

# RELAZIONE ANNUALE 2001



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



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

## INDICE

<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>3</b>
<b>COMPOSIZIONE E STRUTTURA ORGANIZZATIVA</b> .....	<b>4</b>
ORGANI DIPARTIMENTALI .....	4
PERSONALE DI RUOLO .....	4
<b>Professori di I fascia</b> .....	<b>4</b>
<b>Professori di II fascia</b> .....	<b>4</b>
<b>Ricercatori</b> .....	<b>5</b>
<b>Personale amministrativo</b> .....	<b>5</b>
<b>Personale tecnico</b> .....	<b>5</b>
PERSONALE NON DI RUOLO .....	5
<b>Collaboratori post-dottorato</b> .....	<b>5</b>
<b>Dottorandi</b> .....	<b>5</b>
<b>Borsisti</b> .....	<b>6</b>
<b>Tirocinanti</b> .....	<b>6</b>
<b>INFRASTRUTTURE E SERVIZI</b> .....	<b>7</b>
<b>ATTIVITA' DI RICERCA</b> .....	<b>8</b>
RIASSUNTI DELLE RICERCHE SVOLTE .....	8
PROGETTI DI RICERCA FINANZIATI .....	34
<b>Fondo di Ateneo per la Ricerca</b> .....	<b>34</b>
<b>Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (PRIN)</b> .....	<b>34</b>
<b>Unione Europea</b> .....	<b>35</b>
<b>CNR</b> .....	<b>35</b>
<b>Altri Enti</b> .....	<b>35</b>
<b>SEMINARI</b> .....	<b>38</b>
<b>EVENTI</b> .....	<b>40</b>
<b>ATTIVITA' DIDATTICA</b> .....	<b>41</b>
<b>LAUREATI</b> .....	<b>43</b>
<b>DOTTORATI DI RICERCA</b> .....	<b>46</b>
DOTTORATO DI RICERCA IN "BIOLOGIA EVOLUZIONISTICA E DELLO SVILUPPO".....	47
DOTTORATO DI RICERCA IN "ANALISI, PROTEZIONE E GESTIONE DELLA BIODIVERSITÀ" .....	48
<b>ELENCO DELLE PUBBLICAZIONI 2001</b> .....	<b>49</b>
ARTICOLI SU RIVISTE CENSITE DALL'INSTITUTE FOR SCIENTIFIC INFORMATION .....	49
ARTICOLI SU ALTRE RIVISTE .....	54
LIBRI E CAPITOLI DI LIBRI .....	55
REPORTS .....	62

## INTRODUZIONE

Il 2001 ha rappresentato il quinto anno di vita del Dipartimento di Biologia strutturale e funzionale. Si è trattato sostanzialmente di un anno di consolidamento delle attività, con alcune rilevanti novità per quanto riguarda le infrastrutture di ricerca e di servizio.

Tra queste, è importante segnalare l'attivazione dei laboratori nella sede di Busto Arsizio: presso l'edificio ristrutturato degli ex-Molini Marzoli sono pienamente operanti i gruppi di ricerca di Farmacologia, di Biologia molecolare e di Patologia generale, che sostengono anche l'attività didattica legata al nuovo corso di Laurea triennale in Biologia anitaria.

Durante l'estate si è poi realizzata la fusione tra la biblioteca Biologica e quella di Medicina, con la costituzione della nuova Biblioteca Biomedica presso gli spazi di via Dunant 3. Il patrimonio librario ammonta ora ad oltre 2500 monografie di carattere biomedico, mentre il numero di abbonamenti correnti a riviste scientifiche supera i 200. La Biblioteca offre ai suoi utenti, docenti e studenti delle Facoltà di Medicina e di Scienze, numerosi servizi sia di tipo tradizionale che telematico.

Vi è stato un modesto ricambio di personale, per il trasferimento di alcuni docenti ad altre sedi e per l'arrivo di nuovi membri. Il numero di afferenti al DBSF al 31 dicembre 2001 era di 45 docenti e 16 unità di personale non docente. Molto ampia è la varietà di discipline presenti nel Dipartimento (18 settori disciplinari appartenenti alle aree Biologica, Medica, Matematica, Fisica, Chimica ed Agraria).

