

RELAZIONE ANNUALE 2005



Dipartimento
di Biologia
Strutturale
e Funzionale

Università
degli Studi
dell'Insubria



Lariosaurus

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

INDICE

INTRODUZIONE	4
COMPOSIZIONE E STRUTTURA ORGANIZZATIVA	5
ORGANI DIPARTIMENTALI	5
PERSONALE DI RUOLO	5
Professori di I fascia	5
Professori di II fascia	5
Ricercatori	5
Personale amministrativo	6
Personale tecnico	6
Collaboratori post-dottorato	6
Dottorandi	6
Borsisti	6
Co. Co. Co.	7
INFRASTRUTTURE E SERVIZI.....	7
ATTIVITA' DI RICERCA.....	9
RIASSUNTI DELLE RICERCHE SVOLTE.....	11
SEZIONE AMBIENTE	11
Unità di Criologia e Climatologia	11
Environmental Modeling Group	11
Unità di Ecologia vegetale e fitogeografia	12
Unità di Immunologia comparata e parassitologia	12
Unità di Ricerca QSAR e Chimica ambientale	14
Laboratorio di Microbiologia Ambientale e Molecolare	16
Unità di Chimica inorganica e Scienze Ambientali	17
SEZIONE FARMACOLOGIA	18
Unità di Chimica organica	18
Unità di Farmacologia	20
Unità di Neuropsicofarmacologia	24
Unità di Biochimica	26
SEZIONE DI FISIOLOGIA E BIOFISICA	28
Unità di Neurofisiologia	28
Laboratorio di Fisiologia cellulare e molecolare	30
Unità di Metodi matematici	31
Unità di Biologia vegetale e bioenergetica	31
SEZIONE DI BIOLOGIA MOLECOLARE E PATOLOGIA	33
Unità di Biologia Molecolare	33
Unità di Patologia Generale	35
SEZIONE DI ZOOLOGIA E PALEONTOLOGIA.....	35
Unità di Biologia degli Invertebrati	35
Unità di Paleontologia dei Vertebrati	35
PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI.....	36
Fondo di Ateneo per la Ricerca	36
Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (PRIN)	36
Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (FIRB)	37
Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (Interlink) ...	37

<i>Altri Enti</i>	37
SEMINARI	37
EVENTI	38
LAUREATI 2005	38
DOTTORATI DI RICERCA	42
DOTTORATO DI RICERCA IN “BIOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE”	42
DOTTORATO DI RICERCA IN “NEUROBIOLOGIA”	43
ELENCO DELLE PUBBLICAZIONI 2005	43
ARTICOLI SU RIVISTE CENSITE DALL’INSTITUTE FOR SCIENTIFIC INFORMATION	44
ARTICOLI SU ALTRE RIVISTE	46
CAPITOLI DI LIBRI	47
COMUNICAZIONI A CONGRESSI	48
BREVETTI:.....	54

INTRODUZIONE

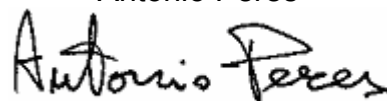
L'anno 2005, il nono dalla nascita del Dipartimento, ha visto la stabilizzazione del nuovo assetto, dopo la gemmazione dei Dipartimenti DBSM e DASS. La componente docente alla fine del 2005 ammontava a trenta unità, tra cui, in seguito alle prese di servizio nelle fasce superiori, sette professori di prima fascia e undici di seconda. Il personale tecnico e amministrativo ammontava a tredici unità. Diciassette Studenti di Dottorato, sette Assegnisti post-dottorato, sette Borsisti ed alcuni collaboratori a tempo determinato completano il personale addetto all'attività di ricerca. I membri del Dipartimento hanno prodotto nel 2005 41 lavori scientifici pubblicati su riviste internazionali censite dall'ISI, oltre a numerosi lavori pubblicati su altre riviste, comunicazioni a Congressi e ad un brevetto.

Per condurre le loro ricerche, i membri del DBSF hanno ottenuto importanti finanziamenti 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).

Tra i seminari e gli eventi organizzati sotto gli auspici del Dipartimento, si distinguono per rilevanza il Convegno Europeo sulle ricerche sui Cannabinoidi e la Seconda Giornata di Studio e Discussione sulla Proteomica applicata alla Ricerca Biomedica, oltre alle manifestazioni in occasione della Settimana Internazionale sul Cervello, e la Conferenza tenuta dal prof. Giovanni Berlucchi, membro dell'Accademia dei Lincei, su Veratti e Bizzozero. Nell'autunno 2005 è mancata la dott.ssa Marilde Granero, ricercatrice di Fisica del Dipartimento. Con vivo rammarico la comunità scientifica del DBSF si è unita al lutto per la sua scomparsa.

Maggio 2006

Il Direttore
Antonio Peres



COMPOSIZIONE E STRUTTURA ORGANIZZATIVA

Organi dipartimentali

Direttore:

Prof. Antonio Peres

Vice Direttore:

Prof. Mauro Fasano

Giunta:

Prof. Gianfranco Badaracco

Prof. Paola Gramatica

Prof. Daniela Parolaro

Prof. Roberto Valvassori

Prof. Paolo Gerola

Prof. Paola Barbieri

Prof. Stefano Banfi

Dr. Marzia Gariboldi

Dr. Stefano Giovannardi

Sig. Adriana Jacona

Sig. Giorgio Terzaghi

Al 31 dicembre 2005 afferiva al DBSF il seguente personale:

Personale di ruolo

Professori di I fascia

Gianfranco Badaracco

Magda de Eguileor

Paolo Gerola

Paola Gramatica

Daniela Parolaro

Antonio Peres

Roberto Valvassori

Biologia molecolare

Zoologia

Botanica generale

Chimica dell'Ambiente

Farmacologia

Fisiologia

Zoologia

Professori di II fascia

Stefano Banfi

Paola Barbieri

Bruno Cerabolini

Mauro Fasano

Riccardo Fesce

Alessandro Fumagalli

Mauro Guglielmin

Nicoletta Landsberger

Elena Monti

Alfredo Porati

Silvio Renesto

Chimica organica

Microbiologia generale

Ecologia vegetale

Biochimica

Fisiologia

Chimica generale ed inorganica

Geografia fisica e geomorfologia

Biologia molecolare

Farmacologia

Fisica matematica

Paleontologia

Ricercatori

Marc Bonapace
Elena Bossi
Maurizio Brivio
Enrico Caruso
Marzia Bruna Gariboldi
Stefano Giovannardi
Annalisa Grimaldi
Charlotte Kilstrup-Nielsen
Gianpaolo Perletti
Tiziana Rubino
Gianluca Tettamanti
Alberto Vianelli

Patologia generale
Fisiologia
Anatomia comparata e Citologia
Chimica
Farmacologia
Fisiologia
Zoologia
Biologia molecolare
Farmacologia
Farmacologia
Zoologia
Fisiologia vegetale

Personale amministrativo

Dr. Luca Azimonti
Adriana Jacona
Daniela Pozzi

Segretario amministrativo

Personale tecnico

Dr. Fabrizio Bolognese
Patrizia D'Angelo
Luisa Guidali
Dr. Emanuela Marras
Dr. Luisa Paracchini

Cinzia Roganti
Rosa Rossi
Marco Sordelli
Giorgio Terzaghi
Raffaele Terzaghi

Collaboratori post-dottorato

Greta Greco
Greta Forlani
Mauro Mengoni
Ester Papa

Raffaella Ravizza
Francesca Saracino
Daniela Viganò

Dottorandi

Anna Bergo
Loredana Buccafurni
Chiara Castiglioni
Monica Colapinto
Barbara Conca
Alessia Guarda
Valentina Massa
Maristella Mastore

Andreea Miszner
Luca Nizzetto
Rossana Pisani
Cristina Pisoni
Francesca Radice
Liliana Rinaldi
Laura Rusconi
Andrea Soragna
Angelo Vaccani

Borsisti

Luca Abbate
Silvia Bianchessi

Viviana Orlandi
Daniela Osti

Gabriella Fanali
Luigi Mazzagatti

Pamela Pilutti

Co. Co. Co.

Ilaria Bertani
Fabrizio Premoli

Claudio Zanardini

Hanno fatto parte del DBSF durante il 2004:

Dr. Angelo Boselli
Dr. Anna Giulia Cattaneo
Antonio DiGuardo

Trasferito ad altro Dipartimento
Trasferito ad altro Dipartimento
Afferenza al Dipartimento di Scienze Chimiche e
Ambientali
Deceduta
Trasferito ad altro Dipartimento
Trasferito ad altro Dipartimento
Termine incarico

Marilde Granero
Dr. Fabio Messina
Stefano Motta
Dr. Emanuela Pilotto

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)
- HPLC / FPLC (Varese)
- Rilassometro (Busto Arsizio)
- Elettroforesi bidimensionale (Busto Arsizio)
- GC-MS (Varese)

Servizio – Responsabile

Acqua deionizzata	G. Terzaghi
Acqua MilliQ	A. Boselli - DBSM
Assorbimento atomico	A. Fumagalli – G. Terzaghi
Audiovisivi	L. Guidali
Colture cellulari invertebrato	M. deEguileor
Colture cellulari mammifero	S. Giovannardi
Disposable / Reagenti	R. Terzaghi
Gas	G. Terzaghi
GC-MS	A. Di Guardo
Informatica e telefoni	C. Roganti
Lavaggio vetreria	R. Rossi
Liofilizzazione	G. Terzaghi
Microscopio confocale	S. Giovannardi
Microscopi elettronici	M. DeEguileor
Radioisotopi (B.A.)	G. Badaracco – F. Bolognese

Rifiuti tossici e nocivi	S. Banfi - G. Terzaghi
Rifiuti tossici e nocivi (B.A.)	L. Paracchini
Sicurezza piano blu	S. Giovannardi – L. Guidali
Sicurezza piano verde	
Sicurezza Busto Arsizio	
Stabulario	L. Guidali

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.

Unità	Gruppo	Componenti - (*) P.I.	Abstracts
AMBIENTE	Criologia e Climatologia	Prof. Mauro Guglielmin* Dr. Luca Abbate	1a
AMBIENTE	Environmental Modeling Group	Prof. Antonio Di Guardo* Dr. Luca Nizzetto Dr. Alfonso Infantino	2a - 2c
AMBIENTE	Ecologia vegetale e fitogeografia	Prof. Bruno Cerabolini*	
AMBIENTE	Immunologia comparata e Parassitologia	Prof. Maurizio Brivio* Dr. Maristella Mastore	4a
AMBIENTE	Unità di Ricerca QSAR e Chimica ambientale	Prof.ssa Paola Gramatica* Ester Papa Pamela Pilutti	5a – 5h
AMBIENTE	Laboratorio di Microbiologia Ambientale e Molecolare	Prof.ssa Paola Barbieri* Dr. Francesca Radice Dr. Viviana Orlandi Dr. Valentina Massa	6a – 6c
AMBIENTE	Laboratorio di Chimica - inorganic and environmental science	Prof. Alessandro Fumagalli*	7a
FARMACOLOGIA	Chimica Organica	Prof. Stefano Banfi* Dr. Enrico Caruso Dr. L. Buccafurni Dr. S. Zazzaron	8a - 8e
FARMACOLOGIA	Farmacologia	Prof.ssa Elena Monti* Dr. Marzia Gariboldi Dr. Gianpaolo Perletti Dr. Raffaella Ravizza Dr. Claudio Zanardini Dr. Daniela Osti	9a – 9h
FARMACOLOGIA	Neuropsicofarmacologia	Prof.ssa Daniela Parolaro* Dr. Tiziana Rubino Dr. Daniela Viganò Dr. Angelo Vaccani Dr. Chiara Castiglioni Dr. Silvia Bianchessi Dr. Fabrizio Premoli	10a – 10c

FARMACOLOGIA	Biochimica	Prof. Mauro Fasano* Dr. Monica Colapinto Dr. Gabriella Fanali	11a - 11b
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Neurofisiologia	Prof. Riccardo Fesce* Dr. Rossana Pisani	12a - 12c
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Fisiologia cellulare e molecolare	Prof. Antonio Peres* Dr. Elena Bossi Dr. Stefano Giovannardi Dr. Andrea Soragna Dr. Andreea Miszner	13a - 13c
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Metodi matematici	Prof. Alfredo Porati* Dr. Marilde Granero	
FISIOLOGIA E BIOFISICA	Biologia vegetale e bioenergetica	Prof. Paolo Gerola* Dr. Alberto Vianelli Dr. Cristina Pisoni Dr. Luigi Mazzagatti Dr. Stefania Caprioli	15a - 15 d
BIOLOGIA E PATOLOGIA MOLECOLARE	Biologia Molecolare	Prof. Gianfranco Badaracco* Prof.ssa Nicoletta Landsberger Dr. Charlotte Kilstrup-Nielsen Dr. Anna Bergo Dr. Ilaria Bertani Dr. Fabrizio Bolognese Dr. Barbara Conca Dr. Greta Forlani Dr. Greta Greco Dr. Alessia Guarda Dr. Mauro Mengoni Dr. Laura Rusconi Dr. Francesca Saracino	16a – 16c
BIOLOGIA E PATOLOGIA MOLECOLARE	Patologia	Marc Bonapace*	
ZOOLOGIA E PALEONTOLOGIA	Biologia degli invertebrati	Prof. Valvassori Roberto* Prof.ssa Magda de Eguileor Dr. Annalisa Grimaldi Dr. Gianluca Tettamanti Sig. Luisa Guidali Dr. Liliana Rinaldi	18a - 18c
ZOOLOGIA E PALEONTOLOGIA	Paleontologia dei Vertebrati	Prof. Silvio Renesto*	19a

Riassunti delle ricerche svolte

Sezione Ambiente

Unità di Criologia e Climatologia

1a. La ricerca varia dalla climatologia, criologia (studio del ghiaccio), geomorfologia, geologia del quaternario.

In particolare il Gruppo ha attività in ambito Alpino (Valtellina, Valle d'Aosta) e in ambito Polare (Antartide Continentale, Antartide Marittima, Artico).

Tra i principali filoni di ricerca certamente lo studio del Cambiamento Climatico utilizzando il permafrost e lo strato attivo come indicatori climatici e lo studio degli impatti del Cambiamento Climatico sugli ecosistemi vegetali sono i più rilevanti. Secondariamente lo studio del Cambiamento Climatico sulla Vulnerabilità e sul Rischio Idrogeologico e lo studio dei Processi di Alterazione delle Rocce sono altrettanto importanti. Infine in misura minore l'analisi delle morfologia periglaciale e glaciale ed il rilevamento geologico del quaternario in area alpina sono filoni di ricerca del gruppo.

Il Gruppo si avvale di collaborazioni nazionali e internazionali con l'Università di Ferrara (dr. Cannone Nicoletta, Prof. Renato Gerdol per lo studio degli impatti sugli ecosistemi vegetali), con l'Università di Waikato (Nuova Zelanda, Dr. Megan Balks), il British Antarctic Survey (dr. Cynan Ellis Evans, Dr. Roger Worland), l'Istituto Antartico argentino (dr. Jorge Strelin), l'Università di Ottawa (Prof. Hugh French e Prof. Antoni Lewowicz) per lo studio del cambiamento climatico attraverso il permafrost e lo strato attivo.

Per quanto riguarda lo studio dell'alterazione delle rocce è in atto una collaborazione con il Prof. Kevin Hall (Università di Northern British Columbia, Canada) e con il Dr. Andrea Strini dell'Università di Milano.

Per quanto riguarda lo studio del Quaternario è in atto una collaborazione con il Prof. Alfredo Bini dell'Università di Milano.

Tra le altre collaborazioni è da citare quella con l'Università di Milano (Prof. Claudio Smiraglia) sempre per lo studio del Cambiamento Climatico, quella con l'Università di Roma Tre per lo studio del rischio idrogeologico e quella con l'Università di Genova (Prof. Marco Firpo) per lo studio della Geomorfologia periglaciale relitta.

Environmental Modeling Group

2a . Modelling approaches to study the efficacy of buffer strips in reducing surface water contamination of pesticides

Di Guardo, A.¹, Infantino, A.¹, Nizzetto, L.¹, Miano, L.¹, Gaion, A.¹, Zanovello, A.¹, Vianello, M.², Otto, S.², Zanin, G.²

1. University of Insubria; 2, University of Padova

Pesticides represent a potential ecological risk when they escape from agriculture soils and contaminate surface water. Many approaches can be employed to reduce the risk. Buffer Strips are areas of land which can act as filters, retarding or blocking the travel of pesticides towards surface waters and may be characterized by the presence of different vegetation types and composition. Generally, only a qualitative perception of the buffer strips efficacy is available since quantitative modelling approaches that describe the capability of buffer strips to reduce the surface water contamination cannot be found. For this reason we developed a sub-model, derived from the SoilFug model, in order to describe the buffer strips ability to influence the pesticides distribution and their movement across the soil. The parameters of the buffer strips were defined in field experiments conducted in Legnaro (Padova). Some herbicides (metolachlor, terbutylazine and

pendimethalin) were employed since they represent chemicals with different mobility among the herbicides used in the area.

2b . PCBS and HCB in italian mountain air: the influence of altitude and forest ecosystem type

Nizzetto, L.¹, Jaward, F.², Jones, K. C.², Di Guardo, A.¹

1. University of Insubria; 2, Lancaster University, UK

Passive air samplers (polyurethane foam disks) were deployed on an altitude transect in the rural Italian Alps, to investigate the potential influence of forest cover on air concentrations. Samplers were exposed over two periods, each of several weeks, either in clearings or in forests. In the first period there was high leaf coverage (high leaf area index –LAI), in the second the LAI was low after the autumnal leaf fall. PCBs sequestered in the PUF generally declined with altitude; in the clearings PCBs-28, 52, 90/101, 118 and 138 all showed statistically significant declines ($p < 0.05$), for example. Ratios of the forest : clearing concentrations were calculated; this ratio expresses the ‘filtering ability’ of forests to deplete air concentrations compared to the adjacent clearings. The ratios were correlated with Koa and the slopes of the correlations were comparable for broadleaf or coniferous forests at different altitudes, suggesting that leaf surfaces determine the exchanges with air. Leaves of dominant plant species in each forest site were also measured for PCBs and in field derived BCF were also calculated.

2c. Development of a bioaccumulation dynamic model to study the ddt contamination of aquatic organisms

Infantino, A.¹, Volta, P.¹, Borgå, K.², Bettinetti, R.¹, Di Guardo, A.¹

1. University of Insubria; 2, NILU, Norway.

Many modelling approaches are available to estimate organic chemicals bioaccumulation in aquatic organisms. They can usually simulate a steady-state situation, where water and food concentrations are constant. These models are not usually adequate to describe dynamic conditions, for example when the emissions are episodic or there are important scenario changes, such as seasonal variations (temperature, primary productivity, etc.). For this reason, it is necessary to develop a dynamic bioaccumulation model capable to simulate a time variable scenario, such as that of the recent DDT contamination of Lake Maggiore (Italy), characterized from discontinuous discharge. This work presents a dynamic bioaccumulation model written in unsteady-state terms, starting from the grounds of the steady-state fugacity bioaccumulation models. The dynamic model, “Single Fish”, considers the different life stages of a fish, and temporal changes in biological parameters such as diet composition, lipid fraction, and growth rate, and environmental conditions such as water and food concentrations, when predicting bioaccumulation of chemicals in fish. To test the model, results were compared to observed DDT concentration of some coregonid fishes of different age caught in Lake Maggiore to evaluate the exposure dynamics.

