessitano di maggiori interventi di conservazione, e b) sperimentare trattamenti che stimolano la germinazione.

L'attività di ricerca si è concentrata sul Monte Barro (LC), dove è presente una varietà di ambienti prediletti dalle orchidee, dai prati magri alle faggete. Le posizioni delle varie popolazioni di orchidee presenti nell'area in esame sono state registrate mediante GPS (Global Positioning Systems) nella primavera 2004, anche allo scopo di facilitare la successiva raccolta dei semi. Per quanto riguarda la germinazione, pre-trattamenti chimici sono stati applicati ai semi di *Gymnadenia conopsea*. I semi sono stati immersi in una soluzione al 0.4% di ipoclorito di sodio per 0 (controllo), 2, 4, 6 o 8 ore, prima della semina su agar in condizioni sterili.

La registrazione delle posizioni delle popolazioni di orchidee sul Monte Barro ha mostrato che specie come *Cephalanthera longifolia* e *Listera ovata* sono estremamente comuni sia nei boschi che nelle praterie adiacenti, e hanno inoltre colonizzato siti disturbati. *Ophrys sphegodes* e *O. insectifera* sono diffuse nei prati, ma per lo più sottoforma di piccole popolazioni sparse. Molte specie del genere *Orchis* sono infine presenti con popolazioni decisamente ridotte: ad esempio per *Orchis provincialis* sono stati rinvenuti solo 5 individui nell'area indagata.

Per quanto riguarda la germinazione di *Gymnadenia conopsea*, in assenza di pre-trattamento è stata osservata una percentuale di germinazione pari al 17% dopo 185 giorni, ma il trattamento con ipoclorito di sodio ha indotto un aumento del tasso di germinazione fino al 69% (6h). Una riduzione del tasso di germinazione si è invece riscontrata nel trattamento protratto per 8h (54%), suggerendo la necessità di

un'ottimizzazione del periodo di esposizione all'ipoclorito di sodio. Test analoghi sono al momento in corso anche sulle altre specie campionate.

8. RELAZIONI TRA TIPI FUNZIONALI E SYNTAXA: VERIFICA SU UN CAMPIONE DI FLORA LEGNOSA DALLE ALPI AL MEDITERRANEO

Bruno Cerabolini, Guido Brusa, Roberta Maria Ceriani, Simon Pierce
Ecologia vegetale e Fitogeografia

La struttura e le modalità di funzionamento di un ecosistema possono essere interpretate secondo diversi approcci. Recentemente ha avuto un notevole impulso l'impiego di *functional types*, in quanto la complessità di un ecosistema può essere compresa più facilmente raggruppando le specie in un numero limitato di categorie. Tuttavia, i tipi funzionali sono stati studiati principalmente per le specie erbacee e scarsa attenzione è stata posta alle legnose. In antitesi esiste una notevole quantità di dati sintassonomici, nonché una consolidata metodologia di interpretazione della dinamica della vegetazione in termini fitosociologici.

Il lavoro si pone come scopo quello di verificare le congruenze tra i due approcci (funzionale e fitosociologico) e valutare la possibilità del loro uso combinato. Sono state considerate 130 specie a diverso grado di lignificazione. Per ognuna di esse sono stati valutati 7 caratteri funzionali relativi alla foglia (area specifica, contenuto di materia secca, peso secco, indice di Kömer, contenuto di azoto e carbonio, persistenza) e 3 relativi all'intera pianta (altezza, allargamento laterale e capacità di innalzare la *canopy*). Le specie sono state inquadrare in 8 syntaxa (*Betulo-Adenostyletea*, *Erico-Pinetea*, *Nardo-Callunetea*, *Quercu-Fagetea*, *Quercetea ilicis*, *Rhamno-Prunetea*, *Salicetea herbaceae* e *Vaccinio-Picetea*) e un gruppo di esotiche spontaneizzate. Per l'individuazione dei tipi funzionali si è utilizzato l'approccio *data-defined*, impiegando analisi multivariate (*PCA* e *K-means-clustering*). La definizione delle strategie C-S-R è stata approntata plottando passivamente specie erbacee a strategia nota nello spazio funzionale individuato dalla *PCA*.

La *PCA* hanno permesso di individuare due assi principali di variazione, corrispondenti ad un asse di competitività basato sulle dimensioni ed ad un asse di efficienza dell'utilizzo delle risorse. La *cluster analysis* ha consentito di individuare 7 gruppi di specie, ben separati nello spazio funzionale dell'ordinamento, a grandi linee corrispondenti alle 7 strategie secondarie di Grime. I gruppi sintassonomici risultano statisticamente (*Anova*) separati su entrambi gli assi della *PCA*.

9. GERMINAZIONE DEI SEMI E CONSERVAZIONE DI SPECIE ALPINE MINACCIATE: IL CASO DI *Physoplexis comosa* E *Primula glaucescens*

Rossella De Andreis, Roberta M. Ceriani, Simon Pierce, Barbara Raimondi, Bruno Cerabolini
Ecologia Vegetale e Fitogeografia

Il rafforzamento di specie e popolazioni minacciate attraverso tecniche di moltiplicazione *ex-situ* viene considerato come un valido mezzo per ridurre il rischio di estinzione. In particolare la propagazione da seme rappresenta una scelta ottimale, in quanto permette di massimizzare la diversità genetica di eventuali ecotipi locali ricorrendo a procedure relativamente poco costose e generalmente efficaci.

Nel presente lavoro la dinamica della germinazione dei semi di *Physoplexis comosa* e *Primula glaucescens*, specie endemiche delle praterie delle rocce carbonatiche delle Prealpi Lombarde, è stata esaminata allo scopo di redigere appropriati protocolli di germinazione da utilizzare in interventi di conservazione *ex-situ*. Le due specie sono infatti inserite nell'Allegato IV della Direttiva 92/43/CEE e nelle Liste Rosse Regionali.

I semi delle due specie sono stati campionati sul Monte Barro, nonché nel caso di *Primula glaucescens*, in altre tre località in zone più centrali del suo areale. I test di germinazione sono stati condotti in condizioni sia non sterili che sterili (germinazione *in vitro*); in quest'ultimo caso è stata anche analizzata l'efficacia di diverse dosi di gibberelline. I semi di *Physoplexis comosa* sono germinati solo in condizioni sterili, con percentuali di germinazione estremamente basse in assenza di GA₃ (G=1.7%). La concentrazione ottimale di GA₃ è risultata essere pari a 100 mg l⁻¹ (G>90.0%). I semi di *Primula glaucescens* sono germinati sia in condizioni non sterili che *in vitro*. Dosi comprese tra 10 e 500 mg l⁻¹ hanno indotto un minor ritardo iniziale e una germinazione più rapida. I semi di *Primula glaucescens* campionati al Monte Barro sono risultati infine caratterizzati da una germinazione più bassa e più lenta rispetto a quelli provenienti dalle altre popolazioni. Il Monte Barro potrebbe essere pertanto considerato una stazione marginale per *Primula glaucescens*, nella quale la specie presenta una fitness ridotta.

10. PREVENIRE E' MEGLIO CHE RIMEDIARE: IL MESSAGGIO QSAR DALLA STRUTTURA DELLE MOLECOLE

Ester Papa, Paola Gramatica, Pamela Pilutti, Elisa Giani, Roberto Marotta
QSAR e Chimica Ambientale

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, proprietà chimico-fisiche o reattività. 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, focalizzati essenzialmente alla possibile applicazione predittiva dei modelli) permettono di realizzare validi modelli per la predizione di proprietà o attività di vario genere, colmando quindi le lacune esistenti nei dati sperimentali.

L'Unità di Ricerca QSAR in Chimica Ambientale del DBSF 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 Toxics*), con realizzazione di modelli QSAR sia di regressione sia di classificazione, validati per le loro capacità predittive, per:

P: - emivite in diversi comparti ambientali

P: - reattività atmosferica (con radicali OH e NO₃, e con ozono) e indici di degradabilità in aria

B: - BioConcentration Factor (BCF) in pesci e in vegetali

T: - Tossicità acuta per i pesci (*Pimephales promelas*) e per batteri bioluminescenti (*Vibrio fischeri*)

T: - Mutagenicità di PAH (test di Ames TA98, TA100)

Altri studi, in collaborazione con il JRC (*Joint Research Center*) di Ispra, riguardano lo studio delle distribuzioni di metalli nei muschi e suoli di diverse regioni italiane e la validazione di modelli QSAR per la regolamentazione di prodotti chimici.

11. DISTRIBUZIONE DI METALLI PESANTI IN SUOLI E MUSCHI DI PIEMONTE E SICILIA : ANALISI MEDIANTE METODI CHEMIOMETRICI E GIS

Paola Gramatica^{1a}, Francesca Battaini^{1a}, Roberto M. Cenci², Ester Papa^{1a}, Damiano Preatoni^{1b} ed Elisa Giani^{1a}

^{1a}QSAR e Chimica Ambientale, ^{1b}UAGRA-DASS, ²JRC (Ispra)

In un settore di rilevante importanza come il monitoraggio ambientale si stanno sempre più sviluppando metodologie integrate di campionamento e trattamento dei dati analitici che combinano analisi chimiche tradizionali, bioindicatori, tecniche di analisi multivariata (metodi chemiometrici) e approccio geostatistico (*Geographic Information System*, GIS). Tra tutti gli organismi utilizzati come bioindicatori, i muschi sono matrici ambientali tra le più idonee per sviluppare reti di monitoraggio di contaminanti ambientali persistenti.

In questo lavoro il muschio *Hypnum cupressiforme* è stato utilizzato per rilevare le concentrazioni di metalli pesanti in 42 siti del Piemonte e in 33 aree della Sicilia [1]. I metalli pesanti investigati sono: Al, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Ti, V, Zn e Hg. Le concentrazioni di questi elementi sono state rilevate anche nei campioni di suolo prelevati nelle vicinanze dei muschi [2]. Per avere più precise informazioni sulle distribuzioni dei metalli a livello regionale i dati di campionamento sono stati analizzati mediante metodi geostatistici, producendo le corrispondenti mappe di distribuzione regionale GIS.

I dati raccolti nei muschi e nei suoli sono stati anche analizzati in modo multivariato con metodi chemiometrici. L'Analisi delle Componenti Principali (PCA) ha permesso di visualizzare le distribuzioni dei metalli e le similarità dei diversi siti, evidenziando le stazioni globalmente più inquinate e individuando anche la principale tipologia dell'inquinamento. Analizzando contemporaneamente le concentrazioni dei metalli nei muschi e nei suoli delle due regioni si osserva come le stazioni piemontesi siano in genere più inquinate rispetto a quelle siciliane. La similarità di inquinamento tra i diversi siti è stata anche analizzata mediante la tecnica della Cluster Analisi Gerarchica, utilizzando diverse distanze e *linkage*.

12. QSAR PREDICTION OF ORGANIC CHEMICALS ENVIRONMENTAL PERSISTENCE

Paola Gramatica, Ester Papa
QSAR e Chimica Ambientale

The highlighting of substances with high persistence potential is the first step of the screening assessment process necessary to identify PBTs. The use of QSAR is a valid methodology to predict this tendency when data on Environmental Persistence endpoints are not widely available. A PCA model based on half-life data for Air, Soil, Water and Sediment has been proposed to evaluate the persistence potential of chemicals. The PC1 score, proposed as a PERSISTENCE SCORE INDEX (PESCI), is modelled by theoretical molecular descriptors and validated both internally and externally. A Classification model is also proposed to assign substances to three classes of potential risk, defined *a priori* by PCA. Since the proposed models have satisfactory predictivity they could be used as evaluative methods to screen and rank chemicals according to their tendency towards overall persistence in the environment, just starting from chemical structure, thus also before synthesis.

13. VALIDATED QSAR PREDICTION OF ACUTE TOXICITY OF ORGANIC CHEMICALS IN THE FATHEAD MINNOW (*PIMEPHALES PROMELAS*).

Paola Gramatica, Ester Papa, Fulvio Villa
QSAR e Chimica Ambientale

The use of Quantitative Structure-Activity Relationships in assessing the potential negative effects of chemicals plays an important role in ecotoxicology. The object of this study was to develop statistically validated QSAR models to predict the aquatic toxicity of chemicals classified as narcotics, polar narcotics, electrophiles and specific acting compounds. The studied end-point was $(LC_{50})_{96h}$ in *Pimephales promelas*. The applied MLR approach (Ordinary Least Squares) is based on the variety in theoretical molecular descriptors, selected by the Genetic Algorithm-Variable Subset Selection procedure. The quality of theoretical descriptors (1D, 2D and 3D, from DRAGON package) in toxicity modelling is compared with various calculated logKow descriptors. The best models, based on theoretical molecular descriptors, were validated for their predictive performance using both internal (cross-validation by LOO and LMO, Y-scrambling) and external validations, by previous splitting of the data set with Kohonen-Artificial Neural Networks (K-ANN) ($Q^2_{EXT}=71-89\%$). Reliability of the predictions was checked by the leverage approach to verify the chemical domain of the models.

14. Dalla degradazione alle sintesi: le infinite risorse dei sistemi batterici

Viviana Orlandi, Valentina Massa, Francesca Radice, Stefano Banfi, Paola Barbieri
Microbiologia ambientale e molecolare, e Chimica organica

L'attività di ricerca del gruppo verte principalmente sullo studio di geni ed enzimi batterici coinvolti nel catabolismo di composti recalcitranti alla biodegradazione, in particolare di idrocarburi alifatici e aromatici naturali e di sintesi. L'interesse verso questi sistemi è dovuto alla possibilità di sfruttarli sia per costruire nuove e più ampie vie cataboliche sia per convertire molecole d'interesse in intermedi per sintesi chimiche di composti dotati di attività biologica.

In questo ambito stiamo sviluppando due diversi temi di ricerca.

Il primo, per il quale si rimanda ai poster, è relativo all'isolamento e alla caratterizzazione di batteri Gram positivi ad alto contenuto in GC, il cui ruolo ecologico, nonché la genetica, la biochimica e la regolazione del catabolismo sono ancora poco note.

Il secondo tema di ricerca riguarda la toluene-o-xilene monoossigenasi (ToMO), un complesso enzimatico precedentemente caratterizzato. Esprimendo la ToMO in *E. coli* abbiamo messo a punto un protocollo standard di biotrasformazione che servirà come sistema di riferimento per la trasformazione di nuovi substrati al fine di ottenere intermedi per la sintesi di molecole ad attività biologica. Abbiamo poi messo a punto dei sistemi di mutagenesi random per ottenere enzimi più efficienti o dotati di spettro di substrati e/o regiopreferenza diverse dal parentale. Attualmente stiamo analizzando una collezione di potenziali mutanti nella subunità A.

Abbiamo inoltre dimostrato che TouR, l'attivatore trascrizionale della ToMO, contrariamente a quanto noto per altri regolatori appartenenti alla stessa famiglia, è in grado di attivare la trascrizione in assenza dell'effettore specifico quando la coltura entra in fase stazionaria in seguito all'esaurimento della fonte di carbonio. Oltre a proseguire la ricerca per identificare il segnale specifico dell'attivazione effettore-indipendente di TouR, pensiamo di sfruttare il sistema per la costruzione di un vettore d'espressione per attività enzimatiche d'interesse.

15. IDENTIFICAZIONE E ANALISI DEI GENI CODIFICANTI PER LA DEALOGENASI DI ARTHROBACTER RAMOSUS FG1

Francesca Radice, Vanessa Battini, Paola Barbieri

Microbiologia ambientale e molecolare
francesca.

I composti aromatici clorurati sono largamente usati come erbicidi, fungicidi e solventi e spesso si rivelano molto persistenti. Questa recalcitranza è attribuita alla loro bassa solubilità in acqua e alla stabilità del legame carbonio-cloro. Questi inquinanti possono inoltre essere biodegradati soltanto da un ristretto numero di microrganismi.

Il ceppo *Arthrobacter ramosus* FG1 è stato isolato nel nostro laboratorio per la sua capacità di crescere sull'acido 4-clorobenzoico come unica fonte di carbonio ed energia. La degradazione procede attraverso la formazione dell'acido 4-idrossibenzoico, un composto facilmente degradabile da diversi ceppi batterici.

In altri ceppi di *Arthrobacter* i geni coinvolti nella dealogenazione sono stati clonati e sequenziali: sono organizzati in un unico operone comprendente i geni *fcba* codificante per una 4-CBA-CoA-ligasi, *fcbb* codificante per una 4-CBA-dehalogenasi, *fcbc* codificante per una tioesterasi.

Omologhi di questi geni sono stati identificati sul cromosoma di *A. ramosus* FG1 tramite ibridazione Southern. Il DNA genomico del ceppo è stato quindi amplificato con primer degenerati, disegnati sulla base di un allineamento delle sequenze nucleotidiche dei geni noti. Si è così ottenuto un amplificato di 4.7 kb che è stato clonato nel vettore pUC18, originando il costrutto pDH4. Il frammento clonato è stato sequenziato e sono stati identificate tre ORFs corrispondenti ai geni *fcba*, *fcbb* ed *fcbc*: la sequenza e l'organizzazione genica è risultata conservata rispetto a quelle degli altri ceppi di *Arthrobacter* noti. L'espressione di questi geni è stata verificata in *E. coli* testando l'attività dealogenasica mediante un saggio colorimetrico su piastra e attraverso un SDS-PAGE degli estratti cellulari.

Attualmente è in corso la messa a punto di una strategia per clonare i geni codificanti per la dealogenasi di *A. ramosus* FG1 in un ospite appropriato in modo da ottenere un ricombinante capace di mineralizzare il 4-clorotoluene.

16. ISOLAMENTO DI BATTERI GRAM POSITIVI AD ALTO CONTENUTO IN GC CAPACI DI DEGRADARE IDROCARBURI AROMATICI

Francesca Radice, Paola Barbieri
Microbiologia ambientale e molecolare

I derivati naturali e sintetici del petrolio sono inquinanti diffusi sia nelle acque che nel suolo. E' noto che l'attività metabolica microbica contribuisce fortemente alla capacità del suolo di autodepurarsi e diverse tecniche di biorisanamento sono state sviluppate proprio per sfruttare il potenziale offerto dal metabolismo batterico per ripulire siti contaminati.

Diverse vie cataboliche per la degradazione di idrocarburi alifatici ed aromatici sono state caratterizzate soprattutto in batteri Gram negativi mentre sono molto scarse le informazioni circa la genetica e la biochimica delle vie degradative nei Gram positivi. Tuttavia essi potrebbero svolgere un importante ruolo nella biodegradazione soprattutto in siti contaminati da lunga data.

Lo scopo di questo progetto è quello di analizzare la comunità microbica di un sito contaminato da lungo tempo da idrocarburi e di isolare ceppi batterici coinvolti nella loro degradazione, focalizzandosi sui batteri Gram positivi ad alto contenuto in G+C.