L'attività di ricerca ha avuto un buon sviluppo qualitativo e quantitativo, come si può desumere dal significativo incremento (+32% rispetto all'anno precedente) del numero di pubblicazioni su riviste censite dall'ISI. Il giudizio positivo sulla qualità della ricerca è confermato anche dall'aumento del numero dei progetti finanziati dalla U.E. (quattro), dei Progetti di Ricerca di Interesse Nazionale del MIUR (sei, tra i quali tre Coordinatori Nazionali) e dei Progetti CNR (tre).


Come nel passato, il Dipartimento ha ospitato numerosi eventi di carattere scientifico e culturale, promossi da strutture dell'Ateneo e da Enti esterni pubblici e privati. Di particolare rilevanza è stato il 96° Congresso Nazionale della Società Botanica Italiana tenutosi alla fine di Settembre.

Oltre ai molti aspetti positivi del bilancio annuale del Dipartimento occorre però segnalare anche alcune ombre, rappresentate essenzialmente dal mancato completamento dell'edificio esterno di servizi, la cui necessità è sempre più sentita, e dalla mancata copertura di alcune posizioni vacanti di personale tecnico-amministrativo, la cui assenza impedisce ad alcuni servizi dipartimentali di decollare in modo adeguato.

Le pagine seguenti contengono, per il lettore interessato, le informazioni dettagliate sulle diverse attività del Dipartimento durante l'anno appena trascorso.

Varese, 16 febbraio 2002

Il Direttore  
Antonio Peres



## COMPOSIZIONE E STRUTTURA ORGANIZZATIVA

### Organi dipartimentali

#### Direttore:

Prof. Antonio Peres

#### Vice Direttore:

Prof. Roberto Taramelli

#### Giunta:

Prof. Paolo Gerola

Prof. Daniela Parolaro

Prof. Roberto Taramelli

Prof. Magda deEguileor

Prof. Alessandro Fumagalli

Prof. Loredano Pollegioni

Dr. Antonio Di Guardo

Dr. Nicoletta Landsberger

Al 31 dicembre 2001 afferiva al DBSF il seguente personale:

### Personale di ruolo

#### Professori di I fascia

Gianfranco Badaracco

Giovanni Bernardini

Davide Calamari

Paolo Gerola

Achille Ghidoni

Daniela Parolaro

Antonio Peres

Mirella Pilone

Marco Saroglia

Roberto Taramelli

Roberto Valvassori

Biologia molecolare

Anatomia comparata e Citologia

Ecologia

Botanica generale

Genetica

Farmacologia

Fisiologia

Biochimica

Acquacoltura

Genetica

Zoologia

#### Professori di II fascia

Stefano Banfi

Paola Barbieri

Giorgio Binelli

Marcella Bracale

Fabrizio Celentano

Giuseppe Crosa

Magda de Eguileor

Mauro Fasano

Riccardo Fesce

Alessandro Fumagalli

Paola Gramatica

Elena Monti

Loredano Pollegioni

Alfredo Porati

Chimica organica

Microbiologia generale

Genetica

Botanica generale

Fisica

Ecologia

Zoologia

Biochimica

Fisiologia

Chimica generale ed inorganica

Chimica organica

Farmacologia

Biochimica

Fisica matematica

Mariangela Prati  
Guido Tosi

Anatomia comparata e Citologia  
Zoologia

#### Ricercatori

Francesco Acquati  
Marc Bonapace  
Elena Bossi  
Maurizio Brivio  
Lucia Carlucci  
Bruno Cerabolini  
Antonio Di Guardo  
Marzia Bruna Gariboldi  
Stefano Giovannardi  
Maria Ilde Granero  
Annalisa Grimaldi  
Nicoletta Landsberger  
Adriano Martinoli  
Gianpaolo Perletti  
Luciano Piubelli  
Carlo Rossetti  
Candida Vannini  
Alberto Vianelli

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

#### Personale amministrativo

Daniele Binda  
Adriana