Unità di Ecologia vegetale e fitogeografia

Unità di Immunologia comparata e parassitologia

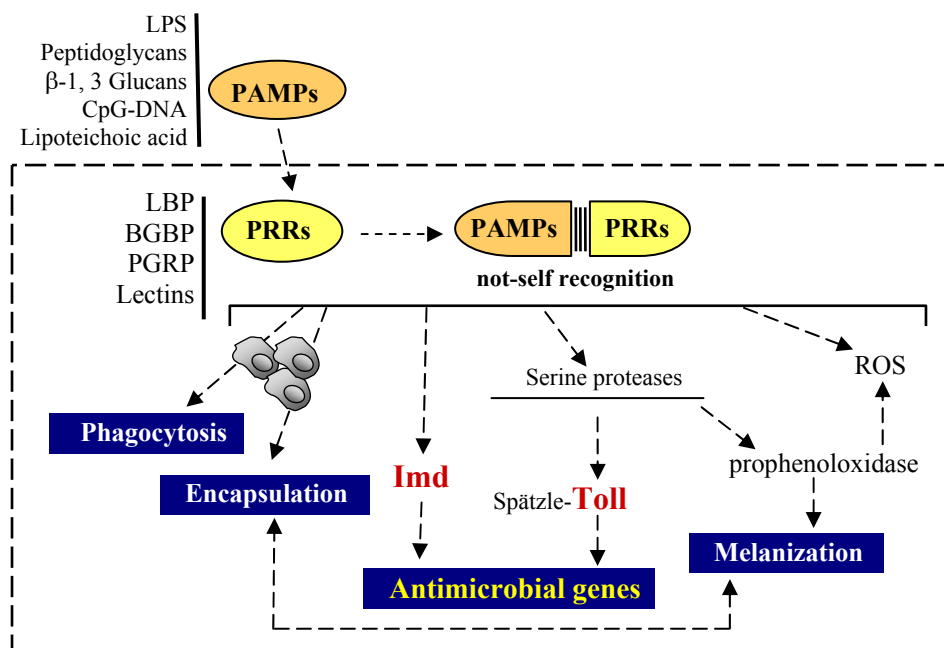
4a. Modulazione ed attività delle vie intracellulari TOLL e IMD, elementi chiave della risposta immunitaria innata, studiate in organismi modello.

Il riconoscimento molecolare è alla base di diversi processi biologici ed in particolare di quelli relativi alla difesa immunitaria, obiettivo del nostro laboratorio è la

comprensione dei processi tipici dell'immunità innata, in particolare, di quelle fasi discriminative basate sull'interazione tra recettori (PRRs: *pattern-recognition receptors*) di organismi ospite e molecole associate a patogeni (PAMPs: *pathogen-associated molecular patterns*).

La presenza di recettori specifici per il *non self* e la loro *funzionalità* biologica sono essenziali per l'innescò dei meccanismi di difesa immunitaria, in particolare, alcune vie di trasduzione del segnale (TOLL e IMD), conosciute come principali *pathways* di innescò di immunogeni coinvolti, sia nella risposta infiammatoria, che nella produzione di peptidi ad attività antimicrobica (AMPs), sono regolate dalla corretta *percezione* molecolare dei recettori di membrana Toll e PGRP-L/S (Imd receptor), per i loro co-recettori solubili.

I processi di eliminazione del *non self* (processi effettori sia di tipo umorale che cellulare), vengono innescati dalla corretta discriminazione *self-non self* cioè dalla corretta interazione molecolare tra PAMPs e PRRs. Lo schema che segue sintetizza i processi di riconoscimento che inducono i meccanismi effettori dell'immunità innata in *Drosophila* e negli insetti in generale.



Struttura e funzioni, di cellule e molecole attive nelle difese immunitarie di *Drosophila* ed altri insetti, sono un campo d'indagine di grande attualità le cui implicazioni spaziano dalla ricerca di base a quella applicativa; per quanto riguarda la ricerca di base, lo studio dei meccanismi immunitari presenti negli Invertebrati può essere estremamente utile nella comprensione dell'evoluzione della complessità del sistema immunitario dei Vertebrati superiori; dal punto di vista applicativo, il modello biologico (Insetti) utilizzato in questo progetto è significativo, sia dal punto di vista biomedico che biotecnologico; gli insetti rappresentano infatti i più diffusi vettori intermedi di agenti patogeni per l'uomo, studiarne le difese immunitarie può fornire un approccio innovativo al controllo di patologie veicolate da insetti-vettore.

I nostri studi sono quindi principalmente orientati allo studio delle interazioni tra sistema immunitario degli ospiti (insetti) ed organismi entomoparassiti capaci di attuare processi di immunoevasione ed immunodepressione dell'ospite; in particolare attraverso meccanismi di interferenza con i PRRs dell'ospite ed alterando quindi la modulazione delle vie Toll e Imd

Lo scopo di questo studio è finalizzato sia alla la conoscenza di base dei processi immunitari, che lo sviluppo di *tools* applicativi innovativi per applicazioni di carattere biotecnologico (nuovi bioinsetticidi) e biologico-sanitario (controllo dei vettori).

Unità di Ricerca QSAR e Chimica ambientale

5a Sviluppo di modelli QSAR applicati a varie problematiche di inquinamento ambientale.

Nel gruppo di ricerca si applicano diverse metodologie di analisi multivariata (metodi chemiometrici) come PCA (Principal Component Analysis), Cluster, Multidimensional Scaling (MDS), criteri decisionali multipli (MCDM) ecc. e di modellamento quantitativo come regressione lineare multipla (MLR), regressione lineare PLS, reti neurali (in particolare mappe di Kohonen o Self Organizing Map-SOM), e vari metodi di classificazione come CART (Classification And Regression Tree), k-NN (k-Nearest Neighbour), DA (Analisi Discriminante), basati su diverse tipologie di descrittori molecolari teorici, in grado di tradurre in numeri l'informazione insita nella struttura molecolare dei composti organici.

Vengono studiate le strategie più idonee e quindi sviluppati modelli di vario tipo che vengono rigorosamente validati per le loro capacità predittive, già nel corso del loro sviluppo con opportune metodiche messe a punto dal gruppo stesso ed ampiamente divulgate nella letteratura e nei convegni internazionali da Gramatica. I modelli proposti sono quindi in grado di predire, sulla base di un numero relativamente ridotto di informazioni sperimentali già note, diverse proprietà e/o attività, sia per molecole organiche già presenti nell'ambiente, ma per le quali non siano noti dati sperimentali, sia per composti non ancora sintetizzati, quindi ancor prima della loro immissione nell'ambiente stesso.

In particolare i temi più in dettaglio affrontati nell'anno 2005 sono:

5b Previsione su base strutturale-molecolare di bioaccumulo di inquinati organici:

Sono stati sviluppati modelli MLR per il fattore di bioconcentrazione (BCF) nei pesci di un set di molecole organiche di ampia presenza e potenziale pericolosità in ambiente acquatico. I modelli QSAR proposti sono una valida alternativa al coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua ($\log P$), descrittore fino ad ora ampiamente utilizzato per il modellamento del BCF, ma che non consentiva le predittività ottenibili con i nuovi modelli sviluppati.

In modo analogo, è stato anche studiato il fattore di Bioconcentrazione di alcuni dei più comuni inquinanti ambientali (PCB, PAH, aromatici clorurati) in diversi vegetali.

5c. Definizione di un indice di ranking a priori per i PBT (Persistent, Bioaccumulative and Toxic):

E' stato sviluppato e proposto un approccio multivariato basato sulla sola struttura molecolare, quindi indipendente dalla conoscenza *a priori* del comportamento tossicologico e del destino ambientale dei composti organici, come metodo di screening di potenziali PBT (composti Persistenti, Bioaccumulabili e Tossici). I modelli sono stati sviluppati con la regressione MLR sulla base di dati sperimentali di emivita in aria, acqua, suolo e sedimenti, di BCF e di tossicità acquatica acuta per un ampio set di centinaia composti strutturalmente eterogenei. Il miglior modello proposto per la predizione del PBT-index rappresenta uno strumento utile per l'identificazione di nuovi e potenziali PBT anche prima della loro sintesi, essendo basato su descrittori molecolari teorici facilmente calcolabili dal solo grafo molecolare, mentre altri indici già esistenti in letteratura e finora applicati richiedono dati sperimentali come input.

5d. Mutagenesi di Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) adsorbiti sul particolato atmosferico (PM)

L'interesse del gruppo di ricerca, nell'ambito del progetto PRIN04-SITECOS sul particolato atmosferico, è relativo al modellamento a base strutturale-molecolare della tossicità cronica (mutagenesi, cancerogenesi) di sostanze organiche normalmente adsorbite sul PM, in particolare degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) che sono inquinanti ubiquitari presenti nell'aria urbana, noti per essere mutageni e cancerogeni. Sono stati sviluppati modelli MLR predittivi su un set di dati di mutagenicità (test di Ames su *Salmonella typhimurium* - TA100) per nitro-IPA. I modelli sviluppati consentono di identificare *a priori* i composti (anche non ancora isolati) in funzione della loro potenziale mutagenicità ed offrono quindi una valutazione preliminare del rischio associato a questi IPA nei confronti della salute umana.

5e. Previsione della ripartizione suolo-acqua di inquinanti organici non-ionici.

E' stato modellato il coefficiente di ripartizione sul suolo organico (log K_{oc}) di un set ampiamente eterogeneo di oltre seicento composti organici non-ionici. I migliori modelli MLR sono stati sviluppati su un training set molto ridotto di composti (15%) ed hanno una predittività del 78% esternamente verificata sull'85% dei composti noti. Queste prestazioni garantiscono le elevate capacità predittive del modello anche per nuovi composti di varie classi chimiche, in particolare per pesticidi, composti polifunzionali ampiamente utilizzati nel comparto suolo e potenzialmente pericolosi per le acque di falda.

5f. Modellamento dei dati di attività fotodinamica di porfirine (Drug Design)

Sono stati sviluppati modelli QSAR per l'applicazione nel Drug Design su un set di porfirine, sintetizzato dal gruppo del Prof. Banfi e saggiate sperimentalmente per la loro attività fotosensibilizzante su cellule di adenocarcinoma del colon dal gruppo della Prof. Monti.

I modelli ottenuti hanno elevata capacità predittiva e permetteranno di indirizzare la sintesi verso nuove porfirine a maggiore attività fotodinamica.

5g. Validazione di modelli QSAR per l'applicabilità nella nuova regolamentazione europea delle sostanze chimiche (REACH)

Paola Gramatica fa parte della "Task Force" internazionale dell'OECD per la validazione dei modelli QSAR ai fini della loro accettabilità nella regolamentazione internazionale dei prodotti chimici. In tale ambito è da diversi anni impegnata nella pubblicazione di articoli sull'approccio statistico al modellamento QSAR e relativi alle metodologie consigliate per la validazione dei modelli stessi. Viene anche invitata a workshop specifici: nell'anno in corso al JRC di Ispra sulla applicazione delle reti neurali.

5h. Applicazione ambientali di metodi di analisi multivariata (chemiometrici):

- ☒ Per lo studio della distribuzione ambientale di metalli mediante biomonitoraggio con muschi
- ☒ Per lo studio di parametri di sostenibilità ambientale
- ☒ Per l'identificazione degli antibiotici strutturalmente più rappresentativi in un ampio set di antibiotici eterogenei, per indirizzare l'indagine sperimentazione (Experimental Design).

Laboratorio di Microbiologia Ambientale e Molecolare

6a. Degradazione batterica di composti aromatici naturali e di sintesi

I composti aromatici naturali o di sintesi sono inquinanti diffusi sia nelle acque che nel suolo. Mentre alcuni di questi composti vengono rapidamente degradati dai microrganismi presenti nell'ambiente, altri sono estremamente recalcitranti alla biodegradazione. Tra questi ultimi sono ritenuti di particolare interesse gli idrocarburi poliaromatici, per le elevate dimensioni della molecola, e i composti aromatici clorurati, per la stabilità del legame C-Cl. Per isolare nuovi batteri capaci di degradare composti poliaromatici sono state allestite colture di arricchimento addizionate di naftalene, fenantrene, antracene e fluorene, scelti come molecole modello di composti poliaromatici recalcitranti. Da queste colture, inoculate con suolo contaminato da lungo tempo, è stato possibile isolare in coltura pura e identificare mediante analisi del 16S rDNA circa venti ceppi batterici capaci di crescere sui substrati citati. Tra i nuovi isolati, due ceppi, appartenenti al genere *Sphingobium*, sono stati scelti per ulteriori analisi. Entrambi i ceppi crescono su fenantrene, sono capaci di ossidare l'antracene e presentano attività ossigenasiche che potrebbero essere coinvolte nel metabolismo di questi substrati. Attualmente sono in corso l'identificazione degli intermedi catabolici e esperimenti di amplificazione dei geni coinvolti nelle prime fasi dell'ossidazione dei substrati.

Negli anni precedenti, abbiamo isolato il ceppo di *Arthrobacter* sp. FG1 che utilizza l'acido 4-clorobenzoico (4CBA) come unica fonte di carbonio e di energia. Questo composto viene degradato mediante la formazione transiente di acido 4-idrossibenzoico con rilascio stechiometrico di cloro. I geni codificanti per il complesso enzimatico responsabile della reazione di dealogenazione (*fcc*) sono stati isolati mediante PCR, clonati e sequenziati.

L'attività di ricerca è quindi stata focalizzata sulla possibilità di ottenere, mediante ingegneria genetica, ceppi batterici ricombinanti dotati di più ampie capacità cataboliche. A questo scopo i geni *fcc* sono stati clonati in un opportuno vettore shuttle e trasferiti in un ceppo di *Pseudomonas* capace di crescere sull'acido 4-idrossibenzoico. I cloni ricombinanti hanno acquisito la capacità di crescere sull'acido 4-clorobenzoico fornito come unica fonte di carbonio ed energia. La crescita batterica è accompagnata dalla scomparsa dell'acido 4-clorobenzoico e dal concomitante rilascio di cloro, dimostrando che i geni *fcc* di *A. ramosus* FG1 possono essere espressi con successo in *Pseudomonas* permettendo la formazione di una dealogenasi funzionale.

In seguito, il trasferimento dei geni *fcc* in un ceppo di *Pseudomonas* in grado di ossidare parzialmente il 4-clorotoluene ad acido 4-clorobenzoico ha permesso di ottenere ricombinanti capaci di mineralizzare il clorotoluene. Questo dato è particolarmente rilevante in quanto la parziale ossidazione di clorotolueni spesso porta alla formazione di intermedi idrossilati e clorurati che risultano tossici per il microrganismo; l'introduzione dei geni *fcc* in ospiti eterologhi può quindi permettere di allontanare il cloro in una fase precoce della via catabolica, evitando la formazione di intermedi tossici e facilitando la degradazione di idrocarburi cloroaromatici.

6b. Sviluppo di un biocatalizzatore basato sulla toluene-o-xilene monoossigenasi (ToMO) (in collaborazione con il gruppo del Prof. Banfi)

Negli ultimi anni l'attenzione per le problematiche ambientali ha dato un notevole impulso allo sviluppo di bioprocessi in alternativa alla sintesi chimica. In particolare, nella sintesi organica, l'aggiunta di gruppi contenente ossigeno a molecole aromatiche richiede l'uso di ossidanti in presenza di catalizzatori metallici o metalloorganici costosi ed inquinanti, inoltre spesso si ottengono miscele di più prodotti la cui purificazione richiede un ulteriore dispendio economico. Una valida alternativa a questo approccio può essere cercata nel

patrimonio metabolico di alcuni microrganismi che possiedono enzimi capaci di introdurre ossigeno molecolare (ossigenasi) sui substrati.

Il nostro gruppo, che in passato ha caratterizzato dal punto di vista molecolare e biochimico la toluene-o-xilene monoossigenasi di *Pseudomonas* sp. OX1, ha puntato l'attenzione sull'utilizzo di tale complesso multienzimatico come sistema di biotrasformazione. I geni codificanti per la ToMO sono stati clonati in un vettore di espressione per *E. coli* e sono state studiate le condizioni per massimizzare le rese di biotrasformazione utilizzando come substrato di riferimento sia il substrato generico indolo che il substrato naturale toluene. Le condizioni di biotrasformazione così determinate sono in seguito state applicate a un pannello di composti aromatici o eterociclici non specifici di ToMO per verificare se venissero riconosciuti e idrossilati da questo enzima. Mediante TLC è stato possibile rilevare nelle miscele di reazione la presenza di prodotti di biotrasformazione di alcuni composti con struttura simile all'indolo, come indene, chinolina, indolina e benzofurano, e di un composto monoaromatico (anisolo); la determinazione della struttura chimica dei prodotti di reazione è attualmente in corso. Per 2,6-dimetilnaftalene, bibenzile, 1,2,3-trimetossibenzene, 1,1-difeniletilene e 2-etilnaftalene non è invece stato possibile mettere in evidenza la presenza di prodotti di biotrasformazione. Sono in corso indagini volte a determinare se questi substrati non vengano modificati dall'enzima o se la resa di trasformazione sia così scarsa da non permettere di evidenziare gli eventuali prodotti con la tecnica utilizzata.

6c. Attività antibatterica di fotosensibilizzanti porfirinici. (in collaborazione con il gruppo del Prof. Banfi)

La Chemioterapia Fotodinamica Antimicrobica (PACT) prevede l'impiego di luce a specifiche lunghezze d'onda, in combinazione con fotosensibilizzanti (PS), in modo da indurre una reazione fototossica del tutto simile a quella presente nella terapia fotodinamica dei tumori (PDT). Recentemente si stanno ottenendo risultati molto promettenti in diversi campi applicativi, da quello clinico (infezioni localizzate) a quello ambientale (sterilizzazione di acque con PS legati a superfici stazionarie).

In questo studio abbiamo testato l'efficacia di sette PS porfirinici (due commerciali e cinque di nuova sintesi) nel determinare letalità in cellule planctoniche di *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Abbiamo verificato che tutti i derivati porfirinici cationici di nuova sintesi sono più efficaci dei composti commerciali, determinando abbattimenti della carica batterica compresi tra le 5 e le 7 unità log per tutti i microrganismi testati. Al contrario, l'unico composto non ionico saggiato è risultato essere il meno attivo. In accordo con quanto riportato in letteratura, il Gram positivo *S. aureus* si è dimostrato, tra i microrganismi testati, il più sensibile al trattamento fotodinamico. Il Gram negativo *P. aeruginosa* si è invece rivelato particolarmente resistente al trattamento con tutti i PS testati: in linea generale sono necessarie concentrazioni di PS circa 10 volte maggiori di quelle utilizzate per la fotoinattivazione di *E. coli*. Particolarmente efficiente contro *P. aeruginosa* si è rivelato uno dei composti di nuova sintesi [5,15-di-(4-metossibenzil)-10,20-piridil porfirina dicloruro] che, alla concentrazione di 7.3 μM , determina un decremento di cellule vitali di 7 unità log, mentre concentrazioni 6 volte maggiori dei PS commerciali provocano decrementi compresi tra le 2 e le 3 unità log.

Unità di Chimica inorganica e Scienze Ambientali

7a. Sintesi di derivati di rodio in basso stato di ossidazione analoghi del cis-platino.

Sintesi, caratterizzazione ed eventuale applicazione di composti bio-inorganici derivanti dall'interazione di particolari molecole di rodio (in basso stato di ossidazione) con molecole di origine biologica, nello specifico le nucleobasi. Obiettivo della ricerca è uno screening della

reattività di varie molecole inorganiche, con lo scopo di riuscire ad individuare ed eventualmente caratterizzare specie analoghe al cis-platino, prototipo di tutta una serie di farmaci antitumorali.

7b. Rilevamento Ambientale di Metalli Rari in Tracce

Messa a punto e ottimizzazione di metodiche di analisi, applicabili in modo specifico a diversi comparti ambientali, per il rilevamento di tracce di metalli. In particolare si intende evidenziare l'eventuale presenza di metalli rari rilasciati dai catalizzatori automobilistici (rodio, palladio, platino).

Sezione Farmacologia

Unità di Chimica organica

8a. Sintesi di nuovi fotocatalizzatori ed attività su cellule tumorali: approccio alla terapia fotodinamica dei tumori

La terapia fotodinamica (PDT) applicata ai tumori è un'importante alternativa alle classiche cure antitumorali, che basa il suo effetto sulla contemporanea presenza di tre elementi: un fotosensibilizzante (*PS*), l'ossigeno ed un fascio di luce ad opportuna lunghezza d'onda ed intensità. In seguito all'effetto della luce, il *PS* assorbe energia e passa in uno stato eccitato; il ritorno allo stato fondamentale avviene per trasferimento dell'energia all'ossigeno molecolare che genera delle specie radicaliche dell'ossigeno (ROS) capaci a loro volta di ossidare ogni tipo di molecola che si trovi a breve distanza dal centro dove è stato generato. In questo modo, solo i tessuti che contengono il fotosensibilizzante e che sono opportunamente irradiati vengono distrutti dall'azione combinata della luce e del catalizzatore.