Per l'isolamento sono state allestite diverse colture di arricchimento in terreno minerale M9 fornendo rispettivamente toluene e naftalene come unica fonte di carbonio e di energia e usando come inoculo un campione del suolo contaminato. Le colture, cresciute fino a

intorbidimento del mezzo, sono state sia reinoculate nello stesso mezzo liquido, sia piastrate su terreno selettivo costituito da M9 addizionato di naftalene o toluene, anfotericina B e acido nalidixico per ottenere colture pure. Dopo due cicli di arricchimento sono stati isolati in coltura pura tre ceppi, uno su toluene e due su naftalene.

L'analisi della sequenza del 16S rDNA di questi ceppi ha dimostrato che il ceppo isolato su toluene appartiene al genere *Streptomyces* e che il primo ceppo cresciuto su naftalene appartiene al genere *Arthrobacter*. L'analisi della sequenza del secondo ceppo isolato su naftalene è in corso.

In seguito verranno analizzati lo spettro di substrati, le vie cataboliche e i geni coinvolti nella degradazione di questi composti.

17. ATTIVITA' ANTIBATTERICA DI FOTOSENSIBILIZZANTI PORFIRINICI

Viviana Orlandi, Valeria Battini, Enrico Caruso, Paola Barbieri, Stefano Banfi
Microbiologia ambientale e molecolare, e Chimica organica

La terapia fotodinamica (PDT) è un processo in cui dei composti fotoreattivi vengono attivati dall'energia della luce con la concomitante produzione di ossigeno singoletto e radicali liberi: l'effetto citotossico dei radicali prodotti dalle molecole fotosensibilizzanti porfiriniche è efficace nella terapia di alcuni tumori. Recentemente si è osservato che le stesse molecole possono essere utilizzate nella fotosensibilizzazione di microrganismi aprendo così la possibilità di una loro applicazione nel trattamento di infezioni localizzate. E' noto, inoltre, che i batteri Gram negativi sono più resistenti rispetto ai Gram positivi all'azione sia degli antibiotici che degli agenti fotosensibilizzanti.

In questo lavoro è stato valutato il potere fotoinattivante di quattro fotosensibilizzanti tetraaril-porfirinici (PS1, commerciale; PS2, PS3, PS4, di nuova sintesi) illuminando, dopo un appropriato periodo di incubazione al buio, le colture batteriche con una lampada tungsteno/alogeno da 500W schermata con un filtro di acqua circolante. Delle quattro molecole fotosensibilizzanti tre sono cariche positivamente (PS1, PS2, PS4) e una è neutra (PS3).

I microrganismi testati, sia i Gram negativi *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* che il Gram positivo *Staphylococcus aureus*, hanno mostrato una fotoinattivazione dipendente dalla concentrazione di porfirina. *S. aureus* è risultato più sensibile alla fotoinattivazione rispetto ai batteri Gram negativi e tra questi *E. coli* è risultato essere più sensibile rispetto a *P. aeruginosa*.

Le porfirine di nuova sintesi hanno mostrato un maggior potere battericida rispetto alla molecola commerciale; in particolare PS2 a concentrazioni micromolari determina una letalità maggiore del 99,99%.

La porfirina neutra (PS3) è più efficace nei confronti dei Gram negativi rispetto al Gram positivo testato.

Gli studi si focalizzeranno sulla comprensione dei meccanismi biologici che sono alla base della fotoinattivazione e sulle interazioni che avvengono tra molecola fotosensibilizzante e batterio, in modo da sintetizzare molecole efficienti nel debellare microrganismi multiresistenti in infezioni localizzate.

18. APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA AA PER IL RILEVAMENTO DI PLATINOIDI IN AREE URBANE UTILIZZANDO LAURO CERASO COME CAMPIONATORE AMBIENTALE

Bruno Faggion, Giorgio Terzaghi, Jacqueline Di Biasi, Alessandro Fumagalli
Chimica

La spettroscopia di assorbimento atomico (AA) è usata per la determinazione di elementi metallici in tracce in complesse matrici biologiche o minerali. Il diffondersi dei convertitori catalitici automobilistici contenenti metalli Platinoidi, pone da qualche tempo il problema di verificarne un eventuale rilascio ambientale.

La presenza di Rodio, Platino e Palladio (PGEs), è stata verificata in campioni di polveri stradali e foglie nel periodo giugno - novembre 2004. Si è trovato che la sola polvere adesa alla superficie esterna delle foglie, opportunamente rimossa, è un buon indicatore di contaminazione. Tale pratica, riduce i tempi del trattamento pre-analisi, semplifica la complessità della matrice, e migliora notevolmente la sensibilità analitica. La scelta di prelevare foglie dal sempreverde *Lauro Ceraso*, è stata motivata dalla sua facile reperibilità in ambiente urbano e dalla possibilità di distribuire i campionamenti lungo l'arco di un intero anno e di connotarli in base alla distanza dagli eventi piovosi. Sono stati inoltre controllati i livelli di piombo, usato come additivo nelle benzine "super" fino al 2002, per monitorarne un'attesa diminuzione.

I primi risultati, che saranno riportati nella comunicazione, si prestano ad interessanti correlazioni nella distribuzione tra i 3 metalli (a livello di ng/g di polvere). Si è anche rilevato il persistere di un notevole inquinamento da piombo, nell'ordine dei $\mu\text{g/g}$ di polvere.

19. Comparative immunology: Environment and Health

Maurizio F. Brivio, Maristella Mastore
Immunologia Comparata

Comparative immunology: Environment and Health

Maurizio F. Brivio and Maristella Mastore.
Lab of Comparative Immunology and parasitology

Invertebrates, particularly insects, act as vectors of most important diseases such as malaria, Chagas' disease, sleeping sickness, filariases, dengue fever, yellow fever, etc., moreover many insect species, usually named insect pests, have a strong impact on the environment since they are phytophagous and they are harmful for both crops and urban areas. Insects lack finely tuned immunorecognition receptors but they possess useful pattern-recognition molecules (PRRs) and these factors are able to interact specifically with a broad range of foreign antigenic surface compounds (commonly named, PAMPs, defined as pathogen-associated molecular patterns). PAMPs-PRRs interaction is a key process of the discriminatory steps of innate immunity that usually precede the effectors mechanisms responsible for the elimination of not self.

Our work examines some feature of humoral and cellular defenses involved in innate immune responses, how they act to control parasites and if their engagement or counteracting can explain many immune features characteristic of parasitic infections; particularly, we investigate the interaction between the humoral and cellular defences system of an insect host model with pathogenic parasitic nematodes (*Steinernema feltiae*), with emphasis on the molecular interaction between parasite's PAMPs-like molecules and host hemolymph receptors (PRRs).

Sezione Farmacologia

20. SINTESI DI MOLECOLE FOTOSENSIBILI

Buccafurni Loredana, Banfi, Stefano; Caruso, Enrico; Murano Roberto; Battini Valeria
Chimica Organica

Con il termine “fotosensibilizzanti “ si indicano tutte le molecole che hanno la proprietà di indurre reazioni chimiche in seguito ad assorbimento di una radiazione elettromagnetica. Particolarmente interessanti sono quelle molecole che hanno la capacità di passare ad uno stato elettronico eccitato a causa dell’ assorbimento di energia corrispondente alle radiazioni nel campo del visibile, quindi a bassa energia. L’energia assorbita viene riemessa in vari modi tra i quali risulta particolarmente importante il trasferimento di quest’ultima a molecole di ossigeno presenti in soluzione; in questo modo si genera l’ossigeno singoletto che risulta essere una specie altamente tossica per ogni tipo di cellula.

Alcune molecole appartenenti alla classe delle porfirine, o ad altre strutture da loro derivate, si sono rivelate adatte per la terapia fotodinamica dei tumori (PDT) e per la chemioterapia fotodinamica antimicrobica (PACT). Nel nostro gruppo ci stiamo occupando da alcuni anni della sintesi di molecole fotosensibilizzanti che, in base a specifiche variazioni strutturali ottenibili nel corso della loro preparazione, risultano adatte per entrambe le attività sopradescritte.

In questa presentazione verrà esposta la strategia di sintesi seguita per l’ottenimento di porfirine adatte per la PDT e quella seguita per l’ottenimento di porfirine utili per la PACT. Nel primo caso le molecole devono essere anfifiliche, cioè avere un parziale carattere lipofilo che consente loro di superare le membrane cellulari quindi di penetrare all’interno delle cellule eucariote; nel secondo caso i fotosensibilizzanti devono possedere uno spiccato carattere ionico per interagire con le membrane batteriche esterne.

Le prove di attività in vitro su cellule tumorali umane verranno riportate dal gruppo di farmacologia che fa capo alla prof.ssa Monti, mentre le prove di attività antibatterica saranno esposte dal gruppo di microbiologia che fa capo alla prof.ssa Barbieri.

21. EFFETTI DI NUOVI AGENTI FOTOSENSIBILIZZANTI SU CELLULE UMANE DI ADENOCARCINOMA DEL COLON.

Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza, Francesca Terni, Enrico Caruso, Stefano Banfi e Elena Monti.
Farmacologia

La terapia fotodinamica (PDT) rappresenta un’interessante opzione terapeutica per il trattamento di diversi tumori, tra cui i carcinomi dell’esofago e del polmone. Essa richiede la somministrazione sistemica di un agente fotosensibilizzante (PS), seguita da irradiazione del tumore con luce visibile di lunghezza d’onda compatibile con lo spettro di assorbimento del PS.

L’interesse per la PDT in oncologia è dovuto alla tendenza dei PS ad accumularsi nei tessuti neoplastici, dove vengono attivati selettivamente illuminando la sola zona di interesse, il che comporta un elevato indice terapeutico. Inoltre, l’uso della PDT non è precluso da precedenti trattamenti radio- o chemioterapici, né sembrano essere presenti forme di resistenza crociata con queste modalità di trattamento. Uno dei limiti della PDT è rappresentato dalla limitata profondità di penetrazione degli agenti fotosensibilizzanti nei

tessuti, dovuta alla bassa lunghezza d'onda di assorbimento di alcuni agenti fotosensibilizzanti, che ha portato allo sviluppo di nuovi composti da utilizzare nella PDT. In questo studio abbiamo valutato l'attività foto-citotossica di una serie di derivati porfirinici di- e tetra-arilici sostituiti, con lo scopo di identificare agenti con caratteristiche favorevoli all'uso nella PDT dei tumori. Gli effetti di questi nuovi composti sono stati valutati su una linea cellulare di adenocarcinoma del colon, HCT116, e confrontati con quelli ottenuti con il derivato 3OH-fenilclorinico Foscan, già applicato con successo in clinica. Studi di citotossicità, eseguiti mediante il test dell'MTT, hanno evidenziato una migliore efficacia di alcuni dei composti 5,15-diarilici, sia rispetto alle corrispondenti 5,10,15,20-tetraarilporfirine, sia al Foscan. L'analisi citofluorimetrica ha evidenziato che il trattamento con i composti più efficaci induce alterazioni del ciclo cellulare e un massiccio incremento delle cellule apoptotiche. Tali fenomeni sono inoltre accompagnati da un significativo aumento dei livelli intracellulari di perossidi I derivati di-arilici in esame potrebbero perciò rappresentare una alternativa promettente agli agenti PS attualmente in uso.

22. NUOVI DERIVATI DEL PLATINO (II): EFFETTO CITOTOSSICO E MODULAZIONE DELL'ESPRESSIONE DI p21 IN LINEE CELLULARI DI CARCINOMA OVARICO

Francesca Terni, Marzia Gariboldi, Elisabetta Gabano, Domenico Osella and Elena Monti
Farmacologia

Il cisplatino è un agente chemioterapico comunemente utilizzato in clinica, anche se la resistenza acquisita e gli effetti tossici ne limitano l'utilità e hanno spinto la ricerca verso lo sviluppo di nuovi derivati con caratteristiche più favorevoli.

In questo lavoro abbiamo studiato l'azione di sedici derivati del platino(II), nei quali i vari sostituenti che coordinano l'atomo centrale di platino sono stati progettati con lo scopo di consentire il legame di macromolecole sintetiche ad alto peso molecolare che favorirebbero il passaggio del farmaco dal circolo sistemico al tessuto neoplastico e la sua permanenza in quest'ultimo, con una conseguente minore tossicità aspecifica rispetto ai composti genitori. Gli esperimenti sono stati eseguiti su due linee cellulari derivate da carcinoma ovarico umano, le cellule A2780 e le cellule A2780Cp8, queste ultime selezionate per la loro resistenza al cisplatino. I nostri risultati indicano che i complessi che formano $cis-[Pt(DACH)(H_2O)_2]^{2+}$ risultano più attivi e mostrano una minor resistenza crociata con il cisplatino.

Poiché la linea cellulare A2780Cp8 non esprime il gene $p21^{WAF1/CIP1}$, si è indagato il ruolo di questo inibitore delle chinasi ciclina-dipendenti nella risposta delle due linee cellulari ai composti più efficaci. Le cellule A2780 hanno mostrato un significativo aumento dell'espressione di p21 dopo trattamento con i diversi derivati, mentre le cellule A2780Cp8 non esprimono il gene né in condizioni basali né in seguito a trattamento farmacologico. Cellule A2780CP8 transfettate con un plasmide contenente $p21$ hanno mostrato un significativo aumento della risposta al trattamento.

In conclusione, i nostri risultati suggeriscono un possibile coinvolgimento di p21 nell'azione citotossica dei farmaci derivati dal platino; la mancata espressione di tale proteina potrebbe spiegare alcune forme di resistenza al trattamento farmacologico con cisplatino, come nel caso delle cellule A2780Cp8.

23. P53 AND P21 ARE KEY EFFECTORS OF TUMOR SUPPRESSOR PKCδ IN HUMAN COLON CANCER CELLS.

Gianpaolo Perletti, Daniela Osti, Sabrina Zaro, Magda de Eguileor and Emanuela Marras.
Farmacologia, e Biologia degli invertebrati

We have previously demonstrated that the delta isoform of Protein Kinase C (PKC δ) acts as a suppressor of growth and neoplastic phenotype of HCT116 human colon cancer cells. This effect is characterized by dramatic changes in cell morphology, by mitotic abnormalities and by the acquisition of differentiation markers. We showed as well that p21^{waf1/cip1} and p53 undergo transient upregulation following retroviral transduction of PKC δ . To study the involvement of p21 and p53 as downstream effectors of PKC δ we overexpressed this isoenzyme in HCT116/p21^{null} cells, or in HCT116 cells, in which p53 is disrupted by the human papillomavirus E6 protein via the ubiquitin-proteasome pathway. Interestingly, overexpression did not ablate the transformed phenotype of either cell line, suggesting that both p21 and p53 are essential for the antineoplastic activity of PKC δ . To further confirm the evidence that p53 is a likely downstream effector of PKC δ , we transduced PKC δ in HCT116 cells displaying a homozygous knockout of p53. Interestingly, PKC δ -overexpressing HCT116/p53^{null} cells were not growth arrested, nor showed alterations of cell morphology, nor underwent changes of *in vitro* growth parameters indicating suppression of the transformed phenotype. When a cDNA encoding p53 was cotransfected with PKC δ into HCT116/p53^{null} cells, suppression of tumor cell growth and reversion of transformation parameters were observed. Therefore, reconstitution of p53 expression renders HCT116 cells fully responsive to PKC δ . To extend our investigation to other human colon cancer lines, we overexpressed PKC δ in HT29 cells, characterized by the Arg273His inactivating mutation in the p53 gene. This line was found to be resistant to the activity of PKC δ . Thus, our data provide experimental evidence to the hypothesis that PKC δ acts as a tumor suppressor by activating a signalling pathway involving p21 and p53.

24. Cannabinoidi: sostanze d'abuso e potenzialità' terapeutiche

T. Rubino, D. Viganò, A. Vaccani, A. Colombo, S. Bianchessi e D. Parolaro
Neurobiologia delle sostanze d'abuso

L'attività di ricerca del gruppo è essenzialmente incentrata sulla farmacotossicologia dei cannabinoidi e si focalizza su tre tematiche principali: gli aspetti comportamentali e cellulari legati all'esposizione cronica al principio attivo della marijuana, il delta-9 tetraidrocannabinolo (THC); l'interazione tra sistema cannabico ed oppioide; l'attività antiproliferativa di un cannabinoide naturale non psicoattivo, il cannabidiolo (CBD) verso linee di glioma umano.

I risultati più recenti relativi alle tre tematiche sono i seguenti:

1. L'inibizione sia farmacologica che genetica della via Ras/ERK previene lo sviluppo della tolleranza all'effetto ipomotorio del THC e la comparsa degli eventi adattativi ad esso correlati (downregolazione recettoriale e desensitizzazione) in specifiche aree del sistema nervoso centrale. Questi risultati avvalorano la recente ipotesi che considera la tossicodipendenza come un fenomeno di plasticità sinaptica.
2. Il THC e la morfina sviluppano una interazione funzionale per quanto riguarda l'effetto analgesico e in particolare si assiste ad una sensitizzazione dell'effetto analgesico dei cannabinoidi in ratti resi tolleranti all'effetto analgesico della morfina. Tale fenomeno non è legato ad alterazioni dei rispettivi recettori, ma a reciproca interazione a livello del cammino del cAMP. Queste evidenze sperimentali

potrebbero essere la base per lo sviluppo di nuove strategie nella terapia del dolore.

Il CBD induce una significativa riduzione della crescita di cellule di glioma umano U87 e U373 sia in vivo che in vitro. L'effetto antiproliferativo del CBD risulta essere tumore selettivo, in quanto anche ad alte concentrazioni induce solo un limitato effetto citotossico in colture primarie di astrociti. L'effetto del CBD sulle linee tumorali si esplica tramite induzione di apoptosi indipendente dall'attivazione dei recettori dei cannabinoidi, ma al contrario dipendente dall'induzione di stress ossidativo. Infine, il CBD inibisce in maniera concentrazione-dipendente la migrazione delle cellule di glioma, processo alla base dell'evento metastatico. L'insieme di queste evidenze suggerisce il possibile utilizzo del cannabinoide naturale non psicoattivo CBD come farmaco utile nel controllo della crescita neoplastica.

25. RILASSOMETRIA A CICLO DI CAMPO: APPLICAZIONI NELLO STUDIO DI PROTEINE

Gabriella Fanali, Cristina Agrati, Mauro Fasano
Biochimica

La rilassometria a ciclo di campo è una tecnica NMR (risonanza magnetica nucleare) che permette di misurare la dipendenza dal campo magnetico applicato della velocità di rilassamento. Siccome questa dipende dalla frequenza dei moti presenti nel sistema, la tecnica permette di ottenere informazioni dinamiche.

Verranno presentati alcuni risultati ottenuti su diversi sistemi:

A) la rodanasi è un enzima coinvolto nel mantenimento dei centri ferro-zolfo, che catalizza il trasferimento dello zolfo esterno dal tiosolfato al cianuro. Siccome i contatti tra le subunità dell'enzima sono rigidamente mantenuti durante il ciclo catalitico, eventuali differenze tra i due stati dell'enzima devono riguardare aspetti dinamici.

B) la lattoferrina è una proteina della famiglia delle transferrine. Essa lega stabilmente uno ione Fe(III) che viene rilasciato soltanto a pH molto acido. La diversa acidità a cui avviene il rilascio del ferro differenzia le proteine della famiglia ed è dovuto non all'intorno di coordinazione, ma ad una rete di legami idrogeno tra gruppi polari nelle vicinanze. Il confronto tra dati strutturali (statici) ed informazioni dinamiche ha permesso di assegnare un ruolo alle molecole d'acqua vicine al sito di legame.

C) la sieralbumina è la principale proteina di trasporto plasmatica, responsabile del legame di acidi grassi, ormoni, farmaci e xenobiotici. La proteina lega con alta affinità il gruppo eme in un sito specifico. Questo ligando conferisce alla proteina particolari proprietà spettroscopiche che possono venire esaltate usando l'analogo complesso di Mn(III). Le informazioni rilassometriche vengono così limitate ad una sfera di 5-6 Å attorno alla sonda spettroscopica.

26. FIELD CYCLING ¹H NMR RELAXOMETRY OF BOVINE LACTOFERRIN

M. Fasano, G. Fanali, F. Polticelli, P. Ascenzi, G. Antonimi
Biochimica

Lactoferrin is a mammalian iron binding protein present in external secretions, such as breast milk, tears, saliva and vaginal secretion, and in polymorphonuclear leukocytes.

Lactoferrin acts as an anti-infective agent towards pathogenic bacteria, fungi and protozoa and it has an important role as modulator of the inflammatory response.

Lactoferrin is folded in two lobes that show sequence analogy with each other and can bind one ferric ion. Ferric ions are far from each other and magnetically non-interacting. The ligands for the Fe(III) ion are the same in both lobes. These ligands include two tyrosine residues, one aspartic acid and one histidine, together with two oxygen atoms from a bridged HCO_3^- .

This set of ligands provides an ideal coordination scheme for stable and reversible iron binding.

The paramagnetic contribution to the NMR rate of solvent water protons is useful for a better characterization of the molecular environment of the Fe(III) binding site and of its dynamic.

Like transferrin, NMRD profiles of lactoferrin are characterized by a rather complex functional form. This is in part due to the rather anisotropic spin Hamiltonian of the Fe(III) ions in the coordination scheme of lactoferrin that makes it impossible to obtain a quantitative analysis of the profiles in terms of a feasible physical model. Moreover, temperature dependence data suggest that an important contribution to the overall paramagnetic contribution to the solvent water relaxation rate arises from one or more water molecules in slow exchange with the bulk. An invariant t_c value of 1.28 ± 0.05 ns is obtained, whereas the temperature dependence of the profiles can be accounted for by a decreasing value of the exchange rate, ranging from 1.2 to 0.7 ms in the observed temperature range. This is clearly indicating that a slow-exchange process is taking place, with an activation enthalpy of 7.3 ± 0.8 kJ mol⁻¹.

Relaxivity values are consistent with a water molecule either with hydrogen atoms at an average distance of 3.3 Å or with a single hydrogen atom at 3.1 Å. By looking at the X-ray structure of Lf (PDB ID code: 1BLF) we can locate a water molecule at 3.95 Å from each Fe(III) labeled W1. This water molecule is bound to several polar groups of the protein backbone and side chains, therefore it is reasonable that its exchange rate suffers of the many hydrogen bonds it is establishing. Moreover, a second water molecule (W2) is present at 4.27 Å from the paramagnetic centre.

27. MYRISTIC ACID INTERACTION WITH Mn(III)HEME HUMAN SERUM ALBUMIN – ¹H AND ¹⁷O NMR CHARACTERIZATION

Gabriella Fanali, Cristina Agrati, Paolo Ascenzi, Mauro Fasano
Biochimica

Human serum albumin (HSA) is the most prominent protein in plasma (its concentration being 45 mg/mL in the serum of human adults) but it is also found in tissues and secretions throughout the body. It is best known for its exceptional ligand binding capacity. It is able to bind a broad variety of ligands as amino acids, hormones, metal ions and bilirubin. The protein has a high affinity for heme and it is responsible for the transport of medium and long chain fatty acids.

The heme-HSA complex is obtained by binding of Mn(III)heme to HSA. Mn(III)heme binding to HSA endows the protein with peculiar spectroscopic properties and it is used as spectroscopic probe to follow a number of events involving the conformation of the protein. The paramagnetic effect of the buried water cluster has been used to follow conformational changes of defatted Mn(III)heme-HSA and ternary Mn(III)heme-HSA-myristate complexes.

Results obtained here show a different contribution to relaxivity depending on the conformational state of the protein and on the occupancy of the myristic acid binding sites. The relaxivity change is more significant between pH 5.5 and 8, where HSA is in its native form (N). This is in part due to the increase of myristic acid molar ratio that makes easier water accessibility to paramagnetic centre, Mn(III)heme. It is clear that without myristic acid water access to paramagnetic centre is either not allowed, or it occurs on a timescale faster than the molecular correlation time of the protein.

By observing the linewidth change of ^{17}O NMR resonance vs. myristate concentration, it appears that the number of water molecules coordinated to the Mn(III) center changes from one to two. This finding is consistent with the change of the functional form of the NMRD profile.

In the range of pH between 8.3 and 11.9, corresponding to the HSA basic form (B), the contribution to relaxivity of Mn(III)heme-HSA fatty acid complexes and ternary Mn(III)heme-HSA-myristate complex does not change significantly from defatted Mn(III)heme-HSA. Therefore, we can assume that myristate binding does not affect the B form of HSA.

28. ^1H NMR RELAXOMETRIC CHARACTERIZATION OF THE INTERACTION OF MANGANESE PORPHYRINS WITH HUMAN SERUM ALBUMIN

G. Fanali, C. Agrati, E. Caruso, S. Banfi, M. Fasano
Biochimica

In recent years there has been a growing interest in the use of porphyrins and related compounds as therapeutic drugs. They are applied in medicine on important areas as cancer detection and as photosensitizer in photodynamic therapy of cancer, because these compounds have a tendency to be selectively retained in malignant tumors in comparison with normal tissues. Interactions with macromolecules control the efficacy and biodistribution of porphyrins, which are known to locate preferentially in the cytoplasm and bind poorly to cell membranes. Human serum albumin (HSA), the most prominent protein in plasma, is best known for its exceptional ligand binding capacity. HSA abundance (its concentration being 45 mg/mL in the serum of human adults) makes it an important determinant of binding of a broad variety of ligands as aminoacids, hormones, metal ions and it is responsible for the transport of heme, bilirubin, medium and long chain fatty acids. The interaction of these molecules with proteins is very important to formulate safe drugs and effective dosages.

Results obtained here show a remarkable interaction of Mn-porphyrins with HSA, with dissociation constants under the micromolar limit. Analysis of the nuclear magnetic relaxation dispersion profiles, as well as of the pH dependence of the observed relaxivity indicate that the interaction should take place in a binding site other than the canonical heme site.

Moreover, NMRD data are consistent with different locations of the binding sites of the three Mn-porphyrins and with different coordination of the metal ion.

29. A proteomic analysis of cell death mechanisms in Parkinson's disease

Monica Colapinto, Sabrina Giraud, Monica Molteni, Carlo Rossetti, Bruno Bergamasco, Leonardo Lopiano, Mauro Fasano
Biochimica

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disorder after Alzheimer's disease, with a prevalence of 2-3% among people over the age of 65 years. The characteristic motor symptoms are associated with the depletion of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta and a consequent loss of dopamine in the striatum. PD is mainly sporadic, although the recent identification of mutations in familial forms has allowed to draw some etiopathogenetic hypotheses. In particular, two point mutations in the alpha-synuclein gene have highlighted the relevance of this protein. Expression of either wild-type or mutant protein in different cell lines has demonstrated that alpha-synuclein toxicity is dopamine-dependent and has been associated to reactive oxygen species arising from dopamine oxidation. The presence of dopamine (and of all the enzyme machinery necessary for dopamine synthesis, release and degradation), of neuromelanin, and of iron ions bound to it makes nigral neurons selectively susceptible of oxidative stress.

By performing a two-dimensional electrophoretic (2DE) separation of proteins extracted from ex vivo substantia nigra specimens from controls and PD patients, 41 proteins have been identified by peptide mass fingerprinting and their expression levels have been compared. Among them, nine proteins show differential expression in PD patients.

Later on, we have considered the effect of dopamine and of pro- and anti-oxidant factors on viability of a dopaminergic cell line (SH-SY5Y human neuroblastoma). Cell death is reduced by 75% in the presence of catalase that removes hydrogen peroxide formed by spontaneous dopamine oxidation, and appears to be dose-dependent. Cu(II) ions appear to be a moderate determinant of reactive oxygen species, whereas the simultaneous presence of Cu(II) and glutathione leads to the occurrence of Cu(I)-catalysed Haber-Weiss cycle with a consequent decrease of cell viability. Increased expression of wild-type alpha-synuclein has a cytoprotective effect. Transfected cells are more resistant to oxidative insults, whereas cells transfected with a control vector are not. Cell viability results are accompanied by changes in the expression levels of proteins involved in the homeostasis of reactive oxygen species, or recovery from cell stress conditions.

Sezione di Fisiologia e Biofisica

30. CONDUTTANZE ATTIVE DI CLORO ED ECCITABILITA' NEURONALE

Riccardo Fesce, Francesca Di Febo, Oscar Sacchi(*)

Neurofisiologia e (*) Dipart. Biologia – Università Ferrara

I flussi di cloro sono considerati importanti per il controllo del volume cellulare, ma nei neuroni contribuiscono anche alla definizione del potenziale di riposo. Si ritiene comunemente che le conduttanze operanti a riposo siano passive (non sensibili al potenziale di membrana).

In neuroni ortosimpatici del ganglio cervicale superiore del ratto abbiamo identificato e caratterizzato una conduttanza di cloro, attiva e ampiamente regolata dal potenziale di membrana anche a livelli più negativi di -50 mV, che contribuisce a determinare il potenziale di membrana stesso e il grado di eccitabilità del neurone (corrente necessaria per produrre un potenziale d'azione).

Tale attività ionica non è stata descritta prima, per ragioni metodologiche. L'abbiamo identificata nel ganglio integro in vitro grazie all'impiego del voltage-clamp a due elettrodi, che si esegue su preparati integri, non richiede trattamenti enzimatici della superficie cellulare e non interferisce con la composizione ionica intracellulare.

La conduttanza cloro è marcatamente sensibile alla attivazione del neurone, sia diretta che per via sinaptica: a seguito di attivazione aumenta l'ampiezza e la voltaggio-

dipendenza. Essa costituisce pertanto un meccanismo di controllo della eccitabilità del neurone, modulato sia dalla condizione bioelettrica momentanea che dalla storia funzionale passata.

Date queste caratteristiche di plasticità, abbiamo investigato le possibili alterazioni della conduttanza cloro a seguito di deprivazione prolungata dell'input sinaptico al neurone simpatico: in gangli denervati la voltaggio-dipendenza della corrente si riduce gradualmente, mentre aumenta la sua ampiezza. Dopo trenta giorni di denervazione la conduttanza cloro è alta, poco sensibile a potenziale e stimolazione: il neurone deprivato a lungo del suo input sinaptico appare dunque ristabilire una condizione bioelettrica fisiologica, simile a quella del neurone intatto intensamente stimolato.

Stiamo ora studiando la eventuale presenza della conduttanza cloro in neuroni gangliari isolati e messi in coltura, per verificare se questo ruolo del cloro possa essere studiato anche in preparati più semplici.

31. MODULAZIONE DI CORRENTI DI CALCIO IN NEURONI PRIMARI: UN MODELLO DI STUDIO DEL CROSS-TALK TRA OPIOIDI E CANNABINOIDI

Rossana Pisani, Antonio Peres, Riccardo Fesce
Fisiologia Cellulare e Molecolare – Neurofisiologia

Il recettore cannabico CB1 è prevalentemente espresso a livello di SNC e la sua attivazione è responsabile della maggior parte degli effetti conseguenti alla assunzione dei cannabinoidi. La somministrazione cronica di cannabinoidi da soli o con altri farmaci – quali ad esempio gli oppioidi – produce effetti molteplici e complessi, e non è chiaro se le interferenze siano dovute a proprietà cellulari o della rete neurale.

Poiché uno dei bersagli cellulari del recettore cannabico CB1 è il canale del calcio, abbiamo studiato l'attività, la cinetica e la modulazione dei canali al calcio voltaggio dipendenti da parte dell'agonista (CP 55940 100 nM) e dell'antagonista (SR 141716A) del recettore cannabico CB1 in neuroni primari, al fine di identificare le caratteristiche cellulari alla base degli effetti dei cannabinoidi e la possibile interferenza con altri sistemi recettoriali.

Le correnti di calcio voltaggio dipendenti sono inibite in seguito alla perfusione di CP 55940; tale effetto viene abolito e invertito in seguito a pre-trattamento con la tossina della pertosse per 17-18 ore.

Si riscontrano alcune diversità nei neuroni derivati dall'ippocampo piuttosto che dalla corteccia. L'antagonista SR 141716A, in particolare, produce effetti complessi e diversi in neuroni ippocampo e corticali.

Questi dati confermano l'idea che l'effetto dell'agonista non sia diretto sul canale ma implichi processi di trasduzione cellulare.

Poiché il quadro è decisamente complesso stiamo eseguendo ulteriori esperimenti in patch perforato, condizione nella quale vi è meno interferenza con i possibili pathway di trasduzione recettoriale.

32. UN MODO SEMPLICE PER RIPULIRE LA SINAPSI. IL FUNZIONAMENTO DI GAT1, TRASPORTATORE DI GABA

Andrea Soragna, Rossana Pisani, Stefano Giovannardi, Elena Bossi, Riccardo Fesce e Antonio Peres
Laboratorio di Fisiologia Cellulare e Molecolare

Il cotrasportatore di GABA, GAT1, primo trasportatore di neurotrasmettitori ad essere clonato, ricapta l'acido g-aminobutirrico dallo spazio intersinaptico, regolando in tal modo il decorso spazio-temporale della trasmissione sinaptica, e consentendo il riciclo del neurotrasmettitore. L'utilizzo di sistemi di espressione eterologa, come gli oociti di *Xenopus laevis* permette di acquisire informazioni precise sulle proprietà biofisiche del trasporto. Le prime caratterizzazioni elettrofisiologiche hanno mostrato come GAT1 dia luogo principalmente a due tipi di correnti: una corrente accoppiata alla traslocazione del substrato ed una corrente di stato pre-stazionario, dovuta al movimento di carica intramembrana, indicazione dell'interazione con gli ioni sodio. Dall'analisi delle correnti è possibile ottenere dati quali il numero di trasportatori, le costanti unidirezionali del movimento di carica, le affinità apparenti per il Na^+ e per il GABA e la turnover rate. Tutti questi parametri hanno consentito di elaborare diversi modelli cinetici di funzionamento. In particolare il nostro gruppo ha recentemente proposto un semplice modello cinetico per spiegare il funzionamento di GAT1 (Fesce *et al.*, *J.Physiol.* (2002) 545:739-750; Peres *et al.*, *NIPS* (2004) 19:80-84). I dati sperimentali indicano l'esistenza di una semplice relazione che lega la corrente associata al trasporto alla corrente di stato pre-stazionario: a concentrazioni saturanti di GABA, la corrente trasporto-accoppiata (I_{tr}) è data dal prodotto tra la quantità di carica in una posizione interna del trasportatore (Q_{in}) e la velocità di equilibratura delle cariche (r). Questa relazione è stata testata in diverse condizioni che alterano le caratteristiche biofisiche di GAT1 ed in tutti i casi il modello riesce a riprodurre i dati sperimentali. La soluzione analitica del semplice modello proposto prevede inoltre l'esistenza di relazioni cinetiche che correlano la velocità di equilibratura delle cariche con le affinità per il sodio e per il GABA. Anche queste relazioni sono convalidate dai dati sperimentali e pongono le basi cinetiche del funzionamento di GAT1 indicando che un efficiente ricaptazione richiede un compromesso tra la turnover rate e le affinità per i substrati.

33. RELAZIONE TRA LA VELOCITA' DI EQUILIBRAZIONE DELLE CARICHE E L'AFFINITA' PER I SUBSTRATI NEL TRASPORTATORE NEURONALE DI GABA rGAT1

Andrea Soragna, Rossana Pisani, Stefano Giovannardi, Elena Bossi, Riccardo Fesce e Antonio Peres
Laboratorio di Fisiologia Cellulare e Molecolare

L'efficienza del trasporto di neurotrasmettitore in relazione alla velocità di equilibratura delle cariche e all'affinità apparente per il GABA e per il sodio è stata studiata usando un approccio elettrofisiologico in oociti di *Xenopus laevis* esprimenti rGAT1. Abbiamo misurato l'ampiezza delle correnti transmembrana indotte dalla presenza di GABA, l'affinità apparente per il sodio e per il GABA, e le proprietà dell'equilibratura delle cariche in assenza del neurotrasmettitore, in varie condizioni fisiologiche e non note per influenzare questi parametri. Sono stati esaminati gli effetti di alcune mutazioni e di alcuni agenti farmacologici. In tutti i casi, tra le proprietà misurate, sono state trovate correlazioni significative che possono essere così riassunte: i) la posizione della curva della carica (Q) verso il potenziale (V), stimata come il potenziale a cui la carica è metà del valore massimo ($V_{1/2}$), è positivamente correlata con l'affinità apparente per il sodio; ii) l'affinità apparente per il sodio appare essere direttamente correlata al rapporto tra le costanti unidirezionali di equilibratura della carica (a/b , a in uscita e b in ingresso); iii) ad eccezione delle forme mutanti, la velocità di equilibratura delle cariche del trasportatore, stimata come ampiezza della corrente associata al trasporto diviso la massima quantità di

carica (Q_{max}), è positivamente correlata con la velocità di decadimento delle correnti di pre-steady-state; iv) l'affinità apparente per il GABA sembra essere inversamente proporzionale alla somma delle costanti unidirezionali (cioè alla velocità di euilibrato delle cariche totale). Questi risultati sono in accordo, almeno qualitativamente, con il modello cinetico proposto dal nostro gruppo (Fesce *et al.*, *J.Physiol.* (2002) 545:739-750; Peres *et al.*, *NIPS* (2004) 19:80-84). Considerate nel loro complesso, tutte queste osservazioni suggeriscono che, in rGAT1, elevate velocità di turnover del trasportatore portano ad una riduzione dell'affinità apparente per il GABA ed indicano che una ricaptazione efficiente richiede un compromesso tra questi due parametri.