Nel laboratorio di chimica organica ci siamo occupati della sintesi di una vasta serie di fotosensibilizzanti quali le tetraaril- e diaril-porfirine, clorine e ftalocianine; la loro attività come fotosensibilizzanti è valutata, in collaborazione con il gruppo di farmacologia del dipartimento (Prof E. Monti), *in vitro*, su cellule HCT116 e sulle HCT116E6.

Alcune delle nuove sostanze da noi isolate e caratterizzate sono risultate molto più attive rispetto a molecole attualmente usate in clinica contro i tumori.

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

Il largo numero di molecole sintetizzate e testate *in vitro* ha permesso anche un approccio QSAR per lo studio della relazione tra la struttura e l'attività di queste molecole, svolto in collaborazione con il gruppo della prof P. Gramatica.

8b. Attività antibatterica dei fotosensibilizzanti porfirinici

In collaborazione con il gruppo della prof. P. Barbieri (microbiologia) abbiamo studiato l'effetto antibatterico di alcune tetraarilporfirine ioniche contro batteri sia Gram-negativi (*E. coli*, *P. aeruginosa*) che Gram positivi (*S. Aureus*), in seguito ad illuminazione di colture batteriche trattate con concentrazioni micro-molari di fotosensibilizzanti.

Risultati promettenti sono stati ottenuti confrontando i valori di abbattimento delle CFU ottenuti con le molecole originali di nuova sintesi da noi isolate rispetto a PS commerciali, in particolare una porfirina dicationica è risultata particolarmente attiva contro

P. aeruginosa, un batterio considerato particolarmente resistente ed infestante anche negli ospedali.

Recenti studi hanno dimostrato che anche biofilms batterici vengono attaccati e demoliti da questa azione antibatterica dovuta alla combinazione di luce bianca e fotosensibilizzante.

8c. Studi dell'interazione tra tetraaril e diaril-porfirine con emoglobina via spettroscopia UV-visibile.

Questo studio è svolto in collaborazione con il gruppo del prof. M. Fasano (DBSF - sede di Busto Arsizio). La capacità di binding delle tetraaril - e diaril-porfirine con l'emoglobina può essere valutata sia con la spettroscopia nella regione del visibile. Questo studio è particolarmente interessante perché l'attività di tali molecole come fotosensibilizzanti è strettamente collegata alla loro capacità di penetrazione nelle cellule ed è noto che possono essere veicolate attraverso il binding con proteine del tipo LDL. Siccome non è chiaro l'effetto dell'emoglobina, la più abbondante proteina presente nel siero, che può agire sia da sequestrante che da veicolante per i fotosensibilizzanti del tipo sopra citato, è quindi interessante capire se esiste una relazione tra le capacità di binding tra PS ed emoglobina e l'attività fotocitotossica riscontrata in seguito ad illuminazione.

8d. Sintesi di nuove molecole contenenti residui di molecole naturali.

Questo studio è svolto in collaborazione con il prof. G. Nasini del Politecnico di Milano.

Le conoscenze di sintesi di sistemi porfirinici del nostro gruppo e le conoscenze del gruppo di Milano su sistemi naturali tipo Emodina ed Ipericina sono unite nel tentativo di sintetizzare molecole con attività fotosensibilizzante che dovrebbe essere esaltata dalla presenza di pendagli contenenti le sostanze naturali sopra citate.

Diverse molecole ibride con pendagli di Emodina legati alla struttura di tetraaril-porfirine sono state sintetizzate e la loro attività è stata valutata in vitro sulle cellule HCT 116. Più recentemente anche due fotosensibilizzanti ibridi Porfirina/Ipericina sono stati sintetizzati e testati nello stesso modo. Quest'ultimi sono risultati molto più attivi dei derivati con l'Emodina ed oggi sono allo studio per valutare meglio la distribuzione intracellulare, la tossicità intrinseca ed la loro capacità di portare alla morte cellulare per apoptosi piuttosto che per necrosi.

8e. Studio dei prodotti di ossidazione con il sistema enzimatico della toluene, o-xilene monoossigenasi (ToMO). (in collaborazione con il gruppo della Prof.ssa Barbieri)

In alcuni casi catalizzatori enzimatici (ossigenasi), isolati da ceppi batterici, possono essere una valida alternativa ai comuni processi chimici perché evita l'uso di catalizzatori metallici e di condizioni di reazione drastiche.

Il gruppo di microbiologia del DBSF ha puntato l'attenzione sull'utilizzo della toluene-o-xilene monoossigenasi di *Pseudomonas* sp. OX1, come sistema di biotrasformazione. I geni codificanti per la ToMO sono stati clonati in un vettore di espressione per *E. coli* e sono state studiate le condizioni per massimizzare le rese di biotrasformazione utilizzando come substrato di riferimento sia il substrato generico indolo che il substrato naturale toluene. Le condizioni di biotrasformazione così determinate sono in seguito state applicate a un pannello di composti aromatici o eterociclici non specifici di ToMO per verificare se venissero riconosciuti e idrossilati da questo enzima.

Mediante tecniche cromatografiche analitiche (TLC) è stato possibile rilevare nelle miscele di reazione la presenza di prodotti di biotrasformazione di alcuni composti con struttura simile all'indolo, come indene, chinolina, indolina e benzofurano, e di un composto monoaromatico (anisolo); la determinazione della struttura chimica dei prodotti

di reazione è attualmente in corso. Altri substrati non sono stati trasformati dalla quindi sono in corso indagini volte a determinare se questi substrati non vengano modificati dall'enzima perché di dimensioni non adatte per entrare nel sito attivo dell'enzima oppure se la trasformazione è così lenta da rendere ardua la determinazione di tracce di prodotti di ossidazione.

Unità di Farmacologia

9a. Photodynamic effects of novel photosensitizers in human adenocarcinoma cells.

Elena Monti, Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza, Stefano Banfi, Enrico Caruso, Loredana Buccafurni

¹Gruppo di Farmacologia; ²Gruppo di Chimica Organica

Photodynamic therapy (PDT) of cancer is based on tumor-specific accumulation of a photosensitizer, followed by irradiation with light of appropriate wavelength, which induces cell death. Photosensitizer currently used in the clinic have afforded some success in the treatment of lung, esophageal, cervical, bladder and gastric tumors, but present with a number of limitations. Therefore, synthesis and characterization of novel photosensitizers with higher increased photon absorption at longer wavelengths, improved tissue retention, rapid clearance from surrounding normal tissues, high quantum yield of reactive oxygen species, and minimal toxicity in the dark represent areas of active research. In this study we evaluated the photo-toxic activity of a number of di- and tetra-aryl substituted porphyrine derivatives, synthesized in our laboratory, to identify new photosensitizers suitable for PDT. Their effects were assessed in the human colon carcinoma cell line HCT116 and the results compared with those obtained with Photofrin and with a trihydroxy-phenyl-chlorin derivative, both approved for clinical use.

Cytotoxicity studies showed that some of the 5,15-diaryl compounds are more effective than both 5,10,15,20-tetraarylporphyrines and reference compounds. None of the compounds tested exhibited significant toxicity in the dark. Flow cytometric analysis of HCT116 cells treated with the more active compounds in the panel showed a relevant increase in apoptotic cell death; this effect was associated with a significant increase in peroxides levels and cell cycle alterations. Taken together, our observations suggest that the new di-aryl derivatives included in this study could represent a promising alternative to the photosensitizers already used in cancer therapy.

9b. Role of stat-3 in the response of human breast carcinoma cells to doxorubicin.

Elena Monti, Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza. Sez. Farmacologia, Gruppo di Farmacologia

Signal transducer and activator of transcription (STAT)-3 is reported to play a role in oncogenic transformation and to be constitutively activated in a number of malignancies. Interestingly, some of the genes modulated by STAT3 encode antiapoptotic factors (Bcl-x_L, Bcl-2), suggesting an involvement of STAT3 in drug resistance. In the present study, we evaluated (a) whether the response of human breast cancer cells (HBCCs) to the cytotoxic agent doxorubicin (DOX) is affected by STAT3 activation; and (b) whether STAT3 downregulation can sensitize HBCCs to the action of this drug. STAT3 protein levels (both in baseline conditions and following DOX treatment) were determined by immunoblotting in four HBCC lines (MCF-7, SK-BR1, MDA-MB-231 and MDA-MB-468); STAT-3 activation was determined by measuring the phosphorylation state of the protein and its nucleocytoplasmic ratio. Our results indicate that DOX cytotoxicity seems to be inversely

related to the ability of the different HBCCs to upregulate STAT3 following treatment, indicating that STAT-3 activation could be an early response to drug treatment, aimed at promoting cell survival and resistance. When such activation was prevented, the response to DOX was potentiated in some HBCC. Thus we conclude that downregulation of STAT-3 could represent a novel approach to HBCC chemosensitization to DOX.

9c. L'inibizione di igf-ir modula l'espressione e l'attività di hif-1 α e aumenta la tossicità della temozolomide in cellule di glioblastoma.

Elena Monti, Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza. Sez. Farmacologia, Gruppo di Farmacologia

Il glioblastoma multiforme (GBM) rappresenta la forma più aggressiva di neoplasia del sistema nervoso centrale, il cui carattere altamente infiltrante, che ne rende impossibile la completa resezione chirurgica e la cui refrattarietà alla radio e alla chemioterapia determinano una prognosi estremamente sfavorevole. Una delle caratteristiche che rende i glioblastomi così insidiosi e resistenti alle terapie è la frequente presenza di regioni ipossiche all'interno della massa tumorale; l'adattamento all'ipossia è considerato uno dei maggiori determinanti del comportamento aggressivo di questo tipo di tumore e della sua scarsa risposta alla radio e alla chemioterapia.

HIF-1 (Hypoxia-inducible factor-1) gioca un ruolo fondamentale nella regolazione delle modificazioni cellulari indotte dall'ipossia; perciò la modulazione della funzione di HIF-1 α potrebbe rappresentare una strategia per il controllo di tumori ipossici, quali i glioblastomi, e per la loro sensibilizzazione nei confronti delle terapie convenzionali. La funzione di HIF-1 dipende dalla disponibilità della sua subunità inducibile, HIF-1 α , che è regolata da meccanismi dipendenti o meno dall'ossigeno. Recentemente è stato riportato che IGFs (Insulin-like Growth Factors) sono in grado di aumentare i livelli di HIF-1 α in condizioni di normossia e di ipossia. In questo lavoro abbiamo studiato gli effetti dell'inibizione del recettore IGF di tipo I (IGF-IR) sull'espressione e sulla funzione di HIF-1 α , sulla sopravvivenza cellulare e sulla risposta alla temozolomide (TMZ), uno dei pochi agenti chemioterapici attivi sui glioblastomi, in una linea cellulare di glioblastoma umano, le cellule U87MG. I nostri risultati indicano che: a) le cellule U87MG esprimono in modo costitutivo la forma attiva di IGF-IR; b) l'inibizione di IGF-IR da parte di un derivato pirrolo[2,3-d]pirimidinico, NVP-ADW541 diminuisce i livelli proteici di HIF-1 α e la sua attività trascrizionale in condizioni normossiche e ancor di più in condizioni ipossiche; c) NVP-AEW541 inibisce il rilascio di VEGF, il prodotto del principale bersaglio genico di HIF-1 e d) NVP-AEW541 inibisce la crescita delle cellule U87MG ed esercita un effetto sinergico quando combinato con concentrazioni citotossiche di TMZ. Ulteriori indagini sono in corso al fine di valutare l'effetto chemosensibilizzante del blocco del recettore IGF-IR.

9d. Effetto del nitrossido tempol sulla resistenza di cellule di adenocarcinoma mammario con fenotipo mdr alla doxorubicina.

Elena Monti, Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza. Sez. Farmacologia, Gruppo di Farmacologia

Lo sviluppo di un fenotipo multidrug-resistant (MDR) rappresenta uno dei principali ostacoli al successo del trattamento di numerose neoplasie con un ampio spettro di agenti chemioterapici non correlati strutturalmente, incluse le antracicline. Il presente studio è stato realizzato allo scopo di valutare gli effetti del Tempol, un nitrossido piperidinico in grado di inibire la crescita di diverse linee cellulari tumorali, incluse alcune varianti MDR,

su una serie di meccanismi molecolari coinvolti nella resistenza di linee cellulari di adenocarcinoma della mammella alla doxorubicina (DOX).

Gli studi di citotossicità sono stati effettuati mediante test MTT sulle cellule MCF7/WT e sulla loro variante MDR, le cellule MCF7/ADR^R. L'analisi dei risultati ha evidenziato un effetto sinergico tra TPL e DOX, più evidente nelle cellule MCF7/ADR^R. Questo effetto del TPL sembra essere dovuto in parte alla sua capacità di depletare il GSH e di aumentare i livelli di perossidi intracellulari. Inoltre, il trattamento per 24 ore con il TPL è in grado di aumentare l'accumulo della DOX nelle cellule MCF7/ADR^R mediante competizione con la DOX per il legame alla P-glicoproteina, come evidenziato usando uno specifico anticorpo diretto verso la forma attiva della proteina; invece MRP non sembra essere coinvolta nell'effetto del nitrossido su queste cellule. Il TPL è anche in grado di alterare l'espressione di proteine coinvolte nella risposta apoptotica al trattamento farmacologico (ad esempio p53, bcl-2, bax, p21). Nel loro complesso, i nostri risultati indicano il TPL come un potenziale nuovo agente che potrebbe migliorare gli effetti clinici della DOX in tumori che mostrano un fenotipo resistente.

9e. Cytotoxicity of platinum(ii) conjugate models. The effect of chelating arms and leaving groups on cytotoxicity: a qsar approach.

Elena Monti, Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza. Sez. Farmacologia, Gruppo di Farmacologia

A set of thirteen diamine-platinum(II) complexes have been synthesized ex novo or re-synthesized and characterized, and their cytotoxic activity (IC₅₀) tested on parental and resistant ovarian cancer cell lines. The three clinically employed drugs, namely cisplatin, carboplatin and oxaliplatin, have been also investigated as reference compounds. The whole set of sixteen complexes was characterized with 197 molecular descriptors and the best regression models relating a subset of these descriptors to the pIC₅₀ on the two cell lines were calculated. Very good predicting ability $Q^2_{LMO-50\%} \geq 85.6\%$ was obtained for models with four variables leaving out 50% of the molecules in the test set for the cross validation. Also the resistance index RI could be effectively predicted by a four variables regression model $Q^2_{LMO-50\%} = 84.4\%$.

9f. Overcoming position effects: a comparative analysis of lentiviral vectors carrying multiple genes

Daniela Osti, Emanuela Marras, Greta Grassini, Isabella Ceriani and Gianpaolo Perletti.

Sez. Farmacologia, Gruppo di Tossicologia

HIV-1 derived lentiviral vectors are powerful tools for gene transfer, due to their ability to mediate efficient delivery, integration and stable long-term expression of transgenes in dividing as well as non-dividing cells, either *in vitro* and *in vivo*. Lentiviral vectors have been optimised so far for the expression of a single open reading frame. However, since in many situations it is essential to express multiple proteins in single target cells, we have engineered lentiviral vectors that simultaneously express several genes of interest. A major obstacle to optimal coexpression of two or more genes in a lentiviral vector is often poor expression of one of them. Generally, the expression efficiency decreases as we move from the first transgene in the 5' end of the construct to the last one in the 3' end; thus, gene or genes subcloned at the 3'-end of the first transgene are usually poorly expressed. This phenomenon, generally referred to as "positional effect", may be due to a variety of causes, including transcriptional interference and readthrough phenomena. Our research focused on the description and comparison of three different strategies for coexpressing two genes from a lentiviral vector. In particular, to ensure overexpression of both the Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH), chosen as a medium-size model gene, and the EGFP reporter gene, we have generated three different constructs: (i) the pWPT/FAAH/GFP

vector, in which the FAAH and EGFP cDNAs are placed under the transcriptional control of two different internal promoters, human EF1alpha and SV40 respectively; (ii) the pWPT/FAAH/IRES/GFP bicistronic vector, in which the FAAH and EGFP cDNAs are placed under the transcriptional control of the EF1alpha promoter and are independently translated from a single mRNA thanks to an *Encephalomyocarditis Virus* internal ribosome entry sequence (IRES), separating the two transgenes; (iii) the pWPT/FAAH/HS4/GFP vector, in which the FAAH and EGFP cDNAs are separated by the chromatin insulator 5'HS4 of the chicken beta-globin locus into two independently-acting domains. Each transfer vector (pWPT/GFP, pWPT/FAAH/GFP, pWPT/FAAH/IRES/GFP and pWPT/FAAH/HS4/GFP) was cotransfected with the pMD.2G VSV-G "envelope" vector and the "packaging" construct pCMVDR8.74 into human embryo kidney 293FT cells to produce replication-incompetent, VSV-pseudotyped lentiviral particles. High titre lentiviral particles were thus obtained for *in vitro* gene transfer experiments. C6 rat glioma cells transduced with the above described vectors showed a significant overexpression of FAAH, and no remarkable differences at the protein level were observed between the three constructs. With respect to expression of the EGFP transgene, the pWPT/FAAH/HS4/GFP construct ensured higher expression of this reporter gene, when compared both to the pWPT/FAAH/GFP and the bicistronic, IRES-based plasmid. The latter was characterized by the lowest GFP expression levels. Taken together, these results indicate that (i) all three constructs displayed similar titre and infectivity, and coexpressed the transgenes of interest, (ii) the presence of the HS4 insulator was efficient in attenuating positional effects and ensured the highest expression levels of the downstream transgene; (iii) the capacity of IRES-dependent downstream gene expression was shown to be significantly lower than that of cap-dependent first gene-expression.

9g. P53 is a key effector of tumor suppressor pkcδ in human colon cancer cells.

Gianpaolo Perletti, Emanuela Marras, Daniela Osti, Isabella Ceriani

Sez. Farmacologia, Gruppo di Tossicologia

We have previously demonstrated that the delta isoform of Protein Kinase C (PKCδ) acts as a suppressor of growth and neoplastic phenotype of HCT116 human colon cancer cells, both *in vitro* and *in vivo*. 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 PKCδ. Moreover, PKCδ is ineffective either in HCT116/p21^{null} cells, or in HCT116 cells in which the p53 protein is disrupted by the human papillomavirus E6 protein via the ubiquitin-proteasome pathway.

To confirm the evidence that p53 is a downstream effector of PKCδ, we overexpressed PKCδ in HCT116 cells displaying homozygous knockout of p53. Interestingly, PKCδ-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. Thus, knockout of p53 renders HCT116 human colon cancer cells unresponsive to PKCδ overexpression. When a cDNA encoding p53 was co-transfected with a PKCδ construct into HCT116/p53^{null} cells, suppression of tumor cell growth and reversion of transformation parameters were observed. Interestingly, these effects were not observed when PKC was downregulated in HCT116/p53^{null} cells by continuous exposure to 100 nm phorbol 12-myristate 13-acetate. Therefore, reconstitution of p53 expression renders HCT116 cells fully responsive to PKCδ. To further investigate the role of p53 in PKCδ-induced tumor suppression, we overexpressed PKCδ in the HT29 human colon cancer cell line, characterized by the Arg273His inactivating mutation in the p53 gene. This line was found to be resistant to the

activity of PKC δ , but resistance could be circumvented by overexpression of a wild-type human p53 cDNA. Thus, our data suggest that functional, wild-type p53 is an essential effector of PKC δ in human colon cancer cells.

9h. Polymorphisms in non homologous end-joining genes associated with breast cancer risk and chromosomal radiosensitivity.

P. Willems, K. Claes, A. Baeyens, K. De Ruyck, R. Van Den Broecke, A. Makar, G. Perletti*, g. Grassini*, I. Ceriani*, E. Marras*, H. Thierens and A. Vral.

* Sez. Farmacologia, Gruppo di Tossicologia

Enhanced chromosomal radiosensitivity has been observed in a significant number of breast cancer patients. Since ionising radiation induces double-strand breaks (DSB), polymorphisms in DSB repair genes could be involved in genetic predisposition to breast cancer. Non homologous end-joining (NHEJ) is the major DSB repair pathway in mammalian cells.

We investigated the associating of 6 single nucleotide polymorphisms (SNP) in NHEJ repair genes (Ku70, Ku80, DNA-PK and XRCC4) with breast cancer in a population-based case-control setting. The population of breast cancer patients was composed of a group of 60 familial patients and another group of 90 non-selected patients. The association between a particular SNP and breast cancer predisposition was estimated by comparing both groups to a matched population of healthy controls and calculating the odds ratio (OR) with its 95% confidence interval (95% CI). Of the 6 SNP examined, 2 showed positive results. The OR of C-61G in Ku70 in the familial patients was significantly higher than 1 (OR=2.53; 95% CI: 1.22; 5.24) which indicates a positive relation between the presence of the SNP and familial breast cancer. The OR of the unselected patients was 1.59 (0.81,3.12) indicating an analogue association but the statistical significance of the OR disappeared. In Ku80, G69506A showed similar results. The unselected patients had an OR of 2.14 (1.01,4.54) which was borderline significant while the familial patients demonstrated a higher, significant OR of 3,35 (1.68,6.68).

The chromosomal radiosensitivity of both patient populations also was investigated by our research group. The increased chromosomal radiosensitivity observed in breast cancer patients was more pronounced in the group of familial patients compared to the group of unselected patients (61% vs. 26% with low dose rate micronucleus assay; 45% vs. 35% with G2 assay). These results point to a possible relationship between the presence of the variant risk alleles, breast cancer incidence and chromosomal radiosensitivity.

We have ascertained that the single-base mutations causing the studied polymorphisms are located into specific intronic regions of the KU70 and KU80 genes. In particular, KU80 G69506A is located within the 19th intron of the gene, whereas the KU70 C61G allelic variant is found within the D15Wsu75e gene, in a region flanking KU70. Research is in progress to investigate the functional relevance of such mutations.

Unità di Neuropsicofarmacologia

10a. Role of the ras/erk pathway in the cb1 receptor trafficking following chronic cannabinoid exposure

Parolaro D., Rubino T., Vigano D., Premoli F.

We have recently demonstrated through genetical (Ras-GRF1 knock out mice) and pharmacological (SL327 pretreatment) approaches that ERK activation may play different roles in the events triggered by prolonged delta9-tetrahydrocannabinol (THC) exposure depending on the brain region considered. In the caudate putamen and cerebellum ERK activation could account for CB1 receptor downregulation and desensitization, events

likely to be involved in the development of tolerance to the THC hypolocomotor effect. In the hippocampus and prefrontal cortex other kinases might explain CB1 receptor adaptation after chronic treatment. In these regions ERK activation could be involved in events not closely linked to CB1 receptor activation but relevant for the synaptic plasticity associated with persistent drug exposure. A further step of the research was to determine the role of G protein coupled receptor kinases and beta arrestins in agonist induced CB1 receptor modulation during cannabinoid tolerance, and their dependence from the ERK cascade. In wild-type mice chronic THC exposure significantly activated specific GRK and beta-arrestin subunits in all the considered brain areas (striatum, cerebellum, hippocampus and prefrontal cortex), suggesting their involvement in the adaptive processes underlying CB1 receptor downregulation and desensitization. These events were ERK-dependent in the striatum and cerebellum, since they were prevented in the genetic (Ras-GRF1 knockout mice) and pharmacological (SL327 pretreated mice) models of ERK activation inhibition, whereas in the hippocampus and prefrontal cortex they appeared to be mostly ERK-independent. In these latter areas ERK activation after chronic THC increased the transcription factors CREB and Fos B and a downstream protein, BDNF. As a whole, our data suggest that in the striatum and cerebellum THC-induced ERK activation could represent a key signalling event to initiate homologous desensitization of CB1 receptor, accounting for the development of tolerance to THC-induced hypolocomotion. In the prefrontal cortex and hippocampus THC-induced GRKs and beta-arrestins alteration mostly depends on other kinases, whereas ERK activation could be part of the molecular adaptations underlying the complex behavioural phenotype that defines the addicted state.

10b. Role of the cannabinoid system in the modulation of anxious states

Rubino T., Castiglioni C., Parolaro D.

The role of cannabinoids in the modulation of anxious state is still a matter of controversy. In humans cannabis use could promote either relaxation and euphoria, thus relieving anxious state, or anxiety and panic attacks, depending on subjects, and, within the same subject, on the emotional state prior the use. Similarly, animal experiments with different cannabinoid agonists revealed both anxiolytic-like and anxiogenic-like responses depending on the doses and the familiarity of the environment. Moreover the role of endocannabinoids in animal models of anxiety has not been extensively investigated and the opposing results obtained have not helped to clarify the issue of whether endocannabinoids tonically enhance or reduce anxious behaviour. We investigated the effect of low doses of peripheral delta9-tetrahydrocannabinol (THC) on anxiety behaviour in rats using the elevated plus maze (EPM). An anxiolytic effect was obtained in a range of doses between 0.075 and 1.5 mg/kg, the 0.75 dose being the maximal effective. The pretreatment with the AM251 fully reversed THC effect, suggesting the involvement of CB1 receptors. In order to elucidate the neuroanatomical substrates underlying the effect of the maximal effective dose of THC, we investigated cFos expression in anxiety-related brain regions (prefrontal cortex, nucleus accumbens, amygdala and hippocampus) of rats exposed to the EPM. THC treatment significantly decreased cFos amounts in the prefrontal cortex and amygdala without affecting the other cerebral areas investigated. Since increasing evidence indicates that CREB function can regulate anxiety-like behavior in rats the second biochemical parameter we measured was phosphorylated CREB in the same brain areas. Rats treated with THC showed a significant increase in CREB activation in the prefrontal cortex and hippocampus. Moreover, in the prefrontal cortex the increased activation of CREB seems linked to an increase in ERK activation, whereas in the hippocampus to a decrease in the activity of CAMK II, a kinase exhibiting an inhibitory modulation of CREB activation. All these effects were reversed by AM251 pretreatment,

suggesting that the stimulation of CB1 receptors is fundamental for triggering the biochemical events. Our results suggest that the stimulation of CB1 receptors in the prefrontal cortex, amygdala and hippocampus with the subsequent activation of different signaling pathways might represent the initial event underlying cannabinoid modulation of anxious states.

10c. Cannabidiol in tumor cell proliferation

Parolaro D., Vaccani A., Bianchessi S.

Cannabidiol (CBD), the major non psycho-active cannabinoid component of marijuana, has various pharmacological action of potential clinical interest and our work was undertaken to investigate its ability to modulate tumoral cell proliferation. The addition of CBD to the culture medium of U87 and U373 human glioma cell lines led to a dramatic drop of viability, in a concentration-dependent manner (IC₅₀ 25 mM) that was already evident 24 h after CBD exposure with the maximum effect seen at four days. The CB1 cannabinoid receptor antagonist SR 141716A, the CB2 antagonist SR144528, capsazepine (vanilloid receptor antagonist), the inhibitor of ceramide generation or pertussis toxin did not counteract CBD effect. The antiproliferative effect of CBD was dependent by the induction of apoptosis, as determined by cytofluorimetric analysis and single strand DNA staining. The apoptosis was correlated with a gradual time dependent activation of caspase-3, involving both the upstream mitochondrial (through cytochrome c release and caspase-9 activation) and the death receptor pathways (through caspase-8 activation). The stimulation of caspase cascade seems dependent by the ability of CBD to induce an early ROS production, depletion of intracellular glutathione and increased activity of glutathione reductase and glutathione peroxidase enzymes. Interestingly, CBD did not affect primary neuronal and glial cultures neither for viability nor for ROS production, suggesting that human glioma cells and non transformed cells display different sensitivity to the antiproliferative effect of CBD. Moreover the antiproliferative effect appears closely related to the selective CBD ability in inducing ROS production and caspase activation only in tumoral cells. In addition the ability of CBD in impairing the migration of tumor cells stimulated by conditioned medium was evaluated. CBD caused concentration-dependent inhibition of the migration of U87 glioma cells, quantified in a Boyden chamber. As observed for antiproliferative effect the inhibition of cell motility was not antagonized by the selective cannabinoid/vanilloid receptor antagonists. The efficacy of CBD in limiting tumor growth was confirmed by in vivo experiments in an animal tumor model. CBD administered s.c. to nude mice at the dose of 0.5 mg/mouse, significantly inhibited the growth of subcutaneously implanted U87 human glioma cells. The analysis of the endocannabinoid system and lipid signalling performed on excised tumor samples of CBD-treated mice, revealed a significant increase of FAAH activity, a significant decrease in AEA level, significant reduction of the LOX activity and levels without any effect on COX activity/level. These results support the hypothesis that CBD-induced inhibition of LOX likely plays an important role in CBD-induced tumor regression. Concluding, in vitro and in vivo results strengthen the evidence for CBD use as a potential antitumoral agent and strongly suggest further investigations on its mechanism of action and applications.

Unità di Biochimica

11a. L'approccio proteomico allo studio della malattia di Parkinson

M. Fasano,^a S. Mila,^a M. Colapinto,^a B. Bergamasco,^b L. Lopiano^b

a) Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale e Centro di Neuroscienze, Università dell'Insubria, Busto Arsizio (VA)

b) Dipartimento di Neuroscienze, Università di Torino, Torino

La scoperta di geni associati a rare forme monogeniche di malattia di Parkinson ha apportato nuove informazioni sui meccanismi patogenetici della malattia. Deficit della funzionalità mitocondriale, stress ossidativi e nitroso/nitrico, accumulo di proteine aberranti/non ripiegate, e disfunzioni del sistema ubiquitina-proteasoma sono certamente coinvolte nella patogenesi delle forme familiari e genetiche di PD. La proteomica è una disciplina post-genomica che permette di affrontare in modo globale l'analisi delle differenze nell'insieme delle proteine di un determinato tessuto in determinate condizioni. Le metodologie proteomiche sono state applicate all'analisi delle variazioni del quadro proteico in campioni di substantia nigra pars compacta da autopsie di pazienti parkinsoniani, permettendo di evidenziare a livello molecolare il quadro di stress ossidativo che caratterizza il processo patogenetico. Questi dati hanno rappresentato la prima testimonianza in letteratura dell'applicazione della proteomica allo studio della malattia di Parkinson.

Successivamente abbiamo rivolto la nostra attenzione ad un modello cellulare di tossicità dopamina-dipendente. La linea cellulare di neuroblastoma umano SH-SY5Y è stata trasformata per esprimere stabilmente un aumentato livello di alfa-sinucleina, la proteina che costituisce i corpi di Lewy. Al contrario di quanto riportato in letterature per le transfezioni transienti, questa linea cellulare si è mostrata meno suscettibile alla tossicità da dopamina, mostrando come livelli sub-tossici della proteina abbiano effetto protettivo. Il metodo proteomico ha permesso di identificare oltre 40 proteine la cui presenza varia sensibilmente in funzione dello stimolo ossidativo, riconducibili alla regolazione di diverse vie metaboliche.

Infine, la proteomica si rivela essere un'eccellente tecnica per la ricerca di marcatori periferici della malattia. Scartando la ricerca di marcatori liquorali per l'invasività del prelievo, e di marcatori plasmatici per la grande abbondanza di proteine principali che mascherano quelle meno abbondanti, la nostra attenzione si è concentrata sui linfociti periferici. Confrontando il quadro di espressione proteica in pazienti affetti di malattia di Parkinson sporadica con pazienti soggetti a DBS (con conseguente riduzione della terapia farmacologica) abbiamo individuato alcune proteine la cui alterazione è riconducibile allo stress ossidativo indotto da L-DOPA. Inoltre, confrontando i pazienti DBS con controlli di età e sesso confrontabili abbiamo individuato dieci potenziali marcatori della malattia.

11b. Effetti allosterici e cooperatività del legame di farmaci anti-HIV alla sieralbumina umana

G. Fanali,^a R. Fesce,^a P. Ascenzi,^{b,c} M. Fasano^a

- a) Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale e Centro di Neuroscienze, Università dell'Insubria, Busto Arsizio (VA)
- b) Dipartimento di Biologia, Università di Roma Tre, Roma
- c) Istituto Nazionale Malattie Infettive "L. Spallanzani" IRCCS, Roma

Lo scopo del progetto è la comprensione dei processi di cooperatività e di modulazione allosterica delle proprietà di legame della sieralbumina umana nei confronti di farmaci antiretrovirali comunemente usati in combinazione nel trattamento dell'AIDS. Questi farmaci si differenziano per bersaglio farmacologico (inibitori della trascrittasi inversa, inibitori della proteasi retrovirale) e per struttura chimica (nucleosidici, non nucleosidici). L'efficacia dell'inibizione dipende tuttavia dal livello di farmaco disponibile. Se una moderata affinità alla sieralbumina permette di avere una clearance non eccessivamente rapida, un legame eccessivamente stabile riduce la concentrazione di farmaco circolante

sotto la soglia di efficacia. In questo contesto risulta evidente che in una terapia multifarmacologica gioca un ruolo importante non solo l'affinità del singolo farmaco per la proteina di trasporto, ma anche la competizione delle diverse molecole per un sito comune ovvero l'interazione di siti diversi che possano essere funzionalmente collegati.

La sieralbumina umana, pur essendo una proteina monomeric, presenta una flessibilità tale da giustificare la modulazione allosterica delle proprietà di legame recentemente riportata per diversi ligandi. Di conseguenza l'occupazione di un sito di trasporto, oltre a impedire competitivamente il legame di un altro farmaco per lo stesso sito, può determinare allostericamente un aumento o una riduzione di affinità di un altro farmaco ad un diverso sito.

Il disegno sperimentale di questo progetto prevede l'analisi della variazione delle costanti di legame di farmaci anti-HIV alla sieralbumina in funzione della presenza di altri farmaci e di effettori allosterici che stabilizzano uno stato conformazionale della proteina. In particolare viene preso in considerazione lo ione miristato, facendo seguito ad un lavoro recentemente pubblicato sulla modulazione delle proprietà di legame del complesso Mn(III)eme da parte dello ione miristato stesso (Fanali et al., 2005). L'interazione ligando-proteina viene seguita mediante spettroscopia ottica e magnetica, secondo procedure consolidate sviluppate nel laboratorio. Parallelamente all'analisi dell'interazione con la proteina intera, analoghi esperimenti sono in corso sulla proteina troncata ricombinante espressa in *P. pastoris*. Questa sieralbumina troncata manca di tre dei sette siti di legame dell'acido miristico (che possono anche essere siti di legame dei farmaci antiretrovirali) e rappresenta pertanto un modello semplificato rispetto alla proteina intera. È attualmente in corso la simulazione dell'interazione farmaco-proteina mediante una procedura di "docking simulation" in modo da verificare la compatibilità strutturale dei farmaci con i diversi siti di legame nelle due conformazioni della proteina depositate in banca dati.

Sezione di Fisiologia e Biofisica

Unità di Neurofisiologia

12a. Biophysical properties of the silent and activated rat sympathetic neuron following denervation.

Sacchi O¹, Rossi ML¹, Canella R¹, Fesce R².

¹Department of Biology, Section of Physiology and Biophysics, Ferrara University

²Center of Neuroscience and DBSF, Insubria University, Varese

A biophysical description of the denervated rat sympathetic neuron has been obtained by the two-electrode voltage-clamp technique in mature intact superior cervical ganglia in vitro. At membrane potential values negative to -50 mV, the normal, quiescent neuron displays voltage-dependent K and Cl conductances; following direct or synaptic stimulation (15Hz for 10 s), the neuron moves to a new resting state characterized by increased amplitude and voltage dependence of Cl conductance. Denervation produces two main effects: 1) resting Cl conductance gradually increases while its voltage-dependence decreases; by 30 days a high-conductance resting state prevails, almost independent of membrane potential in the -50/-110 mV range; 2) the increase in amplitude and voltage-dependence of Cl conductance, produced by direct stimulation in control neurons, is less marked in denervated neurons, and is observed over an increasingly small range of membrane potentials. Thirty days after denervation, the prevailing high-conductance resting state appears virtually insensitive to changes in membrane potential and stimulation. Voltage-dependent potassium currents involved in spike electrogenesis (the

delayed compound potassium current and the fast transient potassium current) exhibit an early drastic decrease in peak amplitude in the denervated neuron; the effect is largely reversed after 6 days. Remarkable changes in fast transient potassium current (I_A) kinetics occur following denervation: the steady-state inactivation curve shifts by up to +15 mV toward positive potential and voltage sensitivity of inactivation removal becomes more steep. A comprehensive mathematical model of the denervated neuron has been set up that fits the neuron behaviour under current-clamp conditions. It confirms that neuronal excitability is tuned by the conductances (mostly chloride conductance) that control the resting membrane potential level, and by fast transient potassium current. Impairment of the latter reduces both inward threshold charge for firing and spike repolarization rate, and fast transient potassium current failure cancels the voltage dependence of both processes.

12b. A novel pattern of fast calcium oscillations points to calcium and electrical activity cross-talk in rat chromaffin cells.

Micheletti M¹, Brioschi A¹, Fesce R², Grohovaz F¹.

¹S. Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy. ²Center of Neuroscience and DBSF, Insubria University, Varese

Slow oscillations of cytosolic calcium ion concentration - $[Ca^{2+}]_c$ - typically originate from release by intracellular stores, but in some cell types can be triggered and sustained by Ca^{2+} influx as well. We simultaneously monitored changes in $[Ca^{2+}]_c$ and in the electrical activity of the cell membrane by combining indo-1 and patch-clamp measurements in single rat chromaffin cells. By this approach we observed a novel type of spontaneous $[Ca^{2+}]_c$ oscillations, much faster than those previously described in these cells. These oscillations are triggered and sustained by complex electrical activity (slow action potentials and spike bursts), require Ca^{2+} influx and do not involve release from intracellular stores. Taken together, these data indicate that at least two independent mechanisms can sustain $[Ca^{2+}]_c$ independent oscillatory activity in rat chromaffin cells, generating a multiplicity of patterns of Ca^{2+} signalling. In view of the multiple, differentially regulated secretory pathways operating in adrenergic cells, proper understanding of this complexity is crucial in interpreting the physiological regulation of adrenergic function.

12c. Mathematical modeling of allosteric modulation of myristate and Mn(III)heme binding to human serum albumin, as characterized by optical and NMR spectroscopy.

Fesce R¹, in collaboration with Fanali G¹, Agrati C¹, Ascenzi P², Fasano M¹.

¹Center of Neuroscience and DBSF, Insubria University, Varese

²Dipartimento di Biologia, and Laboratorio Interdisciplinare di Microscopia Elettronica, Università 'Roma Tre', Roma, Italy

Human serum albumin (HSA) is best known for its extraordinary ligand binding capacity. HSA has a high affinity for heme and is responsible for the transport of medium and long chain fatty acids. The Biochemistry group in Busto Arsizio has investigated myristate binding to the N and B conformational states of Mn(III)heme-HSA (i.e. at pH 7.0 and 10.0, respectively) by optical absorbance and NMR spectroscopy. At pH 7.0, Mn(III)heme binds to HSA with lower affinity than Fe(III)heme, and displays a water molecule coordinated to the metal. Myristate binding to a secondary site FAX, allosterically coupled to the heme site, not only increases optical absorbance of Mn(III)heme-bound HSA by a factor of approximately three, but also increases the Mn(III)heme affinity for the fatty acid binding site FA1 by 10-500-fold. Mathematical modeling of optical and NMR data indicates cooperative binding at FAX and accessory myristate binding sites. At pH = 10.0 both myristate affinity for FAX and allosteric modulation of FA1 are reduced, whereas

cooperation of accessory sites and FAX is almost unaffected. As a whole, these results suggest that FA binding promotes conformational changes reminiscent of N to B state HSA transition, and appear of general significance for a deeper understanding of the allosteric modulation of ligand binding properties of HSA.

Laboratorio di Fisiologia cellulare e molecolare

13a. Role of the Conserved Glutamine 291 in the rat γ -Aminobutyric Acid Transporter rGAT-1

Stefania A. Mari*, Andrea Soragna[§], Michela Castagna*, Massimo Santacroce*, Carla Perego*, Elena Bossi[§], Antonio Peres[§], V. Franca Sacchi*

*Institute of General Physiology and Biological Chemistry "G. Esposito", *Università degli Studi* of Milan, Via Trentacoste 2, 20134 Milano, Italy; [§]Laboratory of Cellular and Molecular Physiology, Dept. of Structural and Functional Biology and Center for Neuroscience, University of Insubria, Via Dunant 3, 21100 Varese, Italy.