34. **STRUCTURAL DOMAINS INVOLVED IN SUBSTRATE SELECTIVITY IN TWO NEUTRAL AMINO ACID TRANSPORTERS**

A. Soragna, S. Mari, R. Pisani, A. Peres, M. Castagna, V. F. Sacchi, E. Bossi
Fisiologia

The ability of the two highly homologous Na^+/Cl^- -dependent neutral amino acid transporters - KAAT1 and CAATCH1, cloned from the midgut epithelium of the larva *Manduca sexta* - to transport different amino acids depends on the cotransported ion, on pH and on the membrane voltage. Different organic substrates give rise to transport-associated currents with their own characteristics, which are notably distinct between the two proteins. Differences in amplitude, kinetics and voltage-dependence of the transport-associated currents have been observed, as well as different substrate selectivity patterns measured by radioactive amino acid uptake assays. These diversities represent useful tools to investigate the structural determinants and residues involved in the substrate selectivity. To identify these regions, initially four chimeric proteins between the two transporters were built. These proteins, heterologously expressed in *Xenopus laevis* oocytes, were analysed by two-electrode voltage clamp and uptake measurements. The first three domains were exchanged, obtaining the chimeras C3K9 and K3C9 (where the numbers indicate the transmembrane domains and the capital letters stay for the original proteins), which showed electrophysiological and [^3H]amino acids uptake characteristics resembling those of KAAT1 and CAATCH1 respectively. The subsequent substitution of the last four domains in C3K9 and K3C9 gave the proteins C3K5C4 and K3C5K4 that showed the same behaviour of KAAT1 and CAATCH1 in electrophysiological and transport determinations. These results suggest that in KAAT1 and CAATCH1 only the central transmembrane domains (from 4 to 8) of the protein are responsible of the substrate selectivity. Single point mutations in the central domain of KAAT1, with the corresponding amino acid in CAATCH1 were done. Four, G190N, E200Q, A298S, S370A showed the same behaviour of the original protein. The mutations D286Q, W288A and L416 F, L332 W did not change the substrate selectivity, but the substitutions of these amino acids increase (the first two) or decrease (the last two) the transport -associated current showing a role of these residues in interaction with ions and substrate. These primary data suggest residues to be mutated in combinations in order to further restrict the identification of the structural determinants of substrate specificity in these transporters.

35. **SUCCESSO ED INSUCCESSO NELLE INVASIONI BIOLOGICHE: MODELLI ANALITICI E NUMERICI**

M.I.Granero, A. Porati, A. Infantino, N.Chirico

Uno tra gli argomenti più dibattuti in ecologia prende in esame la relazione tra stabilità e complessità in un ecosistema. Studi teorici e sperimentali condotti su questo argomento hanno dato spesso (anche se non sempre) risposte contrastanti. Attraverso la costruzione di un modello matematico basato sulle equazioni differenziali di Lotka - Volterra Generalizzate (GLV), è stato analizzato l'effetto dell'immissione di una nuova specie, "top predator", in un ecosistema di partenza stabile. Il sistema di partenza, formato da due catene trofiche stabili separate, viene progressivamente complicato attraverso l'aggiunta di interazioni interspecifiche. Il passo successivo vede l'introduzione di un superpredatore nelle diverse configurazioni stabili precedentemente esaminate. La nuova specie introdotta è caratterizzata da parametri di interazioni estratti in modo "random" da distribuzioni uniformi. L'uso di programmi scritti in Matlab ha permesso di simulare il comportamento post-invasione di un numero elevato di sistemi e di valutarne la stabilità. Come ulteriore fattore di complessità è stato inserito un parametro, sempre riferito al predatore, che descrive il fenomeno del cannibalismo.

Lo studio effettuato con metodi analitici e numerici ha permesso di giungere alle seguenti conclusioni:

- La presenza di interazioni deboli aumenta la stabilità del sistema.
- Per mantenere la stabilità del sistema, il superpredatore introdotto deve mostrare un'attitudine alimentare spiccata verso una specie nativa, ed avere interazioni deboli con altre specie.

Il cannibalismo, inteso come espressione di un comportamento "density-dependent", risulta avere effetti stabilizzanti in un sistema complesso.

36. STUDIO COMPARATO DEI BATTERI VERDI: ALLA RICERCA DI MECCANISMI DI FOTOPROTEZIONE IN ANAEROBI FOTOSINTETICI FACOLTATIVI ED OBBLIGATI

Deborah Armiento, Carlo Cantara, Anna Giulia Cattaneo, Maurizio Citterio, Guido Domingo, Paolo Gerola, Leonardo Leonforte, Debora Maffezzoli, Valentina Putzu, Alberto Vianelli
Fotobioenergetica

La presenza, negli organismi fotosintetici, di meccanismi di protezione dai potenziali effetti distruttivi causati dalla contemporanea presenza di luce e ossigeno, è una generalizzazione che poggia ormai su solide basi sperimentali. Negli ultimi due decenni l'attenzione è stata in particolare rivolta ai fenomeni che vanno sotto il nome di "smorzamento non-fotochimico della fluorescenza" (NPQ), in cui l'energia di eccitazione in eccesso all'interno di un fotosistema viene dissipata in calore prima che possa portare, attraverso vari meccanismi, alla generazione di specie reattive di ossigeno (ROS). L'NPQ ed il suo ruolo nella fotoprotezione è oggetto di intensi studi negli eucarioti fotosintetici (alghe e piante verdi), assai meno nei procarioti fotosintetici. Ciò è in particolare vero per gli anaerobi stretti, per i quali si ritiene comunemente che l'esposizione all'O₂ sia un evento occasionale. Obiettivo degli studi in corso da alcuni anni in questo laboratorio è l'analisi dello smorzamento della fluorescenza in due specie rappresentative dei batteri verdi rispettivamente sulfurei e non-sulfurei, *Chlorobium tepidum* (fotoautotrofo anaerobio obbligato) e *Chloroflexus aurantiacus* (fotoautotrofo in anaerobiosi, fotoeterotrofo in anaerobiosi e semi-aerobiosi, oppure chemoorganotrofo in aerobiosi). Entrambe moderatamente termofile, posseggono lo stesso tipo di antenna (clorosomi) ma un diverso tipo di centro di reazione. Misure di assorbimento e di fluorescenza da noi condotte su

clorosomi isolati hanno evidenziato, in *Cf. aurantiacus* ma non in *Cb. tepidum*, un meccanismo efficiente di smorzamento dell'energia solo in condizioni ossidanti (la presenza di O₂ sembra necessaria e sufficiente). Misure di spettroscopia ottica e di Risonanza Elettronica di Spin (ESR) hanno mostrato che in entrambi i batteri condizioni ossidanti generano cationi di batterioclorofilla c e di carotenoidi, entrambi candidati per il ruolo di smorzatore non-fotochimico della fluorescenza. Anche sulla base di misure di Risonanza Magnetica Rivelata Otticamente (ODMR), proponiamo un modello di NPQ nei due batteri.

37. CARATTERIZZAZIONE DELLO SMORZAMENTO NON-FOTOCHIMICO DELLA FLUORESCENZA IN CLOROSOMI DI *CHLOROFLEXUS AURANTIACUS*

Deborah Armiento, Carlo Cantara, Maurizio Citterio, Guido Domingo, Paolo Gerola, Leonardo Leonforte, Valentina Putzu, Alberto Vianelli
Fotobioenergetica

Chloroflexus aurantiacus è un eubatterio filamentoso fotosintetico che vive in effluenti di sorgenti termali calde di natura alcalina. E' un organismo di origine filogenetica assai remota, come dimostrano anche la sua versatilità metabolica e la sua elevata resistenza alle radiazioni ultraviolette lontane (UV-C). In questo laboratorio da alcuni anni si studia l'apparato fotosintetico dei batteri verdi fra cui quello di *Chloroflexus aurantiacus*, in particolare l'efficienza di utilizzazione dell'energia luminosa al variare di diverse condizioni (luce, potenziale redox, anaerobiosi/aerobiosi). Nel presente lavoro viene descritta la purificazione e caratterizzazione dei "clorosomi" (apparato di raccolta della luce) mediante spettroscopia di assorbimento e di fluorescenza e SDS-PAGE. Sono stati analizzati tre diversi ceppi, OK-70-fl e Y-400-fl e J-10-fl, cresciuti in condizioni comparabili. Ciò al fine di proseguire gli studi avviati in questo laboratorio sul solo ceppo J-10-fl, nel quale è stato descritto uno smorzamento dell'emissione di fluorescenza (corrispondente a una maggiore dissipazione in calore) in seguito ad ossidazione chimica dei clorosomi (mediante aggiunta di ferricianuro di potassio). Verranno mostrati e discussi i seguenti risultati:

- a) clorosomi isolati dai tre ceppi mostrano una eguale sensibilità all'ossidazione chimica (misurata come variazione di assorbimento e di fluorescenza); vengono presentate evidenze che suggeriscono come la presenza di O₂ durante la crescita possa aumentare tale sensibilità;
- b) per i clorosomi isolati dal ceppo OK-70-fl, la presenza di O₂ è condizione necessaria e sufficiente per provocare lo smorzamento della fluorescenza;
- c) analisi spettroscopiche accurate, insieme al profilo polipeptidico ottenuto mediante SDS-PAGE, indicano che nei campioni di "clorosomi" normalmente utilizzati nel laboratorio è probabilmente sempre presente una certa quantità di membrana plasmatica, quindi di centri di reazione, che potrebbe influenzare l'entità dello smorzamento.

Sulla base di tali osservazioni avanziamo un'ipotesi di lavoro in cui vengono rivisti alcuni aspetti del modello precedentemente proposto sull'origine dello smorzamento di fluorescenza indotto in condizioni ossidanti.

38. Riproduzione sessuale nelle angiosperme

Cristina Pisoni, Luigi Mazzagatti, Stefania Caprioli, Paolo Gerola
Botanica

Due sono le linee di ricerca condotte nel nostro laboratorio: la riproduzione sessuale nelle angiosperme (A) e la presenza della melatonina nei vegetali (B).

A)

Lo studio della riproduzione sessuale ha sempre suscitato ampi interessi sia dal punto di vista scientifico che applicativo, anche nell'analisi delle interazioni fra organismi. Infatti, lo sporofito (il pistillo) può essere paragonato all'ospite e il gametofito maschile (il tubetto pollinico) al simbiote, mutualista o patogeno a seconda del tipo di incrocio considerato. La crescita del tubetto pollinico dallo stigma fino all'ovulo è regolata da complesse interazioni fra i tubetti pollinici e il pistillo.

Interessanti risultati sono stati ottenuti nel nostro laboratorio analizzando e comparando le cinetiche di crescita dei tubetti pollinici in incroci inter- and intra- specifici in *N. tabacum*. Analizzando le interazioni fra i tubetti pollinici, si è inoltre scoperta la presenza di un inibitore della β -glucuronidasi (GUS). Studi sono in corso per caratterizzare e purificare tale inibitore e l'interesse per questi studi è stimolato anche dal fatto che *GUS* è utilizzato come gene reporter nelle piante e la presenza di un inibitore infirmerebbe le conclusioni tratte sulla base dell'evidenziamento istochimico dell'attività GUS.

B)

La melatonina (N-acetil-5-metossi-triptamina) è stata inizialmente scoperta come molecola antiossidante e neuro-immuno-modulatore, principale prodotto della ghiandola pineale nei vertebrati.

La presenza della melatonina, con funzione antiossidante, è stata tuttavia osservata in tutti gli organismi successivamente esaminati, sia procarioti che eucarioti. Pochi lavori sono stati effettuati nelle piante e si sono utilizzate tecniche non adeguate per l'estrazione e dosaggio di tale molecola. In collaborazione col prof. Banfi si è quindi studiata la messa a punto di un metodo di dosaggio della melatonina nelle piante e, in un progetto finalizzato all'allestimento di preparati di origine vegetale per uso dermico o sistemico, si sta analizzando il contenuto di melatonina in alcune specie vegetali.

39. ANALYSIS OF POLLEN TUBES GROWTH KINETICS IN INTRA – AND INTER – SPECIFIC CROSSES.

Cristina Pisoni, Marco Vallini, Paolo Gerola
Biologia Vegetale

Plant sexual reproduction is a highly regulated process. In *Solanaceae*, as in most of Angiosperms, pollen tube growth takes place in the intercellular matrix (IM) of the stylar transmitting tissue (TT) and the interactions between TT cells and pollen tubes are mediated by IM components, which play roles in nutrition, guidance and growth regulation of pollen tube through the pistil. The rate of pollen tubes growth in the style are one of the elements responsible for pollen tubes selection.

In this work we compare the kinetics of pollen tubes growth in interspecific and intraspecific crosses in the genus *Nicotiana*, characterized by the presence of self-incompatible (SI) and self compatible (SC) species. While intraspecific crosses could be studied in both SI (*N.alata*) and SC (*N.tabacum* and *N.plumbaginifolia*) species, the interspecific crosses, because of unilateral incongruity, could be investigated only in SC pistils.

All the kinetics which have been examined show two phases of linear growth, separated by a lag period. The level of the style where the pollen tubes enter the lag phase is pistils specific and is independent from the pollen which is used. This temporary stop in pollen

tubes growth might be associated to changes in the physiological stage of pollen tubes and/or to the selective role of the style.

Concerning the rate of pollen tubes growth, it is the same in *N. tabacum* and *N. plumbaginifolia* pistils, in intraspecific and interspecific crosses and no significant difference is observable before and after the lag period. A different situation has been instead observed in *N. alata*, where, during the first phase, the growth rate of pollen tubes is similar to that measured in SC pistils, but it doubles after the lag period.

These observations might indicate that the stylar TT represent an environment limiting the rate of pollen tube growth and the change in the growth rate of pollen tubes observed in *N. alata* might be in relation to the SI characteristic of such species.

40. STUDIES ON A β -GLUCURONIDASE PRESENT IN *NICOTIANA* STYLES

Cristina Pisoni, Marco Vallini, Michele Todeschini, Paolo Gerola
Biologia vegetale

The *E. coli* β -glucuronidase (*GUS*) gene has been widely used as a sensitive and versatile reporter gene to investigate the spatial, temporal and tissue specificity of a variety of plant genes promoters (Jefferson, 1987). It catalyses the cleavage of a wide variety of commercially available β -glucuronides. 5-Bromo, 4-Chloro-3-Indolyl β -D-glucuronide (X-Glu) is the most widely used substrate in studies based on histochemical detection of *GUS* activity and a blue precipitate is formed as the reaction product.

When specific promoters have been histochemically investigated in pistils of plants transformed with gene promoter - *GUS* constructs, it has often been observed, especially in *Nicotiana*, a disomogeneous distribution of the histochemical reaction product, which was observable in the stigma and in the ovary but not in the whole style (Devoto *et al.*, 1997, Gerola *et al.*, 2000; Hong *et al.*, 2000; Grbic, 2002). It has always been proposed that the failure in histochemical *GUS* activity detection was due to the inactivation of the *GUS*-associated promoters.

However, by using different techniques (western blot, *GUS* detection on native PAGE and *in vitro* measurements of enzymatic activity), our group has recently demonstrated that this phenomenon is due to *in vivo* inhibition of *GUS* activity and it is not related to promoter inactivation (Pilotto *et al.*, 2002).

This work summarizes our preliminary results on *GUS*-inhibitor characterization.

Sezione di Biologia e Patologia Molecolare

41. MECCANISMI MOLECOLARI IMPLICATI NEL BLOCCO DEL DIFFERENZIAMENTO MEDIATO DALL'ONCOPROTEINA PML-RAR

Francesca Saracino, Barbara Conca, Laura Diani, Fabrizio Bolognese, Charlotte Kilstrup-Nielsen, Gianfranco Badaracco, Nicoletta Landsberger
Biologia Molecolare

Il rimodellamento locale della cromatina e i cambiamenti dinamici dell'impaccamento dei nucleosomi sono prerequisiti essenziali per la regolazione della trascrizione con conseguenti ripercussioni sulle funzioni cellulari, il differenziamento e la proliferazione. Una non corretta struttura della cromatina può essere determinata da mutazioni delle proteine coinvolte nel suo rimodellamento e portare ad una espressione genica errata ed al cancro. Il paradigma di questo tipo di processo neoplastico è fornito dalla leucemia promielocitica acuta (APL), una delle più comuni forme di leucemia mieloide acuta. Come conseguenza di traslocazioni cromosomiche che coinvolgono il locus genico codificante per RAR α , le cellule APL esprimono delle forme chimeriche del fattore trascrizionale corrispondente. Nella grande maggioranza dei casi studiati, RAR è stato trovato fuso al locus PML e l'espressione della proteina di fusione risultante, PML-RAR, è direttamente correlata con la trasformazione neoplastica. Recenti risultati hanno dimostrato che un anomalo reclutamento di proteine capaci di deacetilare gli istoni è essenziale per le proprietà trasformanti di PML-RAR, suggerendo come l'alterazione della struttura cromatinica sia un importante meccanismo patogenetico. D'altro canto altri meccanismi molecolari, ancora indefiniti, partecipano alle capacità trasformanti di PML-RAR.

L'attività di ricerca da noi svolta si interessa di meglio caratterizzare le proprietà trascrizionali e strutturali di PML-RAR. In questo contesto, recenti dati ottenuti in laboratorio hanno permesso di dimostrare che PML-RAR, oltre all'anomala capacità di reclutare complessi ad attività iston-deacetilasi, ha acquisito ulteriori capacità repressive, ancora indefinite dal punto di vista molecolare, e perso importanti funzioni attivatorie. Attualmente, la nostra attività di ricerca è focalizzata ad identificare i meccanismi molecolari che differenziano la proteina chimerica dalla sua controparte selvatica.

Crediamo che una migliore definizione delle nuove proprietà trascrizionali e di rimodellamento della cromatina della proteina PML-RAR possa contribuire in modo determinante alla comprensione della patogenesi della leucemia promielocitica acuta ed aprire la strada a nuove possibilità terapeutiche.