The role of the conserved glutamine 291 in the function of the rat γ -aminobutyric acid transporter GAT-1 has been investigated. Q291 mutants are unable to transport GABA and to give rise to transient, leak and transport-coupled currents although targeted to the plasma membrane. Coexpression experiments of WT and Q291 mutants suggest that GAT-1 is a functional monomer although it requires the oligomeric assembly for the surface expression. We have determined the accessibility of Q291 by the impact of impermeant sulfhydryl reagents on cysteine residues engineered in close proximity to Q291. The effect of these reagents indicates that Q291 faces the external aqueous milieu. The introduction of a steric hindrance close to Q291 by MTSET modification of C74A/T290C, severely altered the mutant affinity for cations. All together, these results suggest that this irreplaceable residue is involved in the interaction with sodium or in maintaining the cation accessibility to the transporter.

13b. Oligomeric structure of the neutral amino acid transporters *kaat1* and *caatch1* *E. Bossi, A. Soragna, S. Giovannardi, A. Peres,*

The two highly homologous neutral amino acid transporters - KAAT1 and CAATCH1, cloned from the midgut epithelium of the larva *Manduca sexta* have been classified as members of the Na⁺/Cl⁻-dependent transporter family.

Recent evidence indicates that some neurotransmitter transporters, belonging to this family, form constitutive oligomers. To determine whether KAAT1 and CAATCH1 also form functional oligomers, we have constructed two concatameric proteins consisting of one KAAT1 protein covalently linked to another KAAT1 (K-K concatamer) or to CAATCH1 (K-C concatamer).

CAATCH1 and KAAT1 give rise to specific kinds of current depending on the transported amino acid, the cotransported ion, pH and the membrane voltage. Transport-associated currents with their own characteristics are induced by different organic substrates, 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 in structural-functional studies.

Heterologous expression by injection of mRNA of the concatenated constructs K-K and K-C, and co-injection of the original protein in different proportions allowed us to compare the characteristics of the currents recorded in presence of the concatenated construct, or in

the co-injected oocytes with the behavior of the oocytes expressing only the wild type proteins.

We show that these constructs are fully active and that they may oligomerize, but the electrophysiological behavior remains consistent with the activity as monomeric proteins.

13c. The functional unit in the oligomeric structure of the GABA transporter rGAT1 is the monomer

Giovannardi, S., Soragna, A., Bossi, E. and Peres, A.

GAT1 is the neuronal isoform of the GABA transporters which allows the recycling of the neurotransmitter from the synaptic cleft and the termination of the synaptic signal. It is a membrane protein and has been shown, by biochemical and fluorescence means, to form oligomers, but which is the functional unit has not yet been determined. To investigate if the oligomer plays a role in the function of the transporter, we took advantage of an already published mutation (Y140W, Y Bismuth et al., J.Biol.Chem. 272: 16096-16102, 1997) which is insensitive to GABA and to the specific blocker, but still able to react with external sodium and to give rise to transient currents which are distinct, in the charge equilibration rate, from that exerted by the wild-type. We have performed two electrodes voltage clamp experiments in *Xenopus* oocytes expressing the wild-type and the mutated isoform in different proportions. Measurements and analysis of both transport-associated current and transient currents in these oocytes indicated that the functional unit is the single monomer. We have also performed FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) experiments in tsA201 cells transiently transfected with the wild-type and the mutated protein tagged at C-terminal with CFP and YFP (Cyan and Yellow Fluorescent Protein). WT-WT, WT-mutant and mutant-mutant cotransfections show consistent FRET at the plasma membrane confirming the possible formation of the oligomeric structure of the transporter. Our results indicate that the functional unit, which catalyzes the translocation of the substrate through the membrane, is the monomer, while the oligomeric structure appears to be important in the correct membrane insertion of the transporter.

Unità di Metodi matematici

Unità di Biologia vegetale e bioenergetica

15a La fotoacclimatazione nel batterio verde sulfureo Chlorobium tepidum

Simona Somaini, Paolo Gerola, Alberto Vianelli. Biologia Vegetale e Bioenergetica

I batteri verdi, per l'elevato contenuto in pigmenti fotosintetici e per l'alto grado di organizzazione strutturale, sono in grado di crescere a intensità di luce molto bassa e quindi di occupare nicchie ecologiche proibitive per gli altri organismi fotosintetici. Essi costituiscono un buon sistema modello per la comprensione della struttura e della regolazione dell'apparato fotosintetico negli organismi vegetali superiori con i quali condividono estese omologie strutturali e di sequenza aminoacidica a livello del centro di reazione e della catena di trasporto di elettroni.

Nel nostro laboratorio viene da anni studiato *Chlorobium tepidum*, un procariote fotoautotrofo obbligato il cui genoma è stato recentemente sequenziato e per il quale sono state messe a punto tecniche di manipolazione genetica. Studi precedenti hanno evidenziato come *Chlorobium tepidum* vada incontro a cambiamenti nella composizione dell'apparato fotosintetico in risposta alla variazione dell'intensità della luce durante la crescita. Non esiste tuttavia un accordo sugli aspetti quantitativi di tale fenomeno, in particolare per quanto riguarda le variazioni del contenuto specifico in Bchl *a*.

Abbiamo osservato che ad un aumento dell'intensità di luce entro un intervallo fisiologico corrisponde una diminuzione delle tre classi di pigmenti (Bchl c, Bchl a, carotenoidi): a tutte le intensità luminose esaminate il rapporto fra pigmenti rimane pressoché costante. Poiché Bchl c e Bchl a si trovano in modo preponderante rispettivamente nell'antenna clorosomiale e nel centro di reazione, è ipotizzabile che il rapporto fra queste due componenti non vari in modo significativo. Ad ogni centro di reazione sarebbe quindi associata un'antenna dalle dimensioni costanti. L'apparato fotosintetico nel suo insieme, tuttavia, costituirebbe una frazione progressivamente minore della biomassa all'aumentare dell'intensità di luce.

L'analisi dei dati relativi al contenuto specifico dei pigmenti ha evidenziato che esso varia in modo inversamente proporzionale al logaritmo dell'intensità di luce, come osservato da altri autori che hanno studiato la fotoacclimatazione in altri batteri fotosintetici anossigenici ed anche in alghe unicellulari eucariotiche. Ciò suggerisce che, nonostante la diversità fra la fotosintesi anossigenica (presente nei procarioti esclusi i cianobatteri) e quella ossigenica (cianobatteri, alghe, piante), le caratteristiche basilari del meccanismo di acclimatazione si siano conservate nel corso dell'evoluzione.

L'apparato fotosintetico nei batteri verdi

15b. Acclimatazione alla luce del batterio verde non sulfureo Chloroflexus aurantiacus in presenza di O₂

Deborah Armiento, Valentina Putzu, Paolo Gerola, Alberto Vianelli

Chloroflexus aurantiacus è un eubatterio fotosintetico verde, filamentoso, isolato in diverse sorgenti termali alcaline in tutto il mondo; in questo habitat *Chloroflexus aurantiacus* vive in associazione con i cianobatteri formando caratteristiche stratificazioni microbiche ("microbial mats"): nelle quali variano, secondo un gradiente verticale (e temporale), la luce e le concentrazioni di O₂:

- Sulla superficie dei *mat* è stata misurata una intensità di luce pari a 80000-100000 lux, ma è stata riscontrata attività fotosintetica attribuibile a *Chloroflexus* fino a 3 mm di profondità, ovvero a intensità di luce fino a circa 1000 volte inferiori.
- Le concentrazioni di O₂ e H₂S cambiano in relazione alle variazioni della luce del ciclo diurno e della profondità; si osserva infatti, nei primi strati del *mat*, un passaggio da condizioni anossiche al buio a concentrazioni di ossigeno spesso maggiori della saturazione a metà giornata.

È noto dalla letteratura come variazioni nell'intensità della luce durante la crescita di *Chloroflexus aurantiacus* inducano cambiamenti nell'apparato fotosintetico; gli esperimenti tuttavia sono sempre stati condotti in condizioni di stretta anaerobiosi che, come detto, non sono le naturali condizioni di crescita di *Chloroflexus aurantiacus*.

Abbiamo pertanto intrapreso uno studio dell'acclimatazione a diverse intensità di luce di *Chloroflexus aurantiacus* (ceppi OK-70-fl, Y-400-fl, 244-3) in presenza di varie concentrazioni di ossigeno (<10 μ M-100 μ M), dal quale sono emersi i seguenti risultati:

- L'intensità di luce massima alla quale la coltura riesce ad acclimatarsi aumenta al diminuire della concentrazione di O₂.
- La vitalità della coltura a un'intensità di luce più elevata sembra essere correlata con la capacità di sintetizzare una maggior quantità di carotenoidi rispetto al pigmento principale dell'antenna, la BChl c.

In base all'analisi dei pigmenti si è potuta studiare la variazione dei rapporti BChl a/ BChl c e carotenoidi / BChl c: come riportato precedentemente in letteratura, entrambi i rapporti crescono con l'aumentare dell'intensità della luce e variano parallelamente, suggerendo un'associazione strutturale fra carotenoidi e BChl a. Poiché quest'ultimo pigmento è

presente sia a livello dei clorosomi (antenna) sia della membrana plasmatica (centro di reazione), solo la purificazione dei componenti subcellulari dell'apparato fotosintetico consentirà di determinare in modo non ambiguo la localizzazione dei carotenoidi con probabile funzione fotoprotettiva.

L'apparato fotosintetico nei batteri verdi

15c. Organizzazione dei pigmenti nei sistemi antenna e trasferimento dell'energia di eccitazione nei batteri fotosintetici verdi

Paolo Gerola, Alberto Vianelli. *Biologia Vegetale e Bioenergetica*

In collaborazione con l'Università degli Studi di Padova (Prof. Donatella Carbonera, Dr. Marilena Di Valentin, Dipartimento di Chimica Fisica), vengono utilizzate tecniche di risonanza magnetica elettronica, in particolare ODMR (Optically Detected Magnetic Resonance) per lo studio dell'organizzazione dell'antenna caratteristica dei batteri verdi, il clorosoma, e del processo di trasferimento dell'energia di eccitazione al centro di reazione. Esperimenti preliminari effettuati su membrane "intatte" (cioè contenenti sia clorosomi sia centri di reazione) di *Chlorobium tepidum* e preparate in anerbiosi indicano un efficace trasferimento di energia dai clorosomi ai centri di reazione, a differenza di quanto riportato in letteratura per misure effettuate su analoghe preparazioni.

La riproduzione sessuale nelle Angiosperme

15d. Purificazione dell'inibitore della β -glucuronidasi da stili di Nicotiana

Cristina Pisoni, Stefania Caprioli, Alberto Vianelli e Paolo Gerola. *Biologia Vegetale e Bioenergetica*

E' stato studiato lo stilo come ambiente di crescita dei tubetti pollinici, in relazione alla loro cinetica di crescita e ai processi di incompatibilità gametofitica e incongruità unilaterale.

In particolare si è analizzata la presenza nel tessuto di trasmissione stilare di un inibitore dell'attività β -glucuronidasica e si è proceduto ad una sua parziale caratterizzazione. Al contrario di altri inibitori di β -glucuronidasi di natura flavonide estratti da foglie di altre specie vegetali, sembra trattarsi di un inibitore di natura proteica, come nel caso del noto e caratterizzato inibitore della β -galatturonidasi. Al contrario di quest'ultimo, tuttavia, l'interazione inibitore-enzima è risultata stabile anche a pH neutro e moderatamente alcalino. Esperimenti preliminari sembrano indicare che sia necessario un pH intorno a 10 per rompere le interazioni dell'inibitore con la β -glucuronidasi.

Utilizzando il diverso peso molecolare dell'inibitore (minore di 15 KDa) e dell'enzima polimerico (circa 240 KDa), esperimenti sono stati condotti per mettere a punto una nuova tecnica di purificazione basata sul frazionamento del campione e del complesso enzima-inibitore mediante filtrazione su filtri centrikon..

I dati preliminari ottenuti sembrano convalidare la fattibilità di tale nuova procedura

Sezione di Biologia molecolare e Patologia

Unità di Biologia Molecolare

16a. Identification and characterization of novel factors involved in Rett syndrome.

Anna Bergo, Ilaria Bertani, Barbara Conca, Greta Forlani, Alessia Guarda, Laura Rusconi, Francesca Saracino, Fabrizio Bolognese, Charlotte Kilstrup-Nielsen, Nicoletta Landsberger, Gianfranco Badaracco.

Rett syndrome (RTT) is a genetic disease that occurs almost exclusively in females with an estimated prevalence of 1 in 10.000-15.000 female births. After normal development up to the age of 6-36 months, follows a period of regression of motor and mental abilities. Affected patients develop loss of speech and purposeful hand use, autism and a profound mental handicap.

In 1999 the coding for MeCP2, a transcriptional repressor binding to methylated DNA, has been identified as the molecular cause of RTT. Since then defects in this gene have been identified in 60-80% of patients. The fact that approximately 20% of RTT patients carry a normal MECP2 gene linked to the evidence that patients carrying the same MeCP2 defect often do not present the same clinical picture seem to indicate that other genes might be directly responsible of the RTT onset or, at least, might influence its severity. Accordingly, very recently defects in another gene, called CDKL5, have been identified in some patients affected by a variant form of Rett.

Our research activities are divided into two main lines aimed at understanding the role of MeCP2 and CDKL5 in the onset of Rett syndrome.

16b. Identification and characterization of novel proteins that by interacting with MeCP2 might be involved in Rett syndrome.

Hoping that our research will contribute to the identification of all the genes involved in this terrible disease as well as to a better comprehension of the molecular mechanisms underlying its onset, in the last years we have concentrated our activities on the identification and characterization of other proteins that function together with MeCP2. We have therefore exploited biochemical, genetic and deductive approaches to identify novel MeCP2 interacting proteins. The five identified proteins have diverse functions but as an example we can mention that one is a kinase, which seems interesting given the fact that MeCP2 activities are regulated by its phosphorylation. Another protein seems to be involved in localizing MeCP2 and DNA bound by it into distinct compartments of the cell nucleus. Our present research is aimed at characterizing the functional role of these five interactions. We believe that this may be an important goal towards understanding some mechanisms underlying Rett syndrome and our contact with clinical laboratories will allow us to verify if these genes might be subject to mutations in patients with this disorder.

16c. Characterization of the novel gene, CDKL5, involved in Rett syndrome and infantile spasms.

When CDKL5 was identified as the cause of Rett syndrome, it was an almost completely uncharacterized gene. The similar phenotypes caused by mutations in MECP2 and CDKL5 suggest that the two genes might work in common molecular pathways. We have shown that, besides sharing an overlapping expression patterns in the brain, MeCP2 and CDKL5 interact and, importantly, that the kinase activity of CDKL5 mediates the phosphorylation of MeCP2. However, even if these results suggest that CDKL5 plays an important role in the proper functioning of the nervous system by regulating MeCP2 activities, we still need to learn more about the biological role of this novel kinase. For example, since mutations in CDKL5 can be correlated with a particular Rett variant we believe that this gene also has important MeCP2-independent functions; a hypothesis that seems to be confirmed by the fact that CDKL5, but not the methyl-binding protein, is also

involved in West syndrome. Our present research is therefore aimed at shedding light on the functional role of CDKL5 both as a regulator of MeCP2 activities as well as for neuronal differentiation. We believe that a better comprehension of the molecular functions of this new kinase is an essential step towards understanding its role in Rett syndrome and in cases of infantile spasms occurring together with mental retardation.

Unità di Patologia Generale

Sezione di Zoologia e Paleontologia

Unità di Biologia degli Invertebrati

18a. Helical muscle structure and development

The aim of this research is to investigate the organization, growth mechanism and differentiation of helical fibers, a peculiar type of striated muscle. Biochemical, structural and ultrastructural studies are performed to analyze circomyarian fibers (Annelida) and pseudocircomyarian fibers (Cephalopoda). The transcription factors involved in differentiation (MRFs expression and localization) and the regulation of muscle development by the morphogen Sonic hedgehog are considered.

18b. Angiogenesis in Hirudinea

A variety of stimuli including surgical wounds, grafts and the administration of modulators of neovascularization (activators of vascular cell growth) can induce a prompt biological response in the leech *Hirudo medicinalis*, leading to the formation of an extensive blood vessel network. An increasing body of evidence indicates the involvement of botryoidal tissue cells (a peculiar tissue of Arhyncobdellids) in neo vessel formation. Leech angiogenic process shares a surprising degree of similarity with neovascularization in vertebrates, both at the cellular and at the biochemical levels: in fact, it involves similar growth factors/growth factor receptors (in particular we have characterized the existence of a VEGF-VEGF receptor system), and relies on analogous cell-cell and cell-matrix interactions.

18c Host-parasite interactions

Biodiversity can be a source of new natural products for the control of economically important pest insects. Parasitoid insects evolved an astonishing number of adaptations to develop inside their hosts. The employment of molecules made by these insects as biological control agents could be an interesting alternative to the use of chemical insecticides. The model species chosen for this research is *Toxoneuron nigriceps*, an endophagous parasitoid of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*. *T. nigriceps* injects in its host, together with the egg, a venom and a polydnavirus (CnPDV); this leads to a remarkable alteration of the immune response and of the neuroendocrine system of the host. Thus, the study of the molecular and physiological mechanisms of the host-parasitoid interaction represents an interesting opportunity to identify new genes and molecules with insecticide activity and with a high level of selectivity, reducing the risks to non-target organisms.

Unità di Paleontologia dei Vertebrati

prof. Silvio Renesto PA

19 a. La ricerca riguarda la sistematica, la morfologia funzionale, la paleoecologia e la paleobiologia dei rettili fossili mesozoici, spesso in parallelo con i rettili attuali, in particolare del Triassico Medio e Superiore dell'Italia Settentrionale.

Le precedenti pubblicazioni sui Drepanosauridae della Bergamasca e del Friuli avevano già diffuso a livello internazionale le conoscenze su questo gruppo un tempo considerato di relativo interesse paleobiologico e paleobiogeografico, dimostrandone la ampia diffusione geografica e permettendo di inserire in questo gruppo forme rimaste enigmatiche per decenni, provenienti da giacimenti USA (Newark, Dockum e Chinle formations). Le ricerche nel 2005 sono proseguite con l'attribuzione ai drepanosauridi di numerosi elementi isolati ritrovati nei giacimenti Retici dell'Inghilterra finora considerati di collocazione incerta, ampliando ulteriormente le conoscenze sulla distribuzione geografica del gruppo. Il lavoro di comparazione con i giacimenti inglesi ha dato altri risultati, lo studio di esemplari italiani completi ed articolati di taxa noti solo da frammenti isolati nelle località inglesi, ha consentito di migliorare le conoscenze sulla morfologia e la distribuzione di questi taxa, correggendo precedenti interpretazioni sistematiche e anatomiche di altri autori, basate sul materiale inglese.

I lavori sulla morfologia funzionale, filogenesi e osteologia dei drepanosauridi, dimostrano inoltre il raffinato adattamento alla locomozione arboricola ed alla dieta insettivora e rivelano interessanti affinità con i rettili volanti, di probabile valore filogenetico. Lo studio di uno dei rarissimi scheletri completi di fitosauro ha permesso di dimostrare la possibilità di adattamento semi permanente alla vita acquatica in un gruppo considerato limitato ad acque dolci. Infine l'analisi morfologica e morfometrica di denti isolati ha permesso di considerarli sicuramente come appartenenti ad arcosauri e probabilmente a dinosauri carnivori, se confermato da ritrovamenti più completi, si tratterebbe dei più antichi dinosauri italiani. Per quanto riguarda il Triassico Medio, tramite un accordo con il Museo Cantonale di Storia Naturale di Lugano, è stato possibile studiare un esemplare del rettile protorosauro *Tanystropheus* descrivendo per la prima volta in assoluto la pelle e resti di tessuti molli, proponendo di conseguenza nuove ipotesi sul modo di vita di questo discusso rettile. Le ricerche di terreno hanno inoltre portato inoltre all'individuazione di una nuova località fossilifera in Valtravaglia i cui reperti sono tuttora in fase di studio e pubblicazione.

Progetti di ricerca finanziati

Fondo di Ateneo per la Ricerca

Tutti i gruppi di ricerca del DBSF hanno ricevuto un finanziamento

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

I seguenti gruppi di ricerca hanno ricevuto finanziamenti:

- Biologia vegetale e bioenergetica
- Laboratorio di Microbiologia Ambientale e Molecolare Farmacologia
- Biologia degli invertebrati
- Unità di Ricerca QSAR e Chimica ambientale
- Neuropsicofarmacologia
- Neurofisiologia
- Paleontologia dei Vertebrati

Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (FIRB)

I seguenti gruppi di ricerca hanno ricevuto finanziamenti:

- Fisiologia cellulare e molecolare

Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (Interlink)

- Farmacologia

Altri Enti

IMONT	Criologia e Climatologia
CMAItaValtellina	Criologia e Climatologia
PNRA	Criologia e Climatologia
ARPA-VDA	Criologia e Climatologia
Cannabinoid Research Institute	Neuropsicofarmacologia

SEMINARI

Dr. M.F. Brivio. La morte cellulare programmata. Seminario presso Scuola di Dottorato in Biologia Cellulare e Molecolare, DBSF, Varese. 2005.

Prof.ssa P.Gramatica. Experience in QSAR model validation and in Kohonen-Neural Networks for data splitting. ECB Workshop on the Validation of neural network models according to the OECD principles. (JRC Ispra, 7– 8 July 2005) Invited lecture

Prof.ssa P. Gramatica . “Prevenire è meglio che rimediare” modellistica strutturale(QSAR) applicata al rischio chimico per l'ambiente. Seminario al Dottorato in Scienze Ambientali dell'Università di Milano-Bicocca (21/11/2005).

Prof.ssa P.Gramatica. Applicazione delle metodologie QSAR a problematiche ambientali di inquinanti organici. Seminario al Dottorato in Scienze Chimiche dell'Università di Bologna (sede di Rimini) (30/11/2005).

Prof.A. Peres. Biophysics of cotransporters PhD Course on: Membrane Proteins 21-6-2005 – Milano

Prof.ssa P. Barbieri. Diversità e potenzialità delle ossigenasi batteriche: dall'ambiente all'industria. Dottorato in Biotecnologie – Università di Parma e dell'Insubria Parma, 13 Giugno 2005

Prof. A.M. Sanangelantoni (Università di Parma). Uso di metodi molecolari per la valutazione della biodiversità microbica in suoli contaminati. Dottorato AGPB, Università dell'Insubria. Varese, 21 giugno 2005

Prof. Silvio Renesto. Tanystropheus nuovi studi, nuove scoperte e vecchie ipotesi, 29settembre 2005 Museo Cantonale di Storia Naturale di Lugano il 29 settembre 2005

Prof. Silvio Renesto. I rettili marini del Mesozoico, 21 novembre 2005 nell'ambito dell'evento Futuro Remoto, organizzato dalla Città della scienza di Napoli dall' Università di Napoli con il patrocinio del MIUR.

Prof. Silvio Renesto. I rettili triassici italiani, 22 novembre 2005 nell'ambito dell'evento Futuro Remoto, organizzato dalla Città della scienza di Napoli dall' Università di Napoli con il patrocinio del MIUR.

Organizzazione dei seminari del Centro di Neuroscienze:

12/4/05 Seminario Dott.ssa Giuseppa Rudelli – Sanofi-Aventis

15/06/05 Seminario Prof. PierLuigi Meroni

EVENTI

Settimana del Cervello - Mostra "Hai il cervello, usalo!" 14-18 marzo 2005

Conferenza del prof. Marco Piccolino "Oscuri labirinti e ombre colorate: "La visione a colori da Galileo alle moderne neuroscienze", 16 marzo 2005

Organizzazione del "Second European Workshop on Cannabinoid Research" tenutosi a Busto Arsizio, 29-30 aprile 2005.

Conferenza del prof. Giovanni Berlucchi, membro dell'Accademia dei Lincei "Emilio Veratti e Giulio Bizzozero, due grandi Biologi-Medici Varesini" in occasione della Sesta Giornata Scientifica Dipartimentale, 15 dicembre 2005

Busto Proteomica - Seconda Giornata di Studio e Discussione sulla Proteomica applicata alla Ricerca Biomedica. Venerdì 17 Giugno 2005.

LAUREATI 2005

Studente	Data Laurea	Relatore	Titolo tesi	Corso di Laurea
Cassetti Simone	23/03/2005	Landsberger Nicoletta	Interazione tra le proteine LBR e MeCP2: nuovi approcci volti alla comprensione del significato funzionale.	F66
Putzu Valentina	23/03/2005	Vianelli Alberto	Acclimatazione alla luce del batterio verde non sulfureo Chloroflexus aurantiacus in presenza di ossigeno.	F66
Armiento Deborah	23/03/2005	Vianelli Alberto	Caratterizzazione dello smorzamento della fluorescenza indotto da condizioni ossidanti nei clorosomi di Chloroflexus aurantiacus.	F66
Giani Elisa	23/03/2005	Paola Gramatica	Studi QSAR e di analisi multivariata sull'assorbimento di inquinanti organici e metalli in suolo e vegetali.	F66
Menzaghi Elisa	22/03/2005	Landsberger Nicoletta	Valutazione dell' impatto della PCR-SDA nella diagnosi clinica di infezione tubercolare in un comune laboratorio clinico.	F55
Maggioni Sara	21/02/2005	Paola Barbieri	Tecniche di coltura e identificazione di microrganismi patogeni delle vie aeree inferiori.	F55

Talarico Anna	22/03/2005	Landsberger Nicoletta	Analisi del possibile ruolo fisiopatologico della proteina prionica mutata in cellule trasfettate.	F55
Calcagno Rocco	22/03/2005	Parolaro Daniela	Sensitizzazione all'effetto analgesico del CP-55,940 in ratti tolleranti alla morfina : evidenze comportamentali e biochimiche.	F55
Molla Fabiola	22/03/2005	Fasano Mauro	Effetto di alfa sinucleina sulla tossicità da dopamina nella linea cellulare di neuroblastoma umano SH-SY5Y.	F55
Genoni Angelo Paolo	22/03/2005	Stefano Banfi	Derivati di- e tetraarilporfirinici: sintesi e valutazione dell'effetto fotodinamico.	F55
Lorenzi Tiziana	22/03/2005	Rubino Tiziana	Studio della cinetica dell'effetto analgesico indotto da buprenorfina e morfina in acuto e dopo impianto di pompe osmotiche nel ratto Wistar.	F55
Mettifogo Francesca	22/03/2005	Monti Elena	Alliestimento e caratterizzazione di un modello in vitro per lo studio di composti in grado di modulare l'attività del fattore inducibile da ipossia HIF-1.	F55
Grassini Greta	22/03/2005	Perletti Gianpaolo	Costruzione e caratterizzazione di vettori lentivirali per l'espressione a lungo termine di più sequenze geniche.	F55
Vergani Elisabetta	20/07/2005	Elena Monti	Ruolo di AKT nella risposta di linee cellulari di adenocarcinoma mammario ad agenti citotossici	F55
Mariotti Viviana	23/09/2005	Annalisa Grimaldi	Espressione della proteina P16 nelle lesioni preneoplastiche della cervice uterina	F55
Sasso Marianna	23/09/2005	Elena Monti	Ruolo delle proteine stat nella risposta al trattamento chemioterapico in linee cellulari di adenocarcinoma della mammella	F55
Castellano Miriam	24/10/2005	Elena Monti	Ruolo dello stress ossidativo nell'effetto sinergico di doxorubicina e tempol	F55
Lotito Gianluca	24/10/2005	Ian Marc Bonapace	Il saggio emoglobinico reticolocitario (CHR) per il monitoraggio della terapia marziale in pazienti emodializzati	F55
Panzeri Consuelo	24/10/2005	Paola Barbieri	Ricerca di microrganismi sentinella di infezioni nosocomiali	F55
Piazza Ilaria	24/10/2005	Mauro Fasano	Interazione di farmaci anti-HIV con la sieralbumina umana	F55
Pettinato Emanuela	19/12/2005	Daniela Parolaro	Valutazione citofluorimetrica dello stress ossidativo indotto da cannabidiolo su linee cellulari di glioma	F55
Perelli Nicola Flavio	21/02/2005	Monti Elena	Effetti della modulazione di igf1r in cellule di glioblastoma umano.	
Segato Damiano	22/03/2005	Monti Elena	Effetto della combinazione del Nitrossido Piperidinico Tempol e della Temozolomide su linee cellulari di glioma maligno umano.	F76
Girelli Serena	20/07/2005	Mauro Fasano	Rilassometria NMR di transferrine: aspetti strutturali e dinamici	F76
Stefanazzi Paola	20/07/2005	Mauro Fasano	L'espressione di alfa-sinucleina riduce la tossicità da dopamina nella linea cellulare di neuroblastoma umano SH-SY5Y	F76

Brescia Daniele	24/10/2005	Daniela Parolaro	Modulazione della funzionalità del recettore cannabico e oppiaceo in un modello animale di autosomministrazione del cannabinoide sintetico win 55,212-2 e dell'eroina	F76
Premoli Fabrizio	24/10/2005	Daniela Parolaro	Ruolo delle g-protein coupled receptor kinases (grk) e beta-arrestine nel "trafficking" del recettore cannabico cb1 dopo esposizione cronica al delta9-tetraidrocannabinolo (thc)	F76
Ceriani Isabella	19/12/2005	Gianpaolo Perletti	Strategie per l'attenuazione di effetti posizionali in vettori lentivirali dualgenici	F76
Pavesi Elisa	19/12/2005	Landsberger	Studio dei profili di espressione genica nelle miopatie infiammatorie: confronto tra polimiositi e dermatomiositi	F76
Restelli Elena	19/12/2005	Gianpaolo Perletti	Espressione e purificazione di proteine ricombinanti corrispondenti a regioni immunodominanti del recettore dell'acetilcolina umano per studi immunologici in vitro	F76
Totaro Maria Grazie	19/12/2005	Mauro Fasano	Maturazione e attività di EDEM, guardiano del folding nel reticolo endoplasmatico	F76
Ponti Valentina	19/01/2005	Fasano Mauro	Valutazione dell'impiego in diagnostica clinica di una nuova metodica ELISA per la ricerca di anticorpi anti-Chlamydia pneumoniae.	F58
Bianchi Luca	19/01/2005	Paola Barbieri	Clonaggio di tmoB e Test di completazione di una toluene monossigenasi eterologa.	F58
Todeschini Michele	25/02/2005	Paolo Gerola	Caratterizzazione di un inibitore della B-glucuronidasi nello stilo di Nicotiana.	F58
Monetti Elisa Giulia	23/03/2005	Gerola Paolo	Estrazione e dosaggio della melatonina nelle angiosperme.	F58
Russo Paolo	23/03/2005	Alfredo Porati	Analisi statistico - informazionale del genoma del SARS coronavirus.	F58
Turconi Paola	23/03/2005	Cerabolini Bruno	La componente esotica nella flora legnosa caratteristiche funzionali ed ecologiche.	F58
Sotera Sara	18/07/2005	Gianpaolo Perletti	Modificazioni dell'espressione dei recettori a2-adrenergici e del loro mRNA nel plesso mienterico di cavia dopo trattamento cronico con desipramina	F58
Sotera Monica	18/07/2005	Daniela Parolaro	Coinvolgimento dei recettori per il glutammato di tipo NMDA nelle modificazioni indotta da un danno ipossico ed ipoglicemico in vitro sulla funzione colinergica nell'ileo di cavia.	F58
Di Biasi Giachelin	19/09/2005	Alessandro Fumagalli	Persistenza dell'inquinamento da piombo nelle aree urbane e sua correlazione con i metalli nobili	F58
Russo Stefania	19/09/2005	Riccardo Fesce	Studio elettrofisiologico dei canali al calcio voltaggio dipendenti in cellule neuronali	F58
Beretta Anna Rita	25/10/2005	Paolo Gerola	Studi sull'inibitore della B-glucuronidasi nello stilo di Nicotiana tabacum	F58
Marletta Cristina	25/10/2005	Nicoletta Landsberger	Caratterizzazione molecolare dell'interazione tra la methyl binding protein MeCP2 e la isopropil isomerasi pin1	F58

Tognoli Chiara	25/10/2005	Elena Bossi	Costruzione di vettori per lo studio dell'oligomerizzazione tramite FRET dei trasportatori di amminoacidi neutri CAATCH1 e KAAT1	F58
Zazzaron Sandro	25/10/2005	Stefano Banfi	Porfirine ioniche come agenti antibatterici	F58
Poli Nathan	19/12/2005	Bruno Cerabolini	Analisi della biodiversità vegetale in prati e pascoli in relazione al tipo di gestione del terreno	F58
Rigamonti Sara	19/12/2005	Riccardo Fesce	Neuroni primari di ippocampo: caratterizzazione di un modello cellulare per lo studio degli effetti dei cannabinoidi	F58
Vago Riccardo	19/12/2005	Bruno Cerabolini	Applicabilità del test di germinazione e allungamento radicale sulle acque dell'impianto di depurazione di S. Antonino Ticino	F58
Bianchi Anna	24/02/2005	Parolaro Daniela	Ruolo della cascata MAP/ERK chinasi nell'esposizione cronica ai cannabinoidi.	F32
Di Cerbo Andrea	24/02/2005	Fesce Riccardo	Approccio elettrofisiologico allo studio dei meccanismi cellulari attivati dal recettore cannabico cb1 nei neuroni.	F32
Battini Valeria	24/03/2005	Stefano Banfi	Attività antibatterica di fotosensibilizzanti di sintesi.	F32
Battini Vanessa	24/03/2005	Barbieri Paola	Identificazione ed analisi funzionale dei geni codificanti per la dealogenasi di arthrobacter ramosus FG1.	F32
Diani Laura	23/03/2005	Landsberger Nicoletta	Ricerca di nuovi interattori dell'oncoproteina PML/RARa mediante un nuovo approccio sperimentale.	F32
Longoni Giangiacomo	23/03/2005	Gerola Paolo	Individuazione e quantificazione della melatonina nei procarioti.	F32
Orsenigo Lorenza	23/03/2005	Cerabolini Bruno	Impiego tecniche per l'interruzione della dormienza nei semi di interesse naturalistico.	F32
Murano Roberto	23/03/2005	Stefano Banfi	Fotoinattivazione di cellule tumorali mediata da agenti porfirinici.	F32
Tomasini Sara	23/03/2005	Landsberger Nicoletta	Caratterizzazione molecolare dell'interazione tra la Methyl-CpG Binding Protein2 (MeCP2) e Lamin B Receptor (LBR).	F32
Castiglioni Chiara	18/07/2005	Daniela Parolaro	Ruolo della via Ras/ERK nei fenomeni adattativi a carico del recettore cannabico CB1 dopo esposizione cronica al delta 9 tetraidrocannabinolo (THC)	F32
Locarno Alessandra	18/07/2005	Bruno Cerabolini	La flora infestante nella vegetazione lombarda: caratteristiche funzionali ed ecologiche	F32
Testa Daniela	19/09/2005	Daniela Parolaro	L'esposizione cronica alla morfina produce alterazioni sia nella funzionalità del recettore cannabico CB1 che nei livelli degli endocannabinoidi	F32
Megioranza Enrica	25/10/2005	Maurizio Brivio	Mascheramento molecolare e risposta immunitaria cellulare in un modello parassita ospite	F32

Banfi Michela	16/12/2005	Elena Monti	Effetti dell'inibizione di IGF-1R sull'espressione/attività di HIF-1a e sulla risposta alla temozolomide in cellule di glioblastoma multiforme umano	F32
Vallese Barbara	16/12/2005	Elena Bossi	Studio funzionale dell'oligomerizzazione dei trasportatori di aminoacidi neutri KAAT1 e CAATCH1	F32
Zacchia Davide	16/12/2005	Elena Monti	Effetto della modulazione dell'espressione/attività di STAT1 e STAT3 nella risposta di linee cellulari di adenocarcinoma mammario alla doxorubicina	F32
Ughetti Francesca	18/03/2005	Gianfranco Badaracco	Effetto dello stress da pH acido sulle cellule del lievito <i>Saccharomyces cerevisiae</i> utilizzate nel processo di produzione della birra.	F56
Colombo Valentina	24/10/2005	Magda De Eguileor	Alterazioni morfo-funzionali degli emociti di <i>Heliothis virescens</i> indotte dall'ovodeposizione del parassitoide <i>Toxoneuron nigriceps</i>	F56
Ambrosetti Elena	19/12/2005	Gianluca Tettamanti	Interazione nel sistema ospite parassitoide <i>Heliothis virescens</i> / <i>Toxoneuron nigriceps</i> : crescita e differenziamento dell'epitelio intestinale larvale di <i>H. virescens</i>	F56
Dini Marco	19/12/2005	Paola Barbieri	Uso di tecniche biomolecolari per lo studio della distribuzione verticale di batteri fototrofi in un lago meromittico	F56
Ossola Alessandro	19/12/2005	Bruno Cerabolini	Valutazione del contributo dei Parchi lombardi ai fini del sequestro del carbonio	F54

DOTTORATI DI RICERCA

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

- A. Biologia cellulare e molecolare (Sede)**
- B. Neurobiologia (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
- G. Biotecnologie - Consorzio Univ. Parma Univ. Insubria – Referente: prof. Paola Barbieri

Dottorato di Ricerca in “Biologia cellulare e molecolare”

Coordinatore: Prof. Giovanni Bernardini

Durata del Dottorato: 3 anni

Curricula:

1. Biochimico
2. Biomolecolare
3. Fisiologico
4. Genetico-cellulare
5. Vegetale
6. Zoologico

Collegio Docenti:

Prof. Francesco Acquati
Prof. Gianfranco Badaracco
Prof. Giovanni Bernardini
Dr. Maurizio Brivio
Prof. Magda deEguileor
Prof. Mauro Fasano
Prof. Paolo Gerola
Dr. Stefano Giovannardi
Prof.ssa Nicoletta Landsberger
Prof. Antonio Peres
Prof. Loredano Pollegioni
Dr. Alberto Vianelli

Dottorato di ricerca in “Neurobiologia”

Coordinatore: Prof.ssa Daniela Parolaro

Durata del Dottorato: 3 anni

Collegio Docenti:

Prof. Daniela Parolaro
Prof. Riccardo Fesce
Dr. Ssa Elena Bossi
Dr. Marc Bonapace
Prof. Giustino Tomei
Prof. Jacopo Meldolesi
Prof. Fabio Grohovaz