42. MODIFICAZIONI DELLA STRUTTURA DELLA CROMATINA INDOTTE DALLA PROTEINA ONCOGENICA PML-RAR

Francesca Saracino, Barbara Conca, Laura Diani, Fabrizio Bolognese, Gianfranco Badaracco, Nicoletta Landsberger
Biologia molecolare

La recente comprensione del fatto che la struttura della cromatina è compromessa in molte forme tumorali ha portato lo studio della cromatina all'avanguardia della ricerca sul cancro. Il paradigma di questo tipo di processo tumorigenico è l'abilità della proteina

oncogenica di fusione PML-RAR, responsabile della leucemia promielocitica acuta (APL), di alterare le normali funzioni del recettore dell'acido retinoico RAR α . Si pensa che, nell'APL, PML-RAR funzioni come un repressore trascrizionale costitutivo, attraverso l'associazione con un complesso corepressore/deacetilasi. PML-RAR interagisce fortemente con questo complesso in assenza o con fisiologiche concentrazioni di acido retinoico e solo dosi farmacologiche di ligando ne permettono il rilascio. In accordo con questo modello, la somministrazione di acido retinoico induce la remissione della malattia. Anche se è stato suggerito che l'alterazione della cromatina è importante per l'insorgenza dell'APL, l'effetto di PML-RAR sulla cromatina dei promotori bersaglio non è stato investigato. Il sistema degli oociti di *Xenopus* è particolarmente adatto per questo tipo di studi, perché sono stati sviluppati approcci *in vivo* molto potenti per ricostituire l'assemblaggio della cromatina e studiare la sua struttura. Inoltre, al contrario delle cellule di mammifero, gli oociti non contengono livelli rilevabili di recettori endogeni, permettendo quindi una valutazione non ambigua delle proprietà dei principali regolatori dell'APL. Usando il sistema degli oociti di *Xenopus* e il promotore bersaglio RAR β 2, abbiamo compiuto un'analisi comparativa del fattore trascrizionale selvatico RAR α e della proteina oncogenica PML-RAR, sia come regolatori trascrizionali che come modificatori della cromatina, giungendo a stabilire nuove interessanti proprietà della proteina oncogenica. L'obiettivo generale del progetto consiste in una migliore caratterizzazione degli effetti che PML-RAR determina sui complessi nucleoproteici assemblati sul promotore RAR β 2, anche analizzando il contributo degli elementi *in cis* presenti sul promotore.

43. IDENTIFICAZIONE DI NUOVE PROTEINE CHE, REGOLANDO L'ATTIVITA DI MECP2, POSSONO ESSERE COINVOLTE NELL'INSORGENZA DELLA SINDROME DI RETT

Sara Azimonti, Anna Bergo, Ilaria Bertani, Fabrizio Bolognese, Francesca Bosaia, Simone Cassetti, Gianfranco Badaracco, Nicoletta Landsberger, Charlotte Kilstrup-Nielsen.
Laboratorio di Biologia Molecolare

La sindrome di Rett (SR) è una malattia neurologica che colpisce quasi esclusivamente le femmine, con un'incidenza di 1 individuo ogni 10000-15000 nascite. Dopo uno sviluppo normale per i primi 6-18 mesi, segue un periodo di regressione e le bambine afflitte manifestano perdita del linguaggio, della coordinazione dei movimenti ed un drammatico ritardo mentale.

La methyl-CpG-binding-protein, MeCP2, è stata identificata come la causa molecolare della SR segnando il primo collegamento tra metilazione del DNA ed una malattia genetica umana. Altre malattie hanno confermato come la metilazione del DNA sia di fondamentale importanza per un corretto funzionamento del sistema nervoso centrale.

MeCP2 è un repressore trascrizionale, ubiquitariamente espresso, capace di legare il DNA metilato tramite un "methyl-binding domain"; l'inibizione trascrizionale richiede un dominio di repressione che recluta un complesso multiproteico capace di portare alla formazione di una struttura cromatinica particolarmente repressiva. E' d'altro canto noto che altri meccanismi molecolari, ancora indefiniti, contribuiscono all'inibizione trascrizionale. Inoltre, non è ancora chiaro per quale motivo mutazioni in questo gene causino la SR né se altri geni possano causare questa malattia o influenzarne la gravità.

Se inizialmente si pensava che tale patologia fosse dovuta ad un generale deregolazione dell'espressione genica, recenti evidenze fanno ipotizzare che, al contrario, la patologia sia dovuta ad errori nel silenziamento di specifici geni coinvolti nella plasticità neuronale.

Lo scopo della ricerca da noi svolta è quello di meglio definire i meccanismi molecolari mediante i quali MeCP2 reprime la trascrizione e di isolare altri fattori coinvolti nella formazione della cromatina repressiva o capaci di regolare l'attività di MeCP2. In questa comunicazione descriveremo le attuali conoscenze sul ruolo di MeCP2 nella Sindrome di Rett e gli approcci da noi utilizzati nel tentativo di isolare altri loci coinvolti nella patologia. Verranno brevemente riassunti alcuni dei più importanti risultati.

44. IDENTIFICAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI NUOVI INTERATTORI DI MeCP2, UN FATTORE CHIAVE NELL'INSORGENZA DELLA SINDROME DI RETT

Ilaria Bertani, Anna Bergo, Sara Azimonti, Marta Armiraglio, Francesca Bosaia, Gianfranco Badaracco, Charlotte Kilstrup-Nielsen
Biologia Molecolare

La sindrome di Rett è una forma di ritardo mentale che colpisce prevalentemente il sesso femminile con un'incidenza di 1/10-15,000 neonate. Nei primi 6-18 mesi è presente uno sviluppo apparentemente normale, successivamente si manifestano i primi sintomi, quali microcefalia, perdita dell'uso delle mani, autismo, perdita della comunicazione, atassia e crisi convulsive.

Il decorso della malattia è eterogeneo e sono state descritte forme varianti della stessa.

Nel 1999 il gene MeCP2 (methyl CpG binding protein 2), mappato sul cromosoma X, è stato identificato come causa molecolare della malattia.

MeCP2 codifica per una proteina nucleare ubiquitariamente espressa in grado di legare specificatamente il DNA metilato attraverso il dominio di legame MBD e reclutare, tramite il dominio di repressione trascrizionale TRD, un complesso di silenziamento genico. Il modello più accreditato sulla sua funzione biologica ipotizza che MeCP2 funzioni come repressore globale dell'espressione genica.

Topi KO per MeCP2 presentano un fenotipo neuronale simile alla RTT, pur mostrando modificazioni minime nell'espressione genica.

Pubblicazioni recenti hanno dimostrato che Mecp2 è importante per il differenziamento, lo sviluppo assonale e la plasticità neuronale. Inoltre MeCP2 lega selettivamente i promotori di Hairy2a e BDNF, confermando un suo ruolo nella regolazione dinamica di geni neuronali.

Il nostro interesse si è focalizzato sulla ricerca di possibili interattori di MeCP2 che, intervenendo nella stessa via regolatrice, possono essere coinvolti nella malattia.

Abbiamo quindi messo a punto uno screening two-hybrid utilizzando una libreria a cDNA embrionale di topo contro diversi domini di MeCP2.

In questa comunicazione confermeremo, attraverso saggi biochimici, l'interazione tra MeCP2 e i cloni ottenuti dallo screening e caratterizzati molecularmente. Inoltre mostreremo esperimenti preliminari utili per capire il ruolo funzionale di queste interazioni

45. LA NUOVA PROTEINA p20 DI XENOPUS INFLUENZA LA STABILITA' DI MeCP2, TRAMITE INTERAZIONE DIRETTA

Anna Bergo, Stella Carro, Mauro Mengoni, Angela Bachi, Gianfranco Badaracco, Charlotte Kilstrup-Nielsen, Nicoletta Landsberger
Biologia Molecolare

La sindrome di Rett (RTT), una malattia neurologica progressiva, è una delle cause più comuni di ritardo mentale nella popolazione femminile. I pazienti hanno uno sviluppo apparentemente normale fino ai 6-18 mesi, seguito da un periodo di regressione con compromissione delle capacità manuali e del linguaggio.

Nel 1999, la causa molecolare della RTT è stata identificata nel gene codificante per la proteina MeCP2, un abbondante repressore trascrizionale in grado di legare specificamente un singolo dinucleotide CpG simmetricamente metilato. La recente scoperta di una mancata correlazione tra genotipo e fenotipo nei pazienti RTT e l'evidenza che un 20% di essi è privo di mutazioni nel gene *MECP2*, sembra indicare che altri fattori potrebbero causare la RTT o essere coinvolti nell'influenzarne la severità. Per meglio definire i meccanismi tramite i quali MeCP2 esplica la propria azione repressiva, abbiamo quindi deciso di identificare e caratterizzare proteine che interagiscono con MeCP2.

In questa comunicazione riportiamo l'identificazione e la purificazione, tramite tecniche di biochimica convenzionale, di un polipeptide interattore di MeCP2, da estratti di *Xenopus laevis*. La proteina è stata denominata p20, in base al suo apparente peso molecolare di 20 kDa. Per prima cosa abbiamo utilizzato diverse strategie per confermare l'interazione tra MeCP2 e p20. In un secondo momento, dato che l'analisi dei domini della p20 suggeriva che questa proteina potesse avere un ruolo nel regolare la stabilità di MeCP2, abbiamo messo a punto saggi di stabilità. Questi esperimenti, svolti sia in oociti di *Xenopus* che in cellule di mammifero, hanno confermato la capacità della p20 di aumentare significativamente l'emivita di MeCP2.

46. NP95 E' RICHIESTA PER LA CORRETTA REPLICAZIONE DELLE REGIONI ETEROCROMATICHE

Papait Roberto, Negri Diego, Cantarini Lisa, Pecoraro Daniela, Pistore Christian e Bonapace Ian Marc
Patologia molecolare

Np95 è una proteina over-espressa nelle cellule T di linfoma di topo ed è considerata la controparte murina della proteina umana ICBP90, over-espressa nei tumori del seno.

Np95 è una proteina ciclo-regolata, espressa dalla tarda fase G₁ alla mitosi ma assente nella fase G₀ e all'inizio della G₁.

Nel nostro laboratorio abbiamo dimostrato che Np95 è necessaria per l'entrata in fase S di fibroblasti NIH3T3 e che la sua espressione, insieme al complesso ciclo chinasi cycE/cdk2, induce il rientro in fase S di cellule terminalmente differenziate.

Nel lavoro qui presentato noi abbiamo caratterizzato il ruolo di Np95 nella regolazione del ciclo cellulare.

Gli esperimenti di immunofluorescenza condotti su cellule sincronizzate nelle diverse fasi del ciclo cellulare hanno mostrato che Np95 colocalizza con i foci di replicazione dell'eterocromatina in tarda fase S.

Mediante esperimenti di RNAi abbiamo inoltre osservato che il blocco dell'espressione di Np95 determina una riduzione del numero di cellule in fase S; tuttavia è stato interessante osservare come le cellule che replicano abbiano una fase S anomala, caratterizzata da una significativa riduzione della replicazione delle regioni eterocromatiche.

Analizzando, infine lo stato di acetilazione degli istoni abbiamo trovato che la mancata espressione di Np95 determina un arricchimento dell'istone H4 acetilato sui residui di lisina 8 e 16, a livello delle regioni eterocromatiche.

Sulla base di questi dati e del fatto che recentemente abbiamo dimostrato che Np95 è una proteina fortemente legata alla cromatina, capace di legare gli istoni e, in vitro, di

ubiquitarli, noi ipotizziamo che Np95 possa intervenire nella regolazione del ciclo cellulare modulando la struttura dell'eterocromatina durante la replicazione del DNA.

Sezione di Zoologia e Paleontologia

47. PRIMI VERTEBRATI FOSSILI DALLA FORMAZIONE DI CUNARDO (TRIASSICO MEDIO) DELLA VALTRAVAGLIA (VARESE)

Silvio Renesto
Paleontologia

Per quanto riguarda lo studio dei vertebrati fossili, il Triassico medio della Lombardia occidentale e del Canton Ticino meridionale ha, fin dalla metà del XIX secolo, un'importanza eccezionale con i giacimenti del Monte San Giorgio e dell'area Perledo-Varenna. Il cuore di questa regione paleontologica è certamente il Monte San Giorgio con il recente riconoscimento di sito di valore mondiale da parte dell'UNESCO. Tuttavia, altre aree lombarde sono potenzialmente molto ricche di vertebrati del Triassico Medio. Fra queste l'area tra la Valganna e il Lago Maggiore. Resti di vertebrati sono venuti alla luce in diversi siti della Formazione di Cunardo. Con l'aiuto di alcuni appassionati locali si sta cercando di identificare i siti più promettenti onde poter avviare scavi sistematici per valorizzare questo importante patrimonio paleontologico. Alcuni esemplari sono particolarmente significativi, soprattutto per la stratigrafia. La fauna a vertebrati della Formazione di Cunardo si presenta relativamente varia, nonostante le ricerche siano solo agli inizi. Attualmente sono state riconosciute almeno una decina di specie di pesci e una di rettili. L'aspetto più interessante è che, tra i pesci, diverse specie non siano mai state rinvenute sul Monte San Giorgio, nonostante qui si scavi da 150 anni e si sia in presenza di molti livelli fossiliferi. E' possibile che i diversi bacini lacustri della Lombardia occidentale presentassero una ittiofauna che, accanto ad alcune forme in comune, erano caratterizzati da associazioni peculiari, forse in relazione alle diverse condizioni ambientali. La Formazione di Cunardo rappresenta un ambiente di bassa profondità, caratterizzato da forte instabilità (testimoniata dalla presenza di livelli a *Lingula*). Il principale livello a pesci oggi conosciuto si situa poi appena al di sopra della Dolomia del Salvatore ed è caratterizzato anche da notevoli scivolamenti sinsedimentari (slumpings) che interessano i singoli strati più o meno laminati.

La prosecuzione delle ricerche in corso durante il 2004 ha compreso studi sia a carattere paleobiologico che paleobiogeografico in aree potenzialmente molto ricche di vertebrati del Triassico Medio: fra cui l'area tra la Valganna e il Lago Maggiore. Nuove ricerche sono state avviate, con risultati molto positivi: durante una breve campagna di scavo del Settembre 2004, resti interessanti di vertebrati sono venuti alla luce in diversi siti della Valcuvia dove, con l'aiuto di alcuni appassionati locali ed in collaborazione con colleghi dell'Università di Milano, si sta cercando di identificare i siti più promettenti onde poter dare luogo a scavi sistematici che permettano di valorizzare questo patrimonio paleontologico a prima vista certamente interessante: uno scavo in una località promettente ha dato buoni frutti, con ritrovamenti di numerosi vertebrati e resti vegetali: attualmente sono state riconosciute almeno una decina di specie di pesci e una di rettili, che ora sono in corso di studio, da parte di specialisti dell'Università degli Studi di Milano per quel che riguarda i pesci e dal prof. Renesto per i rettili.

Inoltre, si è definito un accordo con il Museo Cantonale di Storia Naturale di Lugano per lo studio di un raro esemplare di Rettile, proveniente da una località svizzera dell'area del

Monte San Giorgio, estendendo così la rete di interazioni fra Università e realtà locali Italiane e Svizzere.

Dal punto di vista dei risultati scientifici, nel corso del 2004, gli studi sui rettili delle località risalenti al Triassico Medio e Superiore dell'Italia Settentrionale hanno documentato la esistenza di un possibile dimorfismo sessuale di una specie nuova del genere *Lariosaurus*, *L. valceresii*, rinvenuto nei giacimenti del Varesotto (Renesto et al. 2004), la possibile presenza di un ulteriore taxon in comune fra le località Italiane e quelle dei Fissure Infillings Inglesi (Renesto 2005) e la revisione sistematica del rettile acquatico *Endennasaurus*. (Mueller, Renesto and Evans, 2005) e la ricostruzione anatomica dettagliata del cranio dell'enigmatico rettile drepanosauride *Megalancosaurus* (Renesto and dalla Vecchia in press), prima conosciuto solo in parte, e fondamentale per comprendere i rapporti filogenetici di questo gruppo, che si sta rivelando a distribuzione molto ampia (Italia, Inghilterra, Stati Uniti) e quindi importante per gli studi di paleobiogeografia e paleobiodiversità.

Infine, al simposio *Giornate di Paleontologia 2004* (organizzate dalla Società Paleontologica Italiana) sono stati presentati alla comunità paleontologica ed al pubblico i risultati recentemente pubblicati, dello studio di *Megachirella* un nuovo genere di rettile terrestre recentemente scoperto in una località nelle Dolomiti, che rappresenta un significativo contributo alle conoscenze sulle prime fasi dell'evoluzione del ceppo da cui ebbero origine gli attuali squamati (lucertole e serpenti).

48. INVERTEBRATI MODELLO

de Eguileor M., Ferrarese R., Grimaldi A., Guidali L., Perletti G., Rinaldi L., Tettamanti G., Valvassori R.

Biologia degli Invertebrati

L'attività di ricerca del gruppo si sviluppa su tre tematiche principali e i risultati più recenti sono relativi a: -studio dell' angiogenesi e della fibroplasia in risposta a espianti, utilizzando come modello un invertebrato acquatico, *Hirudo medicinalis*. La riparazione delle ferite nelle sanguisughe risulta molto simile a quello dei vertebrati permettendo la definizione di tre differenti fasi: infiammazione, formazione del granulation tissue e rimodellamento.

I dati fino ad ora raccolti evidenziano come questo invertebrato possa rappresentare un utile modello nello screening di composti pro- e anti- angiogenesi.

-studio delle interazioni ospite/parassitoide in insetti, utilizzando come modello *Toxoneuron nigriceps*, un parassitoide endofago in grado di alterare la fisiologia di fitofagi di notevole importanza economica come *Heliothis virescens* (parassita del tabacco).

Questo progetto, sviluppato con gruppi appartenenti ad altre università, mira a caratterizzare e isolare geni codificanti per nuovi insetticidi naturali.

-sviluppo muscolare nei tentacoli di *Sepia officinalis* in cui coesistono due tipi di fibre muscolari, elicoidali e a striatura trasversale. Il differenziamento di questi due tipi di fibre striate è regolato, come nei vertebrati, da fattori trascrizionali muscolo specifici (MRFs). Inoltre sono in corso studi sulla definizione del ruolo che un morfogeno Shh-like potrebbe avere come promotore del differenziamento muscolare.

49. MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STUDIES ON HELIOTHIS VIRESCENS-TOXONEURON NIGRICEPS SYSTEM AIMED AT THE ANALYSIS OF

PARASITOID-DERIVED GENE PRODUCTS WITH POTENTIAL INSECTICIDE ACTIVITY

Roberto Ferrarese, Maria Luisa Rivas, Annalisa Grimaldi, Gianluca Tettamanti, Magda de Eguileor
Biologia degli Invertebrati

Among the most promising alternatives to chemical pesticides are the use of biotechnology-based natural products or organisms for pest suppression. Unlike broad-spectrum chemical pesticides, these “biopesticides” have the potential to very specifically target pest species and to greatly reduce negative impacts on food safety, non-target organisms and the environment.