Elenco delle pubblicazioni 2005

Articoli su riviste censite dall'Institute for Scientific Information

1. Ascenzi P, Bocedi A, Fasano M, Gioia M, Marini S, Coletta M. Proton-linked subunit heterogeneity in ferrous nitrosylated human adult hemoglobin: an EPR study. *JOURNAL OF INORGANIC BIOCHEMISTRY* 99 (5): 1255-1259 MAY 2005
2. Ascenzi P, Bocedi A, Notari S, Menegatti E, Fasano M. Heme impairs allosterically drug binding to human serum albumin Sudlow's site I. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS* 334 (2): 481-486 AUG 26 2005
3. Ascenzi P, Bocedi A, Visca P, Altruda F, Tolosano E, Beringhelli T, Fasano M. Hemoglobin and heme scavenging. *IUBMB LIFE* 57 (11): 749-759 NOV 2005
4. Bisaglia M, Tessari I, Pinato L, Bellanda M, Giraudo S, Fasano M, Bergantino E, Bubacco L, Mammi S. A topological model of the interaction between alpha-synuclein and sodium dodecyl sulfate micelles. *BIOCHEMISTRY* 44 (1): 329-339 JAN 11 2005
5. Borga K, Di Guardo A. Comparing in measured and predicted PCB concentrations Arctic seawater and marine biota. *SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT* 342 (1-3): 281-300 Sp. Iss. SI APR 15 2005
6. Caccia S., Leonardi M.G., Casartelli M., Grimaldi A., de Eguileor M., Pennacchio F., Giordana B., 2005. Nutrient absorption by *Aphidius ervi* larvae. *Journal of Insect Physiology*, 51:1183-1192
7. Cseh Z, Vianelli A, Rajagopal S, Krumova S, Kovacs L, Papp E, Barzda V, Jennings R, Garab G. Thermo-optically induced reorganizations in the main light harvesting antenna of plants. I. Non-Arrhenius type of temperature dependence and linear light-intensity dependencies. *PHOTOSYNTHESIS RESEARCH* 86 (1-2): 263-273 NOV 2005
8. Fanali G, Fesce R, Agrati C, Ascenzi P, Fasano M. Allosteric modulation of myristate and Mn(III)heme binding to human serum albumin. *FEBS JOURNAL* 272 (18): 4672-4683 SEP 2005
9. Fasano M, Curry S, Terreno E, Galliano M, Fanali G, Narciso P, Notari S, Ascenzi P. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. Source: *IUBMB LIFE* 57 (12): 787-796 DEC 2005
10. Ferrarese R., M F Brivio, T Congiu, P Falabella, A Grimaldi, M Mastore, G Perletti, F Pennacchio, L Sciacca, G Tettamanti, R Valvassori, M de Eguileor. Early suppression of immune response in *Heliothis virescens* larvae by the endoparasitoid *Toxoneuron nigriceps*. *Inv. Surv. J.*, 2: 60-68, 2005.
11. Gramatica, P., and Ester Papa. An update of the BCF QSAR model based on theoretical molecular descriptors. *QSAR & Combinatorial Science* 24, 953-960, 2005
12. Gramatica, P., Pamela Pilutti and Ester Papa. Ranking of Phenols for Abiotic Oxidation in Aqueous Environment: a QSPR Approach *Annali di Chimica*, 95, 199-209.2005
13. Guglielmin M., Cannone N., Strini A., Lewkowicz A. G., 2005. Biotic and Abiotic Processes on Granite Weathering Landforms in cryotic environment, Northern Victoria Land, Antarctica. *Permafrost and Periglacial Processes*, 16: 69 – 85.
14. Hodgson JG, Montserrat-Marti G, Cerabolini B, Ceriani RM, Maestro-Martinez M, Peco B, Wilson PJ, Thompson K, Grime JP, Band SR, Bogard A, Castro-Diez P, Charles M, Jones G, Perez-Rontome MC, Caccianiga M, Alard D, Bakker JP, Cornelissen JHC, Dutoit T, Grootjans AP, Guerrero-Campo J, Gupta PL, Hynd A, Kahmen S, Poschlod P, Romo-Diez A, Rorison IH, Rosen E, Schreiber KF, Tallowin J, Espuny LD, Villar-Salvador P. A functional method for classifying European grasslands for use in joint ecological and economic studies *BASIC AND APPLIED ECOLOGY* 6 (2): 119-131 2005

15. Jaward FM, Di Guardo A, Nizzetto L, Cassani C, Raffaele F, Ferretti R, Jones KC. PCBs and selected organochlorine compounds in Italian mountain air: the influence of altitude and forest ecosystem type. ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY 39 (10): 3455-3463 MAY 15 2005
16. Mari F, Azimonti S, Bertani I, Bolognese F, Colombo E, Caselli R, Scala E, Longo I, Grosso S, Pescucci C, Ariani F, Hayek G, Balestri P, Bergo A, Badaracco G, Zappella M, Broccoli V, Renieri A, Kilstrup-Nielsen C, Landsberger N. CDKL5 belongs to the same molecular pathway of MeCP2 and it is responsible for the early-onset seizure variant of Rett syndrome
Source: HUMAN MOLECULAR GENETICS 14 (14): 1935-1946 JUL 15 2005
17. Micheletti M, Brioschi A, Fesce R, Grohovaz F. A novel pattern of fast calcium oscillations points to calcium and electrical activity cross-talk in rat chromaffin cells. CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES 62 (1): 95-104 JAN 2005
18. Monti E, Gariboldi MB, Maiocchi A, Marengo E, Cassino C, Gabano E, Osella D. Cytotoxicity of Platinum(II) Conjugate Models. The Effect of Chelating Arms and Leaving Groups on Cytotoxicity: a QSAR Approach. J Med Chem 48:857-866, 2005.
19. Mueller J. , Renesto S. and Evans S. E., (2005) - The marine diapsid reptile *Endennasaurus* from the Upper Triassic of Italy: Palaeontology, v. 48, p. 15-30
20. Netzeva, T.I., A. P. Worth, T. Aldenberg, R. Benigni, M. T.D.Cronin, P.Gramatica, J. S. Jaworska, S.Kahn, G. Klopman, C. A. Marchant, G. Myatt, N. Nikolova-Jeliazkova, G. Y. Patlewicz, R. Perkins, D.W. Roberts, T.W. Schultz, D. T. Stanton, J. J.M. van de Sandt, W. Tong, G. Veith and C. Yang. Current Status of Methods for Defining the Applicability Domain of (Quantitative) Structure–Activity Relationships. ATLA 33, 155–173, 2005.
21. Papa, E., F.Battaini and P.Gramatica. Ranking of Esters' Aquatic Toxicity modelled by QSAR. Chemosphere 2005, Vol 58/5 pp 559-570.
22. Parolaro D, Vigano D, Rubino T. Endocannabinoids and drug dependence. Curr Drug Targets CNS Neurol Disord. 2005, 4(6):643-55.
23. Perletti G, Marras E, Dondi D, Osti D, Congiu T, Ferrarese R, de Eguileor M, Tashjian AH. p21^{Waf1/Cip1} and p53 are downstream effectors of Protein Kinase C delta in tumor suppression and differentiation in human colon cancer cells. International Journal of Cancer 113: 42-53, 2005
24. Perletti G., Marras E., Dondi D., Osti D., Congiu T., Ferrarese R., de Eguileor M., Tashjian A.H. Jr., 2005. p21(Waf1/Cip1) and p53 are downstream effectors of protein kinase C delta in tumor suppression and differentiation in human colon cancer cells. International Journal of Cancer, 113: 42-53
25. Pierce S, Vianelli A, Cerabolini B. From ancient genes to modern communities: the cellular stress response and the evolution of plant strategies . FUNCTIONAL ECOLOGY 19 (5): 763-776 OCT 2005
26. Ravera M, Cassino C, Monti E, Gariboldi M, Osella D. Enhancement of the cytotoxicity of titanocene dichloride by aging in organic co-solvent. J Inorg Biochem 99: 2264-2269, 2005
27. Renesto S. (2005) - A possible find of *Endennasaurus* (Reptilia, Thalattosauria) with a comparison between *Endennasaurus* and *Pachystropheus*: Neues Jahrbuch fuer Geologie und Palaeontologie Monatshefte 2005:118-128.
28. Renesto S. (2005) – A new specimen of *Tanystropheus* (Reptilia, Protorosauria) from the Middle Triassic of Switzerland and the ecology of the genus Rivista Italiana di Paleontologia e Stratigrafia, v. 111, 377-393.
29. Renesto S. and Dalla Vecchia F. M. (2005) - The skull and lower jaw of the holotype of *Megalancosaurus preonensis* (Diapsida, Drepanosauridae) from the Upper Triassic of Northern Italy: Rivista Italiana di Paleontologia e Stratigrafia, v. 111, 247-

257.

30. Renesto S., Gozzi E. and Tintori A. (2005) - Archosaur (possibly theropod) teeth from the Norian (Late Triassic) of Lombardy (Northern Italy) Neues jahrbuch fuer Geologie und palaeontology Monatshefte 2005: 529-546
31. Rinaldi L., Basso P., Tettamanti G., Grimaldi A., Terova G., Saroglia M., de Eguileor M., 2005. Oxygen availability causes morphological changes and a different VEGF/FIk-1/HIF-2 expression pattern in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) gills. *The Italian Journal of Zoology* , 72: 103-111
32. Della Pergola Roberto, Maurizio Bruschi, Fabrizia Fabrizi de Biani, Alessandro Fumagalli, Luigi Garlaschelli, Franco Laschi, Mario Manassero, Mirella Sansoni, and Piero Zanello C. R A new multivalent cluster: synthesis, electrochemistry, solid state structure and computational studies on the iron-nickel mixed-metal nitride anions $[\text{Fe}_6\text{Ni}_6\text{N}_2(\text{CO})_{24}]^{n-}$ (n = 2, 3, 4). . *Chimie*, 2005, 8, 1850-1855.
33. Rubino T, Forlani G, Viganò D, Zippel R, Parolaro D. Ras/ERK signalling in cannabinoid tolerance: from behaviour to cellular aspects. *J Neurochem*. 2005, 93(4):984-91.
34. Sacchi O, Rossi ML, Canella R, Fesce R. Biophysical properties of the silent and activated rat sympathetic neuron following denervation. *NEUROSCIENCE* 135 (1): 31-45 2005
35. Sacerdote P, Martucci C, Vaccani A, Bariselli F, Panerai AE, Colombo A, Parolaro D, Massi P. The nonpsychoactive component of marijuana cannabidiol modulates chemotaxis and IL-10 and IL-12 production of murine macrophages both in vivo and in vitro. *J Neuroimmunol*. 2005, 159(1-2):97-105.
36. Soragna, A., Bossi, E., Giovannardi, S., Pisani, R., & Peres, A. (2005). Functionally independent subunits in the oligomeric structure of the GABA cotransporter rGAT1. *CMLS* 62, 2877-2885.
37. Soragna, A., Bossi, E., Giovannardi, S., Pisani, R., & Peres, A. (2005). Relations between substrate affinities and charge equilibration rates in the GABA cotransporter rGAT1. *Journal of Physiology* 562, 333-345.
38. Tettamanti G., Grimaldi A., Congiu T., Perletti G., Raspanti M., Valvassori R., de Eguileor M., 2005. Collagen reorganization in leech wound healing. *Biology of the Cell* , 97: 557-568
39. Vaccani A, Massi P, Colombo A, Rubino T, Parolaro D. Cannabidiol inhibits human glioma cell migration through a cannabinoid receptor-independent mechanism. *Br J Pharmacol*. 2005, 144(8):1032-6.
40. Viganò D, Rubino T, Parolaro D. Molecular and cellular basis of cannabinoid and opioid interactions. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005, 81(2):360-8.
41. Viganò D, Rubino T, Vaccani A, Bianchessi S, Marmorato P, Castiglioni C, Parolaro D. Molecular mechanisms involved in the asymmetric interaction between cannabinoid and opioid systems. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005, 182(4):527-36.

Articoli su altre riviste

1. Brivio M F, M Mastore, M. Pagani. Parasite-host relationship: a lesson from a professional killer. *Inv. Surv. J.*, 2: 41-53 (Review), 2005.
2. Ferrarese R., Brivio M., Congiu T., Falabella P., Grimaldi A., Mastore M., Perletti G., Pennacchio F., Sciacca L., Tettamanti G., Valvassori R., de Eguileor M., 2005. Early suppression of immune response in *Heliothis virescens* larvae by the endophagous parasitoid *Toxoneuron nigriceps*. *Invertebrate Survival Journal*, 2: 60-68

3. Firpo M., Guglielmin M., Queirolo C. 2005 Blockfields and blockstreams in the Ligurian Alps (Mount Beigua, Italy), *Geografia Fisica e Dinamica Quaternaria*, 28, 2, 193-204.
4. Fraser N. C. and Renesto S. (2005) - Additional drepanosaur elements from the Triassic Fissure Infills of Cromhall Quarry, England: *Jeffersoniana*, v. 15, p. 1-16.
5. Gramatica, P., F.Villa and E.Papa. Statistically validated QSARs and theoretical descriptors for the modelling of the aquatic toxicity of organic chemicals in *Pimephales promelas* (Fathead Minnow) *J.Chem.Inf.Model* 45,1256-1266. 2005
6. Guglielmin M., Ellis Evans JC., Cannone N. 2004. Interactions between Climate, Vegetation and Active Layer in Maritime and Continental Antarctica for Climate Change Monitoring, *Terra Antarctica Reports* 11: 15-26

Capitoli di libri

1. Benfenati F., R. Fesce. Trasmissione sinaptica: liberazione dei neurotrasmettitori, pp 131-150 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. I, 784 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
2. Fesce R., F. Benfenati. Funzioni glomerulari, pp 541-553 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. II, 848 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
3. Fesce R., F. Benfenati. Funzioni tubulari, pp 555-570 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. II, 848 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
4. Fesce R., F. Benfenati. Introduzione alla funzione renale e al bilancio idrosalino, pp 525-539 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. II, 848 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
5. Fesce R., F. Benfenati. Regolazione dell'osmolarità, pp 571-585 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. II, 848 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
6. Fesce R., F. Benfenati. Regolazione e autoregolazione renale, pp 587-596 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. II, 848 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
7. Fesce R.. Attività elettrica del cuore, pp 107-134 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. II, 848 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
8. Fesce R.. Controllo del pH dell'organismo, pp 599-615 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. II, 848 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
9. Fesce R.. La cellula come sistema biologico integrato, pp 35-63 in F. Conti (Ed.) *Fisiologia Medica* vol. I, 784 pp., Edi-Ermes, Milano, 2005.
10. Guglielmin, M. Il permafrost, componente critico dell'ambiente alpino e memoria paleoambientale, 115-136. IN: *Il ghiaccio nelle Alpi. Una risorsa strategica per l'ambiente dell'alta montagna* a cura di G. Orombelli 2004, Bonomia University Press, 160 pp.
11. Nicosia U., Avanzini M., Barbera C., Conti M. A., Dalla Vecchia F. M., Dal Sasso C., Gianolla P., Leopardi G., Loi M., Mariotti M., Mietto P. Morsilli M., Paginoni A., Petti F. M., Piubelli D., Raia P., Renesto S., Sacchi E., Santi G., Signore M., (2005) - I vertebrati continentali del Paleozoico e del Mesozoico; pp. 41-66 in Bonfiglio L. (ed.) *Paleontologia dei Vertebrati in Italia*, 238 pp., Museo Storia Naturale Verona
12. Parolaro D., Rubino T. "Cannabinoids and Drugs of abuse" In RAPHAELE MECHOULAM. *Cannabinoids as Therapeutics.*; 2005, pp.: 207-218; ISBN: 3-7643-7055-6.
13. Tintori A., Avanzini M., Dalla Vecchia F. M., Lombardo C., Nosotti S., Renesto S., Ronchi A. (2005) – Il Permo Triassico marino – i siti minori, pp. 29-40 in Bonfiglio L. (ed.) *Paleontologia dei Vertebrati in Italia*, 238 pp., Museo Storia Naturale Verona.

14. Tintori A., Dal Sasso C., Felber M., Lombardo C., Nosotti S., Renesto S., Teruzzi G. (2005) – Il Triassico Medio delle Prealpi Lombarde, pp. 67-80 in Bonfiglio L. (ed.) *Paleontologia dei Vertebrati in Italia*, 238 pp. Museo Storia Naturale Verona.
15. Tintori A., Dalla Vecchia F. Gozzi E., Lombardo C., Muscio G., Renesto S. (2005) - Il Norico marino dell'Italia Settentrionale, pp. 81-94 in Bonfiglio L. (ed.) *Paleontologia dei Vertebrati in Italia*, 238 pp., Museo Storia Naturale Verona

Comunicazioni a congressi

1. Banfi S, Caruso E, Buccafurni L, Murano R, Monti E., Gariboldi MB, Ravizza R, Terni F. Photosensitizing activity of di- or tetraaryl-porphyrins on HCT116 cells. 11th Congress of the European Society for Photobiology. 3-8 settembre 2005. (pp. 132).
2. Banfi S, Caruso E, Monti E., Gariboldi MB, Alemani S, Nasini G. In vitro photodynamic efficacy of emodine bearing porphyrins. 11th Congress of the European Society for Photobiology. 3-8 settembre 2005. (pp. 132).
3. Banfi S., E. Monti, M. Gariboldi, E. Caruso, R. Ravizza, F. Terni, L. Buccafurni, R. Murano. *Di- or tetra-arylporphyrins as photosensitizers? That is the question..* 10th world Congress of the Interantional Photodynamic Association, Munich, June 22 – 25, 2005.
4. Banfi S., V. Battini, E. Caruso, L. Buccafurni, S. Zazzaron, P. Barbieri, V. Orlandi. *Tetraaryl-porphyrins as antibacterial photosensitizers.* ESP , Aix les Bains, 3 – 8 September 2005.
5. Barbieri P., V. Orlandi, V. Battini, E. Caruso, S. Banfi. *Antibacterial activity of porphyrin photosensitizers.* IUMS, San Francisco, July 2005
6. Boelhouwers J., Balks M., Bockheim J., Csatho B., Guglielmin M., Hallam C., Sletten R. (2005) ANTPAS – Antarctic Permafrost and Soils. A contribution to understanding the Antarctic terrestrial cryosphere, Presented at Climate and Cryosphere Conference, Beijing, China, 11-18 August 2005
7. Boelhouwers J., Balks M., Bockheim J., Csatho B., Guglielmin M., Hallam C., Sletten R. (2005) ANTPAS – Antarctic Permafrost and Soils. A contribution to understanding the Antarctic terrestrial cryosphere, Presented at 2th European Conference on Permafrost EUCOP II, Potsdam, 12-16/0/05. Terra Nostra, 119-120
8. Bossi, E., A. Soragna, S. Giovannardi, A. Peres, Oligomeric structure of the neutral amino acid transporters KAAT1 and CAATCH1. 56° Congresso Soc. It. Fisiologia – Palermo
9. Caccia S., M.G. Leonardi, M. Casartelli, A. Grimaldi, M. de Eguileor, F. Pennacchio, B. Giordana, 2005, Assorbimento di nutrienti nella larva di *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera, Braconidae). 66° Congresso Nazionale Unione Zoologica Italiana 19-22 settembre. Roma.
10. Caccia S., A. Grimaldi, M. Casartelli, M.G. Leonardi, M. de Eguileor, F. Pennacchio, B. Giordana, 2005, Assorbimento di zuccheri, amminoacidi e acidi grassi nella larva di *Aphidius ervi*. XX CNIE (Firenze).
11. Cannone N. Guglielmin M 2005 Pioneer alpine vegetation as a tool for the reconstruction of recent glaciers fluctuations in the Italian Central Alps 9th Alpine Glaciological Meeting, Milan, 24-26/2/05
12. Cannone N. Guglielmin M. 2005 Different impacts of climate change in permafrost and permafrost-free areas in the Italian Central Alps. Presented at 2th European Conference on Permafrost EUCOP II, Potsdam, 12-16/0/05. Terra Nostra, 35-36.
13. Cannone N. Guglielmin M. 2005 Relationships between periglacial features and

vegetation in Continental and Marittime Antarctica. Presented at 5th CONGA, Milan, 19-21/10/2005

14. Cannone N. Guglielmin M., Wagner D., Hubberten H.W., 2005 Active layer characteristics and bacterial occurrence across a latitudinal gradient in Victoria Land (Continental Antarctica) as indicator of functional processes in permafrost environments and ecosystem Presented at 2th European Conference on Permafrost EUCOP II, Potsdam, 12-16/0/05. Terra Nostra, 36-37
15. Cannone N., Guglielmin M. (2005) Different impacts of recent climatic changes on permafrost and permafrost-free areas in the Italian Central Alps, Presented at Geoitalia 2005, Spoleto, 21-23/9/2005
16. Cannone N., Guglielmin M. 2005 Relationships between vegetation and recent glacial history in Marittime Antarctica Presented at 5th CONGA, Milan, 19-21/10/2005
17. Caruso, S. Banfi, E. Monti, M. Gariboldi, L. Buccafurni, V. Orlandi, P. Barbieri., V. Battini. 2005. Possibili applicazioni di nuovi fotosensibilizzanti della famiglia delle porfirine nella terapia fotodinamica. 5° Sigma Aldrich Young Chemists Symposium. Riccione. PF12.
18. Corti P., M. Casartelli, A. Grimaldi, L. Fiandra, M.G. Leonardi, M. de Eguileor, F. Pennacchio, B. Giordana, 2005 Trasporto di proteine nell'intestino medio delle larve di lepidottero. XX CNIE (Firenze).
19. de Eguileor M., R Ferrarese, M Brivio, M Mastore, A Grimaldi, G Tettamanti, R Valvassori *Heliothis virescens/Toxoneuron nigriceps*: parasitoid strategies for succesful endoparasitic development. VIIth scientific meeting of IADCI, 2005.
20. De Ponte S., Guglielmin M., Strini A., 2005 Effects of the wind on some weathering features in Northern Victoria Land : an experimental approach. Presented at 5th CONGA, Milan, 19-21/10/2005
21. Di Guardo, A., Infantino, A, Nizzetto, L., Miano, L., Gaion, A., Zanovello, A., Vianello, M., Otto, S., Zanin, G. (2005) Modelling Approaches To Study The Efficacy of Buffer Strips In Reducing Surface Water Contamination of Pesticides, 15th Annual Meeting Of Setac Europe, 22 - 26 May 2005. Lille, France.
22. Dramis F. Guglielmin M. 2005 permafrost degradation and slope instability in mountain areas : case studies from the Italian Alps Presented at 2th European Conference on Permafrost EUCOP II, Potsdam, 12-16/0/05. Terra Nostra, 176-177.
23. Falabella P., P. Varricchio, M. de Eguileor, V. Ursin, C. Malva, F. Pennacchio, 2005, Blocco della traslocazione nucleare di NFkb indotto dal polydnavirus associato a *toxoneuron nigriceps*. XX CNIE (Firenze).
24. Fiandra L., M. de Eguileor, N. Burlini, R. Rao, B. Giordana, 2005, Effetti di una chitinosi ricombinante (AcMNPV-ChiA) sulla permeabilità della membrana peritrofica e sulla fisiologia intestinale di un lepidottero. 66° Congresso Nazionale Unione Zoologica Italiana 19-22 settembre. Roma.
25. Firpo M. Guglielmin M. Queirolo C. 2005 Characteristics of flow structures and pattern of long axis orientation of blocks in the blockfields of the Beigua Massif (western Liguria, Italy) Presented at 6th International Conference of Geomorphology, Zaragoza, 7-11/09/05, abstract volume P. 24
26. Gariboldi M., Ravizza R., Terni F., Caruso E., Banfi S., Buccafurni L., Monti E. Photodynamic effects of novel photosensitizers in human colon adenocarcinoma cells. 96th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research. 16-23 Aprile 2005. (vol. 44).
27. Gariboldi MB, Mettifogo F, Banfi M, Terni F, Ravizza R, Monti E.. L'inibizione di IGF-IR modula l'espressione e l'attività di HIF-1 alfa e aumenta la tossicità della temozolomide in cellule di glioblastoma. Workshop Nazionale su Meccanismi di farmacoresistenza e radioresistenza delle cellule tumorali. 5-7 dicembre 2005. (pp.