Among the various antagonistic associations that insects have established, one of the most interesting is that occurring with other arthropods acting as their natural enemies. Nowhere is the diversity more apparent than in the adaptations evolved by insect parasitoids to parasitic life. These animals have developed an impressive range of host colonization strategies, very often resulting in pathological syndromes in parasitized hosts, which are eventually killed. The study of the physiological and molecular mechanisms underlying these host–parasitoid associations is a very interesting opportunity to isolate genes and molecules with potential insecticide activity. This opportunity appears particularly promising in the case of endoparasitoids, which are able to induce a number of serious host pathologies, such as suppression of the immune response and neuroendocrine disruption, essential to ensure a suitable microenvironment to the development of their juvenile.

This study focuses on the characterization of the interactions between the parasitoid *Toxoneuron nigriceps*, an endophagous braconid, and its natural host, the tobacco budworm *Heliothis virescens*. Particularly, immunosuppression and immunoevasion strategies of the parasitoid have been analysed; in fact, when *T. nigriceps* lay an egg inside the host, it also injects venom and ovary secretions rich in virus particles (belonging to the family of Polydnviridae) that are complexly able to affect the immune and neuroendocrine systems. In addition, *T. nigriceps*, from its embryonal phases to the moulting of 1st instar larvae, presents a further protection, the serosa (a cellular envelope), which is able to interfere with humoral immune system of the host.

50. RUOLO DELLA PROTEINA HEDGEHOG NELLO SVILUPPO EMBRIONALE DI *SEPIA OFFICINALIS* (MOLLUSCA)

Grimaldi, G. Tettamanti, M.L. Guidali, E. Bossi, F. Aquati e M. de Eguileor
Biologia degli Invertebrati

La classe dei geni *hedgehog* (*hh*) è coinvolta in diversi aspetti dello sviluppo embrionale in numerose specie appartenenti ai tre principali gruppi in cui sono stati suddivisi gli animali bilateri: Ecdysozoa, Deutorostoma e Lophotrochozoa. Studi funzionali sono stati effettuati prevalentemente in *Drosophila* (Ecdysozoa), dove *hh* svolge un ruolo fondamentale nella segmentazione corporea e nei Vertebrati (Deutorostoma), dove è implicato per esempio nello sviluppo del sistema nervoso centrale e dei muscoli. I dati relativi ai Lophotrochozoa, a cui appartengono gli Anellidi e i Molluschi, sono molto pochi e si riferiscono a sanguisuga (Anellida) e patella (Mollusca). Il nostro lavoro si è focalizzato su un possibile ruolo di *hh* nello sviluppo embrionale di *Sepia officinalis* (Lophotrochozoa, Mollusca).

Mediante tecniche di *ibridazione in situ* abbiamo localizzato il sito d'espressione di questo gene in embrioni di *S. officinalis*. *hh* è espresso nelle cellule del tessuto connettivale del mantello, dell'imbuto e delle braccia. L'effettivo ruolo di questo gene nella formazione di queste strutture è stata confermata utilizzando la Ciclopamina, uno steroide alcaloide che inibisce in modo specifico la cascata di i segnali a valle della proteina HH. In seguito a trattamento con Ciclopamina abbiamo ottenuto embrioni con mantello, imbuto e braccia estremamente ridotte. Analisi ultrastrutturali negli embrioni trattati con Ciclopamina evidenziano la disorganizzazione dello strato muscolare del mantello di *S. officinalis*. Questi dati preliminari evidenziano il coinvolgimento della proteina HH nel differenziamento dei tessuti di origine mesodermico di *S. officinalis*. Quindi, come già dimostrato nelle sanguisughe (Anellidi), HH sarebbe coinvolta anche nei molluschi cefalopodi, nell'organogenesi e nella morfogenesi di molte strutture corporee, mentre il suo ruolo nella segmentazione corporea evolverebbe solo secondariamente negli Ecdysozoa.

Fondi Assegnati per Progetti di ricerca

RESPONSABILE	TIPOLOGIA	TITOLO DEL PROGETTO	CIFRA
PROF. BANFI	ASSEGNAZIONE FAR 2004		2.740,60
PROF. BADARACCO	ASSEGNAZIONE FAR 2004		3.330,88
PROF.SSA BARBIERI	ASSEGNAZIONE FIRB 2001	Selezione e caratterizzazione di geni ed enzimi ecofunzionali da batteri Gram + ad alto contenuto in GC per studi ecologici e di biorisanamento	55.000,00
PROF.SSA BARBIERI	ASSEGNAZIONE FAR-COFIN 2004	Sviluppo di un biocatalizzatore basato sulla toluene-o-xilene monoossigenasi e su suoi mutanti	25.000 (MIUR) + 8500Ateneo
DOTT. BONAPACE	CONTRIBUTO AIRC 2003		35.000,00
DOTT. BONAPACE	ASSEGNAZIONE FAR 2004		2.529,98
DOTT. BRIVIO		Relazioni a livello molecolare e cellulare tra parassiti ed ospiti intermedi o definitivi (possibili vettori di interesse biomedico e biotecnologico).	2.605,43
DOTT.SSA BOSSI	ASSEGNAZIONE FAR 2004	Aminoacidi responsabili della selettività al substrato in due trasportatori altamente omologhi.	3.703,15
DR. CERABOLINI	CONVENZIONE OASI LACCHIARELLA		2.167,70
DR. CERABOLINI	CONVENZIONE SIC		4.839,99
DOTT. CERABOLINI	ASSEGNAZIONE FAR 2004		2.523,79
PROF.SSA DE EGUILEOR	CONTRIBUTO MIN POL. AGRICOLE		6.135,51
PROF.SSA DE EGUILEOR	ASSEGNAZIONE FAR 2004		2.937,92
DR. DI GUARDO	CONVENZIONE ADAS		10.625,84
DOTT. DI GUARDO	ASSEGNAZIONE FAR 2004		2.484,91
PROF. FASANO	BIOINDUSTRY PARK		6.315,00
PROF. FASANO	ASSEGNAZIONE FAR 2004		6.040,49
PROF. FESCE	ASSEGNAZIONE FAR 2004		3.706,45
PROF. FUMAGALLI	ASSEGNAZIONE FAR 2004	Rilevamento ambientale dei metalli del gruppo del platino (PGM) e studio della loro reattività, in basso stato di ossidazione, con molecole di rilevanza biologica. Modelli matematici applicati a problemi biologici e ambientali	4.726,11
PROF. GEROLA	CONVENZIONE		7771,2

PROF. GEROLA	EFFEGILAB ASSEGNAZIONE FAR 2004		2.852,68
PROF.SSA GRAMATICA	COFIN 2004	Studio integrato sul territorio nazionale per la caratterizzazione ed il controllo di inquinanti atmosferici (sitecos)	4.500,00
PROF.SSA GRAMATICA	CONTRATTO CCR ISPRA	Evaluation of different statistical approaches to the validation of quantitative structure -activity relationships	6.000,00
PROF.SSA GRAMATICA	CONTRATTO EVK1 1999 - 00012	Bridging effect assessment of mixtures to ecosystem situations and regulation (beam)	17.520,50
PROF.SSA GRAMATICA	ASSEGNAZIONE FAR 2004	Modellamento qsar di proprietà di interesse ambientale per inquinanti organici	2.865,90
DR.SSA KILSTRUP- NIELSEN	ASSEGNAZIONE CONTRIBUTO SINDROME DI RETT		8.059,30
DOTT.SSA LANDBSBERGER	ASSEGNAZIONE AIRC 2004		35.000,00
DOTT.SSA LANDSBERGER	CONTRIBUTO TELETHON		25.063,27
DOTT.SSA LANDSBERGER	ASSEGNAZIONE FIRB 2001		100.000,00
DOTT.SSA LANDSBERGER	IRSA		17.190,19
DOTT.SSA LANDSBERGER	ASSEGNAZIONE FAR 2004	Modulazione di HIF1 α in cellule di glioblastoma umano	3.009,72
PROF.SSA MONTI	FINANZ. REGIONE LOMBARDIA INTERREG IIIA "	Sviluppo delle produzioni di erbe officinali di elevato valore qualitativo e salutistico dell'area alpina (1 aprile 2004-31 marzo 2007)	72.205,00
PROF.SSA MONTI	ASSEGNAZIONE FAR 2004		4.754,60
PROF.SSA PAROLARO	CONVENZIONE SANOFI- SYNTHELABO		5.486,25
PROF.SSA PAROLARO	ASSEGNAZIONE FONDAZIONE CARIPLO ES. 2003 PER COSTI 10% RIENTRO CERVELLI		16.000,00
PROF.SSA PAROLARO	CONTRATTO GW PHARMA		14.990,00
PROF.SSA PAROLARO	ASSEGNAZIONE FAR 2004		7.478,50
PROF. PAROLARO	CONTRIBUTO STRAORD. PER CONGRESSO 2004 SYMPOSIUM		2.500,00

PROF. PERES	INT. CANNAB. ASSEGNAZIONE FIRB 2001		50.000,00
PROF. PERES	ASSEGNAZIONE FAR 2004		4.278,77
DOTT. PERLETTI	COFIN 2004	Cannabinoidi ed ansia: meccanismi cellulari/molecolari e ruolo degli endocannabinoidi nella modulazione degli stati ansiosi.	13.268
DOTT. PERLETTI	ASSEGNAZIONE FAR 2004		3.222,40
PROF. PORATI	ASSEGNAZIONE FAR 2004		1.005,00
PROF. RENESTO	COFIN-PRIN	Biodiversità e biogeografia dei rettili del Triassico Medio e Superiore dei bacini marginali della Tetide e correlazioni con le faune continentali.	
PROF. RENESTO	ASSEGNAZIONE FONDAZIONE CARIPLO ES. 2003 PER RICERCA FOSSILI TRIASSICO	Vertebrati del Triassico Medio e Superiore della Lombardia	6.000,00
PROF. RENESTO	ASSEGNAZIONE FAR 2004	Vertebrati del Triassico Medio e Superiore della Lombardia	2.392,45
PROF. VALVASSORI	COFIN 2004		4.500,00
PROF. VALVASSORI	ASSEGNAZIONE FIRB 2001		63.000,00
PROF. VALVASSORI	ASSEGNAZIONE FAR 2004		2.589,32
DOTT. VIANELLI	ASSEGNAZIONE FAR 2004		2.609,42
PROF.SSA BARBIERI PROF. RENESTO DOTT.SSA RUBINO	QUOTA MIUR PRG COFIN 2004		75.200,00
PROF.SSA BARBIERI PROF. RENESTO DOTT.SSA RUBINO	COFIN 2004 QUOTA ATENEO		23.500,00
	CONTRIBUTO STRAORDINARIO CDA 27/10/2004 PROT. 16489 09/11/04		20.000,00
	RIMBORSO ALISEI D.B.S.F.		1.000,00

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 2004 sono stati tenuti i seguenti seminari:

- 12 ottobre : Trasporto ionico di membrana in cellule vegetali: canali ionici e trasportatori. (Relatore : Dr. A. Carpaneto).
- 9 novembre : Ruolo dei canali HCN nel pacemaker cardiaco. (Relatrice : Dr.ssa C. Altomare).
- 30 novembre : Il canale divertente e il pacemaker biologico.(Relatore : prof. D. DiFrancesco).

EVENTI

Il DBSF ospita presso le sue strutture, sia di Varese che di Busto Arsizio, manifestazioni organizzate dall'Ateneo, come anche da altri Enti pubblici e privati.

Titolo	Date	Organizzazione
06/02/04 - Proteomica: una tecnologia per molte applicazioni	6 febbraio	Società Chimica Italiana
5ª Giornata Dipartimentale	16 dicembre	DBSF
1ª Giornata Delle Neuroscienze	20 dicembre	Centro di Neuroscienze,

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
Argomenti di Farmacologia cellulare	5	Prof. Daniela Parolaro
Argomenti di Botanica	3	Prof. P. Gerola
Argomenti di Biologia molecolare	3	Dr. Charlotte. Kilstrup-nielsen
Argomenti di Zoologia	3	Prof. Roberto Valvassori
Biodegradazione e biorisanamento	5	Prof. Paola Barbieri Dr. Alberto Vinelli
Biofisica	5	Prof. A.Peres
Bioindicatori	2	Dr. Alberto Vianelli Dr. B. Raimondi
Biologia cellulare	5	Dr. Maurizio Brivio
Biologia cellulare, dello sviluppo e della riproduzione	5	Dr. Maurizio Brivio
Biologia dello sviluppo	5	Dr. Maurizio Brivio
Biologia evolutiva	6	Prof. Roberto Valvassori

Biologia e farmacologia dei processi neoplastici	5	Prof. Elena Monti Dr. Ian Marc Bonapace
Biologia molecolare (Varese e Busto Arsizio)	5	Prof. Gianfranco Badaracco
Biologia molecolare II	10	Dr. Charlotte. Kilstrup-nielsen Dr. N. Landsberger
Biologia molecolare II	10	Dr. N. Landsberger
Biologia molecolare (Biotecnologie)	5	Prof. Gianfranco Badaracco
Biologia molecolare (Busto Arsizio)	5	Prof. Gianfranco Badaracco
Biologia strutturale e funzionale	5	Prof. A. Peres Prof. Magda De Eguileor Dr. Maurizio Brivio (prof. L. Pollegioni)
Biotecnologie cellulari	5	Dr. Maurizio Brivio (e Prof. G. Bernardini)
Botanica	5	Prof. P. Gerola
Botanica ambientale ed applicata	6	Dr. Bruno Cerabolini
Botanica generale	5	Prof. P. Gerola
Botanica sistematica (modulo di Botanica II)	5	Dr. Bruno Cerabolini
Botanica sistematica (AGRN)	5	Dr. Bruno Cerabolini
Chemioterapia	4	Prof. Elena Monti
Chimica ambientale	4	Prof. Paola Gramatica
Chimica ambientale e chemiometria	5	Prof. Paola Gramatica
Chimica dell'ambiente	5	Prof. Paola Gramatica
Chimica analitica	5	Prof. Paola Gramatica Prof. Alessandro Fumagalli Prof. Stefano Banfi
Chimica analitica	5	Prof. Paola Gramatica Prof. Alessandro Fumagalli Prof. Stefano Banfi Dr. A. DiGuardo
Chimica generale ed inorganica(Sc.Biologiche)	5	Prof. Alessandro Fumagalli
Chimica generale ed inorganica (AGRN)	5	Prof. Alessandro Fumagalli
Chimica generale ed inorganica (ingegneria)	5	Prof. Alessandro Fumagalli
Chimica generale ed inorganica (Biotecn.)	5	Prof. Alessandro Fumagalli
Chimica organica	5	Prof. Paola Gramatica
Chimica organica (Biotecn.)	5	Prof. Paola Gramatica
Chimica organica (Busto Arsizio)	5	Prof. Stefano Banfi
Chimica organica (ingegneria)	3,5	Prof. Stefano Banfi
Complementi di chimica generale e inorganica	5	Prof. Alessandro Fumagalli
Complementi di chimica organica	5	Prof. Stefano Banfi
Complementi di Fisiologia	3	Dr. S. Giovannardi
Complementi di Biologia molecolare	4	Dr. N. Landsberger
Corso integrato di ecofisiologia vegetale e fitodepurazione	5	Dr. Alberto Vianelli
Ecofisiologia vegetale	5	Dr. Bruno Cerabolini Dr. Alberto Vianelli
Ecologia microbica	5	Prof. Paola Barbieri
Ecologia applicata	5	Dr. A. DiGuardo
Ecologia vegetale	10	Dr. Bruno Cerabolini Dr. Alberto Vianelli
Ecologia vegetale applicata	5	Dr. Bruno Cerabolini
Ecotossicologia	5	Dr. Antonio DiGuardo
Farmacologia	6	Prof. Elena Monti
Farmacologia	10	Prof. Daniela Parolaro

		Prof. Elena Monti
Farmacologia cellulare e molecolare	5	Prof. Daniela Parolaro
Farmacologia generale e clinica	4	Prof. Daniela Parolaro
Farmacogenomica e farmacocinetica	4	Prof. Daniela Parolaro Prof. R. Fesce
Filogenesi generale	5	Prof. Roberto Valvassori Prof. Paolo Gerola Prof. Paola Barbieri (prof. G. Binelli)
Filogenesi vegetale	5	Prof. Paolo Gerola
Fisica	5	Dr. Maria Ilde Granero
Fisica (Busto Arsizio e Varese)	5	Prof. Alfredo Porati
Fisica (biotecn.)	5	Prof. Alfredo Porati
Fisiologia I (Busto Arsizio)	5	Prof. Riccardo Fesce
Fisiologia II (Busto Arsizio)	5	Prof. Riccardo Fesce
Fisiologia cellulare	5	Dr. S. Giovannardi
Fisiologia generale	5	Prof. A. Peres
Fisiologia generale II	10	Prof. R. Fesce Dr. S. Giovannardi
Fisiologia molecolare	3	Dr. Elena Bossi
Fisiologia vegetale	5	Dr. Alberto Vianelli
Fisiopatologia del sistema immunitario	6	Prof. Daniela Parolaio (coord.) Prof. Mauro Fasano Dr. Maurizio Brivio
Fitogeografia	5	Dr. Bruno Cerabolini
Laboratorio di Biologia molecolare (Varese e Busto Arsizio)	3	Dr. Charlotte. Kilstруп-nielsen
Laboratorio di Biologia sperimentale	5	Dr. Maurizio Brivio (coord.)
Laboratorio di Chimica	5	Prof. Stefano Banfi
Laboratorio di Chimica	5	Prof. Stefano Banfi
Laboratorio di Drug Design (Busto Arsizio)	3	Prof. Paola Gramatica (prof. L. Pollegioni)
Laboratorio di farmacologia cellulare e molecolare	3	Dr. Marzia Gariboldi
Laboratorio di Fisica applicata (Busto Arsizio)	5	Dr. Maria Ilde Granero
Laboratorio integrato (biochimica, biologia molecolare) (Busto Arsizio)	2	Prof. Mauro Fasano Dr. Charlotte. Kilstруп-nielsen
Laboratorio integrato (biochimica, biologia molecolare, genetica) (Busto Arsizio)	2	Prof. Mauro Fasano Dr. Charlotte. Kilstруп-nielsen
Laboratorio di Neuropsicofarmacologia	3	Prof. Daniela Parolaro
Laboratorio di tecniche fisiologiche	3	Dr. Elena Bossi
Laboratorio di tecniche farmacologiche	3	Dr. Elena Monti
Laboratorio di tecniche istologiche (Busto Arsizio)	5	Dr. Annalisa Grimaldi
Laboratorio di Tossicologia ed analisi tossicologiche	3	Dr. Tiziana Rubino
Metodologie Biochimiche	5	Prof. Mauro Fasano
Metodologie Biologico-molecolari	5	Dr. N. Landsberger
Microbiologia generale	5	Prof. Paola Barbieri
Microbiologia ambientale	5	Prof. Paola Barbieri
Microbiologia molecolare	3	Prof. Paola Barbieri Prof. Gianfranco Badaracco
Modelli ambientali	3	Dr. A. DiGuardo
Modelli di biodiversità animale	5	Prof. Magda De Eguileor