- 55).
28. Gariboldi MB, Terni F, Ravizza R, Caruso E, Banfi S, Buccafurni L, Monti E.. Photodynamic effects of novel photosensitizers in human colon carcinoma cells. 32° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia. 1-4 giugno 2005. (pp. 179).
 29. Gariboldi MB, Terni F, Ravizza R, Meschini S, Marra M, Arancia G, Monti E.. Effetto del nitrossido Tempol sulla resistenza di cellule di adenocarcinoma mammario con fenotipo MDR alla doxorubicina. Workshop Nazionale su Meccanismi di farmacoresistenza e radioresistenza delle cellule tumorali. 5-7 dicembre 2005. (pp. 24).
 30. Gariboldi MB, Terni F, Ravizza R, Meschini S, Marra M, Arancia G, Monti E. (2005). The piperidine nitroxide Tempol affects multiple mechanisms involved in anthracycline resistance. 32° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia. 1-4 giugno 2005. (pp. 179).
 31. Giovannardi, S., Soragna, A., Bossi, E. And Peres, A. The functional unit in the oligomeric structure of the gaba transporter rgat1 is the monomer. 56° Congresso Soc. It. Fisiologia – Palermo
 32. Gramatica P. and Papa E. Statistical validation of QSAR models. 15th Annual Meeting SETAC-Europe (Lille, 22-26 May 2005) Platform
 33. Gramatica P. L'approccio modellistico QSAR (Quantitative Structure Activity Relationships) agli interferenti endocrini. Convegno "La Ricerca Biologica e Clinica sugli Interferenti Endocrini: Attualità e Prospettive" (27-28 Ottobre 2005- Roma) Conferenza su invito
 34. Gramatica P. Statistical validation and applicability domain of QSAR models. UK QSAR & Chemoinformatics Spring Meeting 2005 -University of Surrey – Guildford (UK), 13-14 April 2005. Invited lecture
 35. Gramatica P. WHIMs and shape. 15th Annual Meeting SETAC-Europe (Lille, 22-26 May 2005)
 36. Gramatica P., E. Giani and E. Papa. Development and statistical validation of QSAR models for regulatory acceptance in managing the chemical risk: BCF and Koc. 10th EuCheMS-DCE Int.Conf. (4-9 September 2005)
 37. Gramatica P., E. Giani, E. Papa, D. Preatoni, R. J. A. Jones and R. M. Cenci. Heavy metals in soils and mosses of Piedmont and Aosta Valley (Italy): a multivariate and GIS approach. 10th EuCheMS-DCE Int.Conf. (4-9 September 2005)
 38. Gramatica P., E. Giani and E. Papa. Development and statistical validation of QSAR models for regulatory acceptance in managing the chemical risk: BCF and Koc. 13th Inter. Symp. of MESAEP (Thessaloniki-Grecia, 8-12 October 2005)
 39. Gramatica, P., Giani, E., Papa, E., Preatoni, D., Jones, R. J. A., Musmeci, L. and Cenci, R. M. Monitoring heavy metals in three regions of Italy using mosses and soils as indicators: a multivariate and GIS approach. 13th Inter. Symp. of MESAEP (Thessaloniki-Grecia, 8-12 October 2005)
 40. Gramatica, P., Marotta, R., Papa E., Minuti, L., Morozzi, G., and Taticchi, A. QSAR modelling of PAH mutagenicity by classification methods based on theoretical molecular descriptors. 15th Annual Meeting SETAC-Europe (Lille, 22-26 May 2005)
 41. Gramatica, P., Marotta, R., Papa E., Minuti, L., Morozzi, G., and Taticchi, A. QSAR modelling of PAH mutagenicity by classification methods based on theoretical molecular descriptors. 10th EuCheMS-DCE Int.Conf. (4-9 September 2005)
 42. Gramatica, P., Marotta, R., Papa E., Minuti, L., Morozzi, G., and Taticchi, A. QSAR modelling of PAH mutagenicity by classification methods based on theoretical molecular descriptors. 13th Inter. Symp. of MESAEP (Thessaloniki-Grecia, 8-12 October 2005)

43. Gramatica, P., Papa, E., Giani, E., Cenci, R. and Preatoni, D. Organic pollutant uptake by vegetable probes and biomonitoring of moss-linked metals in regions of Northern Italy. 15th Annual Meeting SETAC-Europe (Lille, 22-26 May 2005)
44. Grimaldi A., G. Tettamanti, L. Guidali, R.Valvassori, M. de Eguileor, 2005 Ruolo della proteina hedgehog nello sviluppo embrionale di *Sepia officinalis* (Mollusca). 66° Congresso Nazionale Unione Zoologica Italiana 19-22 settembre. Roma.
45. Guglielmin M. 2005 Il permafrost e il Cambiamento Climatico. Conferenza nazionale sull'Antartide, Accademia dei Lincei, Roma 17/10/05
46. Guglielmin M. 2005 Active layer and permafrost monitoring programme in Northern Victoria Land. First step towards ANTPAS network. Presented at 5th CONGA, Milan, 19-21/10/2005
47. Guglielmin M. 2005 Rete di Monitoraggio dello strato attivo e del permafrost in Antartide: stato dell'arte e prospettive future. Workshop ATRA: Aspetti Tecnologici della Ricerca in Antartide. Roma, 6/05/2005
48. Guglielmin M. Rock Glaciers and Glaciers during the Holocene in the Italian alps. 9th Alpine Glaciological Meeting, Milan, 24-26/2/05
49. Guglielmin M., Dramis F. 2005 Active layer and permafrost monitoring programme in Northern Victoria Land. First results and future perspectives. Presented at 6th International Conference of Geomorphology, Zaragoza, 7-11/09/05, abstract volume P. 435
50. Guglielmin M., Dramis F. 2005 La cartografia del permafrost montano e il GIS: metodi e primi risultati., Workshop AIGEO, Rossano Calabro, 19-21/05/05.
51. Guglielmin M., Lozej A., Morra Di Cella U., 2005, New data on permafrost distribution and thermal regime in the Italian Alps, Presented at 2th European Conference on Permafrost EUCOP II, Potsdam, 12-16/0/05. Terra Nostra, 126-127.
52. Infantino, A. , Volta, P., Borgå, K., Bettinetti, R., Di Guardo, A. (2005) Development of a Bioaccumulation Dynamic Model To Study The DDT Contamination of Aquatic Organisms, 15th Annual meeting of SETAC Europe, 22 - 26 May 2005. Lille, France.
53. Landsberger N. CDKL5 belongs to the same molecular pathway of MeCP2 and it is responsible for the early seizure variant of Rett syndrome. ICGB meeting on Epigenetic ottobre 2005
54. Landsberger N. CDKL5 belongs to the same molecular pathway of MeCP2 and it is responsible for the early seizure variant of Rett syndrome. Chromatin and epigenetics. Alan Wolffe EMBO Conference maggio 2005
55. Landsberger N. Identification and characterization of proteins that interacting with MeCP2 could be involved in Rett Syndrome. XIII Convention telethon marzo 2005
56. Landsberger N. Invitata a presentare una comunicazione orale PRIMO WORKSHOP SIBBM-EPIGENETICA E TRASCRIZIONE maggio 2005
57. Mari, S.A., Soragna, A., Castagna, M., Santacroce, M., Perego, C, Bossi, E., Peres, A., and V. F. Sacchi*. Role of the Conserved Glutamine 291 in the rat γ -Aminobutyric Acid Transporter *rgat-1*. Molecular determinants of synapse function: Molecules and Models Southampton, UK
58. Massa V., Radice F., Orlandi V., Barbieri P. 2005. Isolamento di batteri Gram positivi ad alto contenuto in GC da suoli contaminati. Meeting Microbiologia Ambientale, Bertinoro (BO).
59. Monti E., Terni F, Mettifogo F, Gariboldi MB. (2005). IGF-IR inhibition modulates HIF-1 α expression/activity and enhances the cytotoxicity of temozolomide in human glioblastoma cells. AACR-NCI-EORTC International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics, Philadelphia. 14-18 novembre 2005. (vol. 11, Clin Cancer Res, pp. 9134s).
60. Monti E.. Determinanti biochimici della farmaco-resistenza e ruolo dell'ipossia.

- Workshop Nazionale su Meccanismi di farmacoresistenza e radioresistenza delle cellule tumorali. 5-7 dicembre 2005. (pp. 17-19).
61. Nizzetto, L., Jaward, F., Jones, K. C., Di Guardo, A. (2005) PCBs And HCB In Italian Mountain Air: The Influence Of Altitude And Forest Ecosystem Type, 15th Annual meeting of SETAC Europe, 22 - 26 May 2005. Lille, France.
 62. Orlandi V., Venegoni S., Buccafurni L., Caruso E., Banfi S., Barbieri P. 2005. Optimization of toluene-o-xylene monooxygenase biotransformation conditions. VII Conv. FISV, Riva del Garda (TN). D2-10.
 63. Osti D, Marras E, Grassini G, Ceriani I and Perletti G. Overcoming position effects: a comparative analysis of lentiviral vectors carrying multiple genes. 10th World Congress on Advances in Oncology and 7th International Symposium on Molecular Medicine. Heraklion, 2005. Published in: International Journal of Molecular Medicine, 16, S24, (2005).
 64. Papa E. and P. Gramatica. Structurally-based tools for the screening and prediction of the environmental persistence of organic chemicals. 10th EuCheMS-DCE Int.Conf. (4-9 September 2005) Platform
 65. Papa E. and P. Gramatica. Structurally-based tools for the screening and prediction of the environmental persistence of organic chemicals. XV Congresso Nazionale SitE 2005- Torino 12-14 Settembre 2005, orale
 66. Papa E. and P. Gramatica. Structurally-based tools for the screening and the prediction of the environmental persistence of organic chemicals. 13th Inter. Symp. of MESAEP (Thessaloniki-Grecia, 8-12 October 2005) Platform
 67. Papa E., E. Giani and P. Gramatica Organic pollutant uptake and bioconcentration in vegetation. 13th Inter. Symp. of MESAEP (Thessaloniki-Grecia, 8-12 October 2005)
 68. Papa E., E. Giani and P. Gramatica. Organic pollutant uptake and bioconcentration in vegetation. 10th EuCheMS-DCE Int.Conf. (4-9 September 2005) Premio come miglior Poster
 69. Papa E., E. Giani and P. Gramatica. Organic pollutant uptake and bioconcentration in vegetation. XV Congresso Nazionale SitE 2005- Torino 12-14 Settembre 2005
 70. Papa E., M. Cronin and P. Gramatica. QSAR models for the acute toxicity of heterogeneous chemicals in *Vibrio Fischeri*. 10th EuCheMS-DCE Int.Conf. (4-9 September 2005)
 71. Papa E., M. Cronin and P. Gramatica. QSAR models for the acute toxicity of heterogeneous chemicals in *Vibrio Fischeri*. 13th Inter. Symp. of MESAEP (Thessaloniki-Grecia, 8-12 October 2005)
 72. Papa E., P. Gramatica, S. Banfi, E. Caruso. *QSAR modelling and prediction of tumoricidal activity of aryl-porphyrins in photodynamic therapy*. ESP, Aix les Bains, 3 - 8 September 2005.
 73. Papa, E., Gramatica, P. and Dearden J.C. Linear Regression Models for the prediction of Bioconcentration Factor by physicochemical properties and structural theoretical molecular descriptors. 15th Annual Meeting SETAC-Europe (Lille, 22-26 May 2005)
 74. PAROLARO D. (2005). Cannabinoids and other drugs of abuse: opioids. Second European Workshop on Cannabinoids research, Busto A. (VA) 29-30 aprile
 75. PAROLARO D. (2005). Endocannabinoid system and opioid addiction: biochemical aspects Behavioral Pharmacology Barcellona 10-12 settembre
 76. PAROLARO D.; RUBINO T. (2005). Molecular basis of cannabinoid tolerance: from CB1 receptor to the nucleus. 32^o Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, Castel dell'Ovo, Napoli 1-4 Giugno.
 77. PERLETTI G. OSTI D. MARRAS E.; GRASSINI G. CERINI I. RUBINO T.; VIGANO

- D.; PAROLARO D. (2005). Generation of a lentiviral vector system for in vitro and in vivo long-term overexpression of the fatty acid amide hydrolase. 2nd European Workshop on Cannabinoid Research, Busto Arsizio (Italy), April 29-30.
78. Radice F., Battini V., Barbieri P. 2005. Identification and functional analysis of dehalogenase genes in *Arthrobacter ramosus* FG1. B-1301. XI Int. Cong. of Bacteriology and Applied Microbiology. S. Francisco (CA, USA) p. 171.
 79. Radice F., Battini V., Reineke W. , Barbieri P. 2005 Construction of hybrid pathways for the degradation of haloaromatic compounds. VII Conv. FISV, Riva del Garda (TN). D10-11.
 80. Ravizza R, Gariboldi MB, Terni F, Zacchia D, Monti E.. Role of Stat3 in the response of human breast carcinoma cells to doxorubicin. 32° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia. 1-4 giugno 2005. (pp. 182).
 81. Renesto S. (2005) Recent development of research on Middle and Late Triassic reptiles from Lombardy . GEOITALIA 2005, Spoleto, 21-23 settembre 2005
 82. Renesto S. (2005) Soft tissue preservation in *Tanystropheus* (Diapsida Protosauria): paleobiological implications pp. 22, abstract volume of the 53° Symposium on Vertebrate Paleontology and Comparative Anatomy, London, 7-9 Settembre 2005.
 83. RUBINO T. (2005). Protein kinases in cannabinoid receptor signalling. 2nd European Workshop on Cannabinoid Research, Busto Arsizio (Italy), April 29-30.
 84. RUBINO T. (2005). Role of endocannabinoids in the modulation of anxious states. Congress of the Italian Society for Neuroscience and Joint Italian-Swedish Neuroscience Meeting. Regina Isabella Congress Center, Lacco Ameno, Ischia (NA), 1-4 October.
 85. RUBINO T.; VIGANO D.; CASTIGLIONI C.; PREMOLI F.; PAROLARO D. (2005). Role of Ras/Erk pathway in the CB1 receptor trafficking following chronic cannabinoid exposure. 15th Annual symposium on the cannabinoids, Clearwater Beach, Florida, 24-27 June
 86. S. Banfi, V. Battini, E. Caruso, L. Buccafurni, S. Zazzaron, P. Barbieri, V. Orlandi. 2005. Tetraaryl-porphyrins as antibacterial photosensitizers. European Society for Photobiology. Aix-Les-Bains (France) PII69, p 52.
 87. Stenni B., Guglielmin M., Genoni L., Flora O., 2005. An oxygen isotope record from the Foscagno rock glacier ice core (Upper Valtellina, Italian Central Alps). Presented at 2th European Conference on Permafrost EUCOP II, Potsdam, 12-16/0/05. Terra Nostra, 113-114
 88. Strini A., Cannone N., Guglielmin M. 2005 Weathering processes in cold climate conditions: case studies from different granite features in Northern Victoria Land, Antartica. Presented at 6th International Conference of Geomorphology, Zaragoza, 7-11/09/05, abstract volume P. 431
 89. Strini A., Cannone N., Guglielmin M. 2005 Weathering features analysis on granite outcrops in Northern Victoria Land, Antarctica Presented at 5th CONGA, Milan, 19-21/10/2005
 90. TONINI R.; CIARDO S.; CEROVIC M.; RUBINO T.; PAROLARO D.; MAZZANTI M.; ZIPPEL R. (2005). Altered cerebellar synaptic activity following chronic delta9-THC exposure. 35th Annual Meeting of the Society of Neuroscience, Washington, DC, November 12-16
 91. TONINI R.; CIARDO S.; RUBINO T.; COLOMBO G.; PAROLARO D.; MAZZANTI M.; ZIPPEL R. (2005). Altered cerebellar synaptic activity following chronic delta9-THC exposure. 2nd European Workshop on Cannabinoid Research, Busto Arsizio (Italy), April 29-30.
 92. TONINI R.; CIARDO S.; RUBINO T.; COLOMBO G.; PAROLARO D.; MAZZANTI M.;

- ZIPPEL R. (2005). Altered cerebellar synaptic activity following chronic delta9-THC exposure. 15th Annual Symposium on the Cannabinoids, Clearwater Beach, Florida, 24-27 June.
93. VACCANI A., MASSI P., BIANCHESSI S., PAROLARO D. (2005). Cannabidiol induces apoptosis in U87 human glioma cells: role of oxidative stress. 32° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, Castel dell'Ovo, Napoli 1-4 Giugno.
94. VIGANO' D., FATTORE L., FADDA P., BIANCHESSI S., PAROLARO D., FRATTA W. Modulation of cannabinoid and opioid receptor functionality in rats self-administering the CB1 receptor agonist WIN 55,212-2. 32° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, Castel dell'Ovo, Napoli 1-4 Giugno.
95. VIGANO' D.; RUBINO T.; REALINI N.; CASTIGLIONI C.; PAROLARO D. (2005). Activation of multiple transcription factors in the brain of cannabinoid sensitized animals. XI Convegno monotematico SIF, Neurofarmacologia e Neurobiologia delle Dipendenze, Bologna, 9 settembre.

Brevetti:

Marzocchella A., Di Donato A., Olivieri G., Salatino P., Siani L., Viggiani A., Galli E., Barbieri P. 2005. Processo e relativo impianto per il risanamento di reflui contenenti sostanze fenoliche mediante *Pseudomonas stutzeri* OX1 immobilizzato su supporto granular in airlift. Brevetto RM2005-A000648.