		Prof. Silvio Regesto Prof. G. Tosi
Modelli matematici	3l	Prof. Alfredo Porati
Modelli in vivo (animali)	3	Prof. Magda De Eguileor
Modelli animali sperimentali	5	Prof. Magda De Eguileor
Morfologia funzionale (modulo)	3	Prof. Silvio Renesto
Parassitologia	3	Prof. Roberto Valvassori
Patologia generale	5	Dr. Ian Marc Bonapace
Paleontologia	5	Prof. Silvio Renesto
Parassitologia	5	Prof. R. Valvassori
Principi di neuroscienze	7	Prof. Daniela Parolaro (coord.) Prof. Mauro Fasano Prof. R. Fesce Dr. Ian Marc Bonapace Prof. M. Prati
Principi di immunologiacienze	7	Prof. Daniela Parolaro (coord.) Prof. Mauro Fasano Prof. R. Fesce Dr. Ian Marc Bonapace Prof. M. Prati
Saggi e dosaggi farmacologici	3	Prof. Elena Monti
Scienze della Vita 1 (Varese e Busto Arsizio)	5	Prof. Mauro Fasano (coordinatore)
Scienze della Vita 2 (Varese e Busto Arsizio)	5	Prof. Paolo Gerola Prof. Paola Barbieri Prof. R. Valvassori
Scienze della Vita 3	2,5	Prof. Gianfranco Badaracco
Scienze della Vita 4 – Modulo di Fisiologia Generale	2,5	Prof. Antonio Peres
Statistica (Busto Arsizio e Varese)	5	Prof. Alfredo Porati
Test ambientali	3	Prof. Magda De Eguileor (prof. M. Prati)
Tossicologia (Busto Arsizio e Varese)	5	Dr. Gianpaolo Perletti
Tossicologia applicata	3	Dr. Gianpaolo Perletti
Tossicologia cellulare e molecolare	3	Dr. Gianpaolo Perletti
Valutazione del rischio chimico e certificazioni standard (ISO)	5	Prof. Paola Grammatica (prof.D. Calamari)
Zoologia	5	Prof. Roberto Valvassori
Zoologia I	5	Prof. Roberto Valvassori
Zoologia II	5	Prof. Roberto Valvassori
Zoologia II	10	Prof. Magda De Eguileor
Zoologia e morfologia funzionale	5	Prof. Magda De Eguileor

LAUREATI 2004

	CdL	Studente	Relatore	Titolo della Tesi
1	ISBARB	Marmorato Patrick	Daniela Parolaro	Effetti comportamentali e basi cellulari dell'interazione asimmetrica tra sistema oppioide e cannabinoide in trattamento acuto e cronico
2	ISBARB	Zaro Sabrina	Gianpaolo Perletti	Coinvolgimento di p53 nell'attività oncosoppressiva dell' isoforma S della protein chinasi C in un modello cellulare di adenocarcinoma di colon.
3	F19-F32	Bianchi Camilla	Fumagalli Alessandro	Applicazioni della spettroscopia di assorbimento atomico per il rilevamento di platinoidi in aree urbane e per uno studio di caso: il fiume Amu Darya
4	F19-F32	Buccafurni Loredana	Banfi Stefano	Sintesi ed attività di nuovi fotosensibilizzanti porfirinici mono e diaril sostituiti
5	F19-F32	Zanin Cinzia	Banfi Stefano	Nuovi agenti fotosensibilizzanti derivati dalla 5,10,15,20 - Tetra (pentafluorofenil) porfina
6	F19-F32	Oldrini Rita	De Eguileor Magda	Sintesi e Trasporto intracellulare dell'istamina dei tumori neuroendocrini. Studio immunostochimico
7	F19-F32	Olivetto Sabrina	Badaracco Gianfranco	Studio genotipico delle resistenze del virus HIV
8	F19-F32	Bianchi Stefano	Brivio Maurizio Francesco	Interferenza di parassiti entomopatogeni (<i>Steinernema feltiae</i>) nell'induzione della sintesi di peptidi antibatterici in un insetto modello (<i>Galleria mellonella</i>)
9	F19-F32	Felici Laura	Perletti Gianpaolo	Coinvolgimento di PZI ^{wa1/cip1} nell'attività oncosoppressiva dell'isoforma δ della protein chinasi C
10	F19-F32	Fortunali Rossano	Giovannardi Stefano	Progetto di ricerca industriale per l'individuazione di nuovi bloccanti di canali ionici selettivi per il sodio a voltaggio dipendenti coinvolti nel dolore. Impiego di sistemi di screening automatizzati
11	F19-F32	Leonforte Leonardo	Vianelli Alberto	Ossidazione- riduzione dei pigmenti antenna nei batteri fotosintetici verdi: studio mediante spettroscopia ottica.
12	F19-F32	Maffezzoli Debora	Gerola Paolo	Nuovi approcci metodologici nell'allestimento dei campioni per lo studio del trasferimento di energia nell'apparato fotosintetico di <i>Chlorobium tepidum</i>
13	F19-F32	Bonato Morena	Fumagalli Alessandro	Composti di rodio (I) analoghi al cis-platino e loro interazione con le nucleobasi
14	F19-F32	Bonvissuto Debora	Gramatica Paola	Metodi preventivi per la stima delle emivite in atmosfera di idrocarburi policiclici aromatici
15	F19-	Cassani	Di Guardo	Studio delle deposizioni atmosferiche di

	F32	Chiara	Antonio	POPs lungo un gradiente altitudinale alpino
16	F19-F32	Infantino Alfonso	Porati Alfredo	Successo ed insuccesso delle invasioni biologiche: modelli analitici e numerici
17	F19-F32	Introini Giuseppe	Banfi Stefano	Analisi HPLC-MS di macrocicli tetrapirrolici con sostituenti arilici
18	F19-F32	Martone Sara	Landsberger Nicoletta	Studio di DPC4, TP53 e MSI nei carcinomi dell'ampolla di Vater
19	F19-F32	Passarelli Laura	Monti Elena	Modulazione del sistema p21-p53 nella risposta alla doxorubicina in cellule di adenocarcinoma del colon umano
20	F19-F32	Zanetta Lorenzo	Badaracco Gianfranco	Np95: proteina nucleare essenziale per l'entrata in fase S del ciclo cellulare ed implicata nella replicazione dell'eterocromatina
21	F19-F32	Galiardi Simone	Barbieri Paola	Influenza della fibra alimentare sul biochimismo microbico intestinale nel maiale
22	F19-F32	Ritondale Ilaria	Barbieri Paola	Produzione di mutanti della toluene o-xilene monoossigenasi mediante PCR mutagenica e ottimizzazione della procedura di selezione
23	F19-F32	Terni Francesca	Monti Elena	Nuovi derivati del Platino (II): effetto citotossico e modulazione dell'espressione di P21 ^{WAF1/CIP1} in linee cellulari di carcinoma ovarico
24	F19-F32	Parravicini Manuela	Peres Antonio	L'aspartato 338 contribuisce alla selettività ionica e all'accoppiamento del substrato nel cotrasportatore KAAT1
25	F19-F32	Saporiti Federica	Parolaro Daniela	Modulazione dopaminergica della [Ca ⁺⁺] nei linfociti circolanti umani
26	F19-F32	Stranges Simona	Cerabolini Bruno	Risanamento del lago di Varese: impatto del prelievo ipolimnico sul fiume Bardello
27	F19-F32	Agrati Cristina	Fasano Mauro	Caratterizzazione spettroscopica dell'interazione dell'albumina umana con gli acidi grassi.
28	F19-F32	Ferrandi Alex	Barbieri Paola	Strumenti molecolari per la ricerca di nuovi antibiotici che inibiscono la traduzione nei batteri.
29	F19-F32	Zuccolotto Alessandra	Parolaro Daniela	Ruolo della proteina-chinasi C nelle modificazioni adattative che coinvolgono vie recettoriali di tipo inibitorio sulla funzione colinergica enterica dopo denervazione simpatica cronica.
30	F19-F32	Moranzoni Elisabetta	Magda De Eguileor	La somministrazione di rame incrementa la produzione di globuli rossi nei cavalli sportivi anemici.
31	F56	Fortunato Orazio	Parolaro Daniela	Meccanismi biochimici associati all'apoptosi indotta dal cannibidiolo in cellule di glioma umano: studio della cascata caspatica

32	F56	Molinari Francesca	Parolaro Daniela	Sviluppo della tolleranza ai cannabinoidi in topi Ras-GRF1 Knock out: analisi comportamentale e biochimica
33	F56	Vaghi Valentina		
34	F58	La Terra Pirrè Valeria	Landsberger Nicoletta	Caratterizzazione degli elementi regolativi del promotore RAR β 2 Importanti per la repressione trascrizionale della proteina oncogenica PML/RAR
35	F58	Domingo Guido	Vianelli Alberto	Purificazione e caratterizzazione dell'apparato fotosintetico del batterio verde <i>chloroflexus aurantiacus</i> : emissione di fluorescenza a diverse condizioni di ossidoriduzione
36	F58	Caravaggi Elisabetta	Parolaro Daniela	Effetto antiproliferativo del cannabidolo, un derivato non psicoattivo della marijuana: studi in vitro e in vivo
37	F58	Banfi Serena	De Eguileor Magda	Struttura e funzione dei rivestimenti larvali di <i>Toxoneuron nigriceps</i>
38	F58	Italo Conti	Barbieri Paola	Sequenziamento di HIV-1: mutazioni e resistenze
39	F58	Manuela Mendoza	De Eguileor Magda	Modulazione della risposta dei fibroblasti nella riparazione tissutale in <i>Hirudo medicinalis</i>
40	F58	Bonetti Sofia	Perletti Gianpaolo	Generazione di vettori lentivirali per la trasduzione in vivo del CDNA codificante per la fatty acid amide hydrolase (faah)
41	F58	Fonzi Marta	Barbieri Paola	La resistenza alle cefalosporine a spettro esteso in batteri produttori di beta-lattamasi inducibili
42	F58	Van Der Bilt Iris Renate	Cerabolini Bruno	Sequestro e bilancio del carbonio negli ecosistemi forestali: il caso delle pinete di San Rossore (PI) all'interno del progetto carboeuroflux
43	F58	Cattani Francesca	Parolaro Daniela	Meccanismo cellulare dell'effetto apoptotico del cannabidolo, un derivato naturale non psicoattivo della marijuana, in linee di glioma umano
44	F58	Fumagalli Tiziana	Parolaro Daniela	Ruolo dei recettori per le purine di tipo P2 nello sviluppo post natale nell'intestino di topo
45	F58	Luini Alessandra	Parolaro Daniela	Messa a punto di metodica di dosaggio della lattato deidrogenasi nei linfociti umani per valutare se la produzione e il rilascio di catecolammine stimolati da agenti farmacologici sono accompagnati da danneggiamento della membrana cellulare.
46	F58	Palermo Sandro	Stefano Giovannardi	Valutazione degli effetti delle mutazioni G190N, L332W e W288A sul trasportatore 47di

				aminoacidi neutri kaati.
47	F58	Ghezzi Chiara	Peres Antonio	Costruzione di un vettore per l'espressione di una proteina di fusione tra due trasportatori altamente omologhi.
48	F58	Cantara Carlo	Vianelli Alberto	Studi sulla sensibilità alla ossidazione chimica di clorosomi isolati dal batterio fotosintetico verde <i>Chroflexus aurantiacus</i> J-10-fl (Giappone).
49	F58	Citterio Maurizio	Vianelli Alberto	Indagine sulla correlazione tra sensibilità all'ossidazione chimica e grado di purezza di clorosoma isolati dal batterio fotosintetico verde <i>Chloroflexus aurantiacus</i> Y-400-fl (Yellowstone, U.S.A.)
50	F58	Marotta Roberto	Gramatica Paola	Predizione della mutagenicità di idrocarburi policiclici aromatici con modelli QSAR.
51	F58	Andrini Olga	Stefano Giovannardi	Effetti del Cl intracellulare sul trasportatore neurale del GABA (rGAT1) trasfettato in cellule TSA201.
52	F55	Guzzetti Sara	Rubino Tiziana	Effetto antiproliferativo del Cannabidiolo in linee cellulari di Glioma umano
53	F55	Pistore Christian	Bonapace Ian Marc	Purificazione della proteina SUV39H1 da cellule di mammifero per la produzione di un anticorpo policlonale
54	F55	Orlando Sabrina	Barbieri Paola	Diagnosi di laboratorio delle infezioni cervico-vaginali
55	F55	Clavenna Daniela	Banfi Stefano	Applicazione di molecole fotosensibilizzanti come agenti antibatterici
56	F55	Martinoni Lorenza	Monti Elena	Modulazione di P21WAF1/CIP1 da parte di derivati del platino in cellule di adenocarcinoma ovarico umano
57	F55	Meli Sara	Tiziana Rubino	Alterazioni nei livelli corticali di recettore CB1 indotte dall'esposizione cannabinoidi in fasi ontogenetiche precoci
58	F55	Meli Silvia	Parolaro Daniela	Effetto antimigratorio del CBD, un cannabinoide naturale non psicoattivo, sulla linea cellulare di glioma umano U87
59	F55	Molteni Roberta	Monti Elena	Studio di IGF1R in cellule di glioblastoma multiforme umano
60	F55	Alberio Tiziana	Parolaro Daniela	Valutazione dell'espressione di APOB EC3G e APOBEC3F: geni potenzialmente protettivi nei confronti dell'infezione da HIV
61	F55	Cerutti Ileana	Gianfranco Badaracco	Ricerca di disomia uniparentale in 5 casi candidati mediante l'analisi dei polimorfismi del DNA
62	F55	Diolosà Laura	Barbieri Paola	Tecniche microbiologiche applicate alla diagnosi dei patogeni responsabili della mastite bovina
63	F54	Guerriero Michele	De Eguileor Magda	Rivestimenti cellulari e molecolari del parassitoide <i>T. nigriceps</i> (imenottero,

				braconide) come possibili sistemi di immunoevasione e/o immunosoppressione
63	F54	Bedin Francesco	Bruno Cerambolini	Studio delle vibrazioni nella morfologia e nella fitness dell'endemica primula glaucescens all'interno del suo areale.

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. **Scienze Chimiche** Univ. Milano-Bicocca-Referente: Prof.ssa Paola Gramatica
E. **Farmacologia, Chemioterapia e Tossicologia mediche** – Univ. Milano-Referente: Prof. Daniela Parolaro
F. **Farmacologia, Chemioterapia e Microbiologia** – Univ. Trieste-Referente: prof. Elena Monti, dr. Gianpaolo Perletti

Dottorato di Ricerca in “Biologia evoluzionistica e dello sviluppo”

Coordinatore: Prof. Giovanni Bernardini

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 della relazione struttura e funzione di proteine enzimatiche, anche di interesse patologico),
- 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 glauca*) 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. Paola Gramatica

Dr. Stefano Giovannardi
Prof. Mirella Pilone
Prof. Loredano Pollegioni
Prof. Roberto Taramelli
Dr. Alberto Vianelli

Studenti

XX ciclo (attivato nell'A.A. 2004-2005):
Conca Barbara (tutor : prof. G.Badaracco).

XIX ciclo (attivato nell'A.A. 2003-2004):
Anna Bergo (tutor : prof. G.Badaracco).
Mariastella Mastore (tutor : prof. M.Brivio).
Cristina Pisoni (tutor : prof. P.Gerola).

XVIII ciclo (attivato nell'A.A. 2002-2003) :
Mauro Mengoni (tutor : prof. G.Badaracco).
Liliana Rinaldi (tutor : prof M.deEguileor).

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

Studenti

Studenti:

XIX ciclo (attivato nell'A.A. 2003-2004) :

Luca Nizzetto (tutor : prof. A.Di Guardo).
Francesca Radice (tutor : prof. P. Barbieri).

XVIII ciclo (attivato nell'A.A. 2002-2003) :

Ester Papa (tutor : prof. P. Gramatica).

Il seguenti dottori :

- G.Brusa (Laboratorio di Botanica Applicata)
- L.Buccafurni (Laboratorio di Chimica)
- A. Luzzaro (Laboratorio di Botanica Applicata).
- A. Pisani (Laboratorio di fisiologia cellulare e molecolare)
- A. Soragna (Laboratorio di fisiologia cellulare e molecolare)
- A. Vaccani (Laboratorio di Farmacologia)

svolgono al DBSF un corso di dottorato consorziato presso strutture dell'Università dell'Insubria o di altre Università.

Elenco delle pubblicazioni 2004

Articoli su riviste censite dall'Institute for Scientific Information

1. Backhaus T., Faust M., Scholze M., Gramatica P., Vighi M., Grimme L.H. (2004) : Joint algal toxicity of phenylurea herbicides is equally predictable by concentration addition and independent action. *Environ. Toxicol.Chem.* 23, 258-264.
2. Banfi S., Carlucci L., Caruso E., Ciani G., Proserpio D. (2004). An unusual three-dimensional coordination network formed by parallel polycatenation of two-fold interpenetrated (6,3) layers based on a novel three-connecting ligand. *Crystal growth and design*, 4, 29-32.
3. Banfi S, Caruso E, Caprioli S, Mazzagatti L, Canti G, Ravizza R, Gariboldi M, Monti E. : Photodynamic effects of porphyrin and chlorin photosensitizers in human colon adenocarcinoma cells. *Bioorg Med Chem.* 2004 Sep 15;12(18):4853-60.
4. Bertoli, G; Simmen, T; Anelli, T; Molteni, SN; Fesce, R; Sitia, R (2004) : Two conserved cysteine triads in human Ero1 alpha cooperate for efficient disulfide bond formation in the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.*, 279 (29): 30047-30052.
5. Brivio M., Mastore M., Moro M. (2004) : The role of *Steinernema feltiae* body-surface lipids in host-parasite immunological interactions. *Mol. Biochem. Parasitol.* 135, 111-121.
6. Carro S., Bergo A., Mengoni M., Bachi A., Badaracco G., Kilstrup-Nielsen C., Landsberger N. (2004) : A novel protein, xenopus p20, influences the stability of MeCP2 through direct interaction. *J Biol Chem.* 279 (24): 25623-25631.
7. Cerabolini, B; De Andreis, R; Ceriani, RM; Pierce, S; Raimondi, B. (2004) : Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: *Physoplexis comosa* and *Primula glaucescens*. *Biol.Conserv.* 117 : 351-356.
8. Citterio, E; Papait, R; Nicassio, F; Vecchi, M; Gomiero, P; Mantovani, R; Di Fiore, PP; Bonapace, IM (2004) : Np95 is a histone-binding protein endowed with ubiquitin ligase activity. *Mol. Cell Biol.*, 24 (6): 2526-2535.
9. Corpillo D., Gardini G., Vaira AM., Basso M., Aime S., Accotto GP., Fasano M. (2004) : Proteomics as a tool to assess substantial equivalence of genetically modified organisms: the case of a virus-resistant tomato. *Proteomics*, 4, 193-200.
10. Costa B., Colleoni M., Conti S., Parolaro D., Franke C., Trovato A.E., Giangoni G. (2004) : Oral anti-inflammatory activity of cannabidiol, a non-psychoactive constituent of cannabis, in acute carrageenan-induced inflammation in the rat paw. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 369 : 294-9.
11. De Eguileor M, Tettamanti G, Grimaldi A, Perletti G, Congiu T, Rinaldi L, Valvassori R. (2004) : *Hirudo medicinalis*: avascular tissues for clear-cut angiogenesis studies? *Curr Pharm Des.* 10 :1979-88.
12. Della Pergola, R; Fumagalli, A; de Biani, FF; Garlaschelli, L; Laschi, F; Malatesta, MC; Manassero, M; Roda, E; Sansoni, M; Zanello, P. (2004): Carbonyl-nitrido mixed-metal clusters: Synthesis, reactivity, electrochemical behavior and solid-state structure of $[\text{Co}_5\text{MoN}(\text{CO})(14)]^{(2-)}$ and $[\text{Co}_5\text{MoN}(\text{CO})(14)\text{AuPPh}_3]^{(-)}$. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 19: 3901-3906.
13. Fasano, M; Bocedi, A; Mattu, M; Coletta, M; Ascenzi, P. (2004): Nitrosylation of rabbit ferrous heme-hemopexin. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 9: 800-806.
14. Fasano M, Fanali G, Polticelli F, Ascenzi P, Antonini G. : 1H NMR relaxometric characterization of bovine lactoferrin. *J Inorg Biochem.* 2004 Aug;98(8):1421-6.
15. Fraser N. C & Renesto S. : Additional drepanosaur elements from the Triassic Fissure Infills of Cromhall Quarry England - Jeffersoniana. (in press).
16. Fumagalli A, Ulivieri P, Costa M, Crispu O, Della Pergola R, Fabrizi de Biani F, Laschi F, Zanello P, Macchi P, Sironi A. (2004) : Electron transfer and CO addition to polynitrido cobalt carbonyl clusters: parallel pathways for conversion of the $[\text{Co}_{10}\text{N}_2(\text{CO})_{19}]_4^-$ anion to the novel $[\text{Co}_{11}\text{N}_2(\text{CO})_{21}]_3^-$ anion. *Inorg Chem.* 43 : 2125-31.

17. Paola Gramatica, Francesca Battaini and Ester Papa: QSAR prediction of physico-chemical properties of esters. *Fresenius Environmental Bulletin* 13, **2004**, 1258-1262.
18. Gramatica P., Papa E., Battaini F. (2004). Ranking and classification of non-ionic organic pesticides for environmental distribution : a QSAR approach. *Intern.J.Envirn.Anal.Chem.* 84, 65-74.
19. Gramatica P, Pilutti P, Papa E. (2004) : Validated QSAR prediction of OH tropospheric degradation of VOC_s : splitting into training-test sets and consensus modeling. *J Chem Inf Comput Sci.* 2004 Sep-Oct;44(5):1794-802.
20. P. Gramatica, P. Pilutti and E. Papa: A Tool for the Assessment of VOC Degradability by Tropospheric Oxidants Starting from Chemical Structure. *Atm. Env* **2004**, 38(36), 6167-6175
21. Paola Gramatica, Ester Papa and Stefano Pozzi: Prediction of POP environmental Persistence and Long Range Transport by QSAR and Chemometric Approaches. *Fresenius Environmental Bulletin* 13, **2004**, 1204-1209.
22. Grimaldi A., Tettamanti G., Brivio M.F., Valvassori R., De Eguileor M. (2004) : Differentiation of slow and fast fibers in tentacles of *Sepia officinalis* (Mollusca). *Dev Growth Differ.* 46 : 181-93.
23. Grimaldi, A; Tettamanti, G; Martin, BL; Gaffield, W; Pownall, ME; Hughes, SM. (2004) : Hedgehog regulation of superficial slow muscle fibres in *Xenopus* and the evolution of tetrapod trunk myogenesis. *Development*, 131 (14) : 3249-3262.
24. Grimaldi A., Tettamanti G., Rinaldi L., Brivio M.F., Castellani D., De Eguileor M. (2004) : Muscle differentiation in tentacles of *Sepia officinalis* (Mollusca) is regulated by muscle regulatory factors (MRF) related proteins. *Dev. Growth Differ.* 46(1) : 83-95.
25. Mari S.A., Soragna A., Castagna M., Bossi E., Peres A. Sacchi V.E. (2004) : Aspartate 338 contributes to the cationic specificity and to driver-amino acid coupling in the insect cotransporter KAA1. *Cell Mol. Life Sci.* 61, 243-256.
26. Martini, M; Rispoli, G; Farinelli, F; Fesce, R; Rossi, ML (2004): Intracellular Ca²⁺ buffers can dramatically affect Ca²⁺ conductances in hair cells. *Hearing Res.*, 195: 67-74.
27. Massi, P; Vaccani, A; Ceruti, S, Colombo, A; Abbraccio, MP; Parolaro, D. (2004) : Antitumor effects of cannabidiol, a nonpsychoactive cannabinoid, on human glioma cell lines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 308 (3): 838-845.
28. Muller J. , Renesto S. & Evans S. E. (2004) The marine diapsid reptile *Endennasaurus* from the Upper Triassic of Italy - *Palaeontology* (in press)
29. Papa, E; Castiglioni, S; Gramatica, P; Nikolayenko, V; Kayumov, O; Calamari, D (2004) : Screening the leaching tendency of pesticides applied in the Amu Darya Basin (Uzbekistan). *Water Res*, 38 : 3485-3494
30. Peres A.; Giovannardi, S.; Bossi, E.; Fesce, R. (2004) Electrophysiological insights on the mechanism of ion-coupled cotransporters. *News in Physiological Sciences*, 19:80-84.
31. Peres, A., Pisani, R., Soragna, A. and R. Fesce. (2004). Biophysical approaches to the study of ion-coupled transport proteins. *Recent Res. Devel. Membrane Biol.* 2:1-19.
32. Perletti G, Osti D, Marras E, Tettamanti G, de Eguileor M. : Generation of VSV-G pseudotyped lentiviral particles in 293T cells. *J Cell Mol Med.* 2004 Jan-Mar;8(1):142-3.
33. Renesto S., Pareo M., Lombardo C. (2004) A new specimen of the sauropterygian reptile *Lariosaurus* from the Kalkschieferzone (Uppermost Ladinian) of Valceresio (Varese N. Italy). *Neues Jahrb. Geol. P-M*, (6): 351-369.
34. Rubino T., Forlani G., Vigano D., Zippel R., Parolaro D. (2004) : Modulation of extracellular signal-regulated kinases cascade by chronic Δ 9-tetrahydrocannabinol treatment. *Mol Cell Neurosci.* 25 : 355-62.
35. Solera, D; Arengi, FLG; Woelk, T; Galli, E; Barbieri, P (2004): TouR-mediated effector-independent growth phase-dependent activation of the sigma(54) P_{ou} promoter of *Pseudomonas stutzeri* OX1. *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*, 186: 7353-7363.
36. Soragna, A. Mari, S. Peres, A., Pisani, R., Castagna, M., Sacchi, V.F. and Bossi, E. (2004) : Structural domains involved in substrate selectivity in two neutral amino acid transporters. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* (In press).
37. Tettamanti, G; Grimaldi, A; Ferrarese, R; Rinaldi, L; Bortolotto, A; Di Guardo, G; De Eguileor, M. (2004): A comparative study of sporta perimedullaris muscosa in the renicula of six species of cetaceans. *It. J. ZOOL.*, 71: 271-273.
38. Tettamanti G, Grimaldi A, Rinaldi L, Arnaboldi F, Congiu T, Valvassori R, de Eguileor M. : The multifunctional role of fibroblasts during wound healing in *Hirudo medicinalis* (Annelida, Hirudinea). *Biol Cell.* 2004 Aug;96(6):443-55.
39. Valenti, M; Vigano, D; Casico, MG, Rubino, T; Steardo, L; Parolaro, D; Di Marzo, V. (2004) : Differential diurnal variations of anandamide and 2-arachidonoyl-glycerol levels in rat brain. *Cell Mol. Life Sci.*, 61 (7-8): 945-950.

40. Vigano, D; Valenti, M; Cascio, MG; Di Marzo, V; Parolaro, D; Rubino, T. (2004): Changes in endocannabinoid levels in a rat model of behavioural sensitization to morphine. *Eur. J. Neurosc.*, 20: 1849-1857.
41. Webster E, Mackay D, Di Guardo A, Kane D, Woodfine D. (2004) : Regional differences in chemical fate model outcome. *Chemosphere*. 55 : 1361-76.

Reports:

1) P.Gramatica (2004) QSARs for atmospheric degradation. In Anon. *Evaluation of the Setubal Principles for establishing the status of development and validation of (Q)SARs – Annex 2* ENV/JM/TG(2004)27/ANN, OECD, Paris. OECD Environment, Health and Safety Publication. [http://appli1.oecd.org/olis/2004doc.nsf/linkto/env-jm-mono\(2004\)24](http://appli1.oecd.org/olis/2004doc.nsf/linkto/env-jm-mono(2004)24)

2) P.Gramatica (2004) *Evaluation of different statistical approaches to the validation of Quantitative Structure-Activity Relationships–ECVAM*, JRC, Ispra. <http://ecb.jrc.it/QSAR/> under QSARs/documents/public access

Prof. Paola Gramatica:

- Membro dell' Editorial Board della Rivista *SAR & QSAR in Environmental Research*
- Membro del Gruppo dell'OCSE (Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico) di esperti QSAR nella regolamentazione internazionale dei prodotti chimici

PARTECIPAZIONI A CONGRESSI

- 1) Gramatica P., Papa E. and Pilutti P. (2004) Validated QSAR prediction of VOC tropospheric degradation by OH radical. 14th Annual Meeting SETAC-Europe (Prague, 18-23 April 2004)
- 2) Gramatica P., Battaini F., Papa E., Cenci, R.M. and Preatoni D. (2004) Biomonitoring of moss-linked trace elements in Italian regions. 14th Annual Meeting SETAC-Europe (Prague, 18-23 April 2004)
- 3) Gramatica P., Consonni V. and Pavan M. (2004) Structural-toxicity mode of action similarity analysis by Kohonen Artificial Neural Networks (K-ANN). 14th Annual Meeting SETAC-Europe (Prague, 18-23 April 2004)
- 4) Gramatica P., Papa E. and Villa F. (2004) QSARs prediction of acute toxicity of organic molecules in the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). 14th Annual Meeting SETAC-Europe (Prague, 18-23 April 2004)
- 5) Gramatica P., Papa E. and Pilutti P. Ranking of phenols for oxidation in aqueous environment: a QSPR approach. 14th Annual Meeting SETAC-Europe (Prague, 18-23 April 2004)
- 6) Gramatica and Papa E. QSAR Prediction of Organic Chemicals Environmental Persistence. 14th Annual Meeting SETAC-Europe (Prague, 18-23 April 2004)
- 7) Gramatica P. (2004) Validated QSAR prediction of VOC tropospheric degradation by OH radical 11th International Workshop on QSAR in the Human Health and Environmental Sciences (Liverpool, 9-13 May 2004) Platform presentation
- 8) Gramatica P., Papa E. and Villa F. (2004) Statistically validated QSARs and theoretical descriptors for modelling aquatic toxicity of organic chemicals in *Pimephales promelas* (Fathead Minnow) 11th International Workshop on QSAR in the Human Health and Environmental Sciences (Liverpool, 9-13 May 2004)
- 9) Gramatica P. and Papa E. Tools for structurally-based screening of organic chemicals according to their general environmental persistence.

11th International Workshop on QSAR in the Human Health and Environmental Sciences (Liverpool, 9-13 May 2004)

10) P. Pilutti, E. Papa, D. Bonvissuto, L. Nizzetto, A. Di Guardo e P. Gramatica, .
Stima della persistenza ambientale di idrocarburi policiclici aromatici in aria e particolato studiata mediante spettrometria di massa e modelli QSAR

1° Convegno Nazionale sul articolato Atmosferico, Milano-Bicocca, 12-14 Maggio 2004

11) P. Gramatica, F. Battaini, R. M. Cenci, E. Papa, D. Preatoni
Distribuzione di metalli pesanti in suoli e muschi di Piemonte e Sicilia : analisi mediante metodi chemiometrici e GIS

Convegno di Chimica dell'Ambiente e dei Beni Culturali (Colle Val d'Elsa (SI), giugno 2004)

12) P. Gramatica, P. Pilutti, E. Papa
Approccio QSAR allo studio della degradabilità ossidativa dei fenoli in acque superficiali
Convegno di Chimica dell'Ambiente e dei Beni Culturali (Colle Val d'Elsa (SI), giugno 2004)

13) Paola Gramatica
Modellistica QSAR per "governare" complesse problematiche ambientali di inquinanti organici (orale)
Convegno di Chimica dell'Ambiente e dei Beni Culturali (Colle Val d'Elsa (SI), giugno 2004)

14) Papa E. and Gramatica P. Structurally-based Tools for the Screening and the Prediction of the Environmental Persistence of Organic Chemicals. Oral presentation SETAC Student Conference, Department of Soil Science, University of Reading (UK), 29 June 2004.

15) Gramatica P. Different approaches to QSAR models' validation. Invited lecture eCheminfo 2004 Conference "*Applications of Cheminformatics and Modelling to Drug Discovery*", 8-19 November 2004

16) Comunicazione orale a 3° SAYCS Sigma Aldrich Young Chemists Symposium 19-21 Maggio 2003 Riccione (RN); S. Banfi, S. Caprioli, E. Caruso, M. Gariboldi, L. Mazzagatti, E. Monti "Nuovi fotosensibilizzanti per la terapia fotodinamica dei tumori (PDT)"

17) Partecipazione al XXI Congresso della Società Chimica Italiana 22-27 Giugno 2003 a Torino; poster presentato: S. Banfi S. Caprioli, E. Caruso, M. Gariboldi, L. Mazzagatti, E. Monti " Sintesi e Reattività di Nuovi Fotosensibilizzanti Porfirinici".

18) Congresso SIF - Società Italiana di Farmacologia 26-29 giugno 2003 a Trieste; poster presentato: Gariboldi M.B., Ravizza R., Banfi S., Caruso E., Canti G., Monti E. "Photodynamic effects of new photosensitizer agents in human colon adenocarcinoma cell lines"

19) Partecipazione a 5° International Symposium on Photodynamic Diagnosis and Therapy in Clinical Practice 7-11 ottobre 2003 a Bressanone (BZ); poster presentato: S. Banfi, E. Monti, M.B. Gariboldi, R. Ravizza, E. Caruso, S. Caprioli, L. Mazzagatti "photodynamic effects of photosensitizers on human adenocarcinoma cells (HCT116 and HCT116-E6)

20) S. Banfi, 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.

21) E. Monti, 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 93rd Annual Meeting. San Francisco, 6 – 10 April 2002.

22) S. Banfi, E. Caruso, M. B. Gariboldi, E. Monti, L. Mazzagatti – *Sintesi e reattività di nuovi fotosensibilizzanti porfirinici*. XXI Congresso Nazionale della Società Chimica Italiana, Torino, 22-27 Giugno, 2003.

- 23) M.B. Gariboldi, R. Ravizza, S. Banfi, E. Caruso, G. Canti, E. Monti – *Photodynamic effects of new photosensitizer agents in human colon adenocarcinoma cell lines*. Congresso SIF – Società Italiana di Farmacologia, Trieste, 26-29/06/2003.
- 24) S. Banfi, E. Monti, M.B. Gariboldi, R. Ravizza, E. Caruso, S. Caprioli, L. Mazzagatti. Photodynamic effects of new photosensitizers on human adenocarcinoma cells (HCT116 and HCT116E). International Symposium on PDT and PDD, Bressanone, 08 –11 October 2003.
- 25) Elisabetta Gabano, Claudio Cassino, Mauro Ravera, Emilio Marengo,¹ Elena Monti, Marzia Gariboldi, Alessandro Maiocchi, Domenico Osella; Classical Pt(II) anticancer complexes revised in view of drug targeting and delivery. 3rd workshop Pharma-Bio-Metallics (Sorrento) 2003.
- 26) Elena Monti, Elena Cereda, Raffaella Ravizza and Marzia B. Gariboldi. The piperidine nitroxide Tempol modulates HIF-1 α in human glioblastoma cells. *Clinical Cancer Res* 9: 6207(S), 2003.
- 27) Elisabetta Gabano, Claudio Cassino, Mauro Ravera, Emilio Marengo,¹ Elena Monti, Marzia Gariboldi, Alessandro Maiocchi, Domenico Osella; Cytotoxicity of some Pt(II) –diamine complexes: a QSAR evaluation of the effect of chelating arms and leaving groups. XXXII congresso nazionale della divisione di chimica inorganica - Roma, 20-24 settembre 2004.
- 28) Renesto S. (2004) *Megachirella wachtlei* e l'origine dei Lepidosauria. IV Giornate di Paleontologia, Bolzano 21-23 Maggio 2004, p.51.
- 29) Perletti G, Marras E, Osti D, Felici L, Zaro S, De Eguileor M. p53 is a key effector of tumor suppressor PKC δ in human colon cancer cells. 9th World Congress on Advances in Oncology and 6th International Symposium on Molecular Medicine 2004. **Published in:** International Journal of Molecular Medicine, 14, S13, (2004)
- 30) Grimaldi A, Tettamanti G, Perletti G, Congiu T, Valvassori R, De Eguileor M. Hemopoietic and endothelial cells in leech vasculo-angiogenesis. 9th World Congress on Advances in Oncology and 6th International Symposium on Molecular Medicine 2004. **Published in:** International Journal of Molecular Medicine, 14, S56, (2004)

Organizzazione di simposio nazionale:

Sezione di Farmacologia (comunicato da Dr. Perletti): 2nd Italian RNA interference symposium - 16 novembre 2004

Collaborazioni internazionali:

- **Dr. Perletti: Università di Gent - Belgio.**

Titolo del programma: *Ruolo di geni oncosoppressori e di sistemi di riparazione del DNA nella sensibilità alle radiazioni ionizzanti. Nuovi approcci analitici in oncologia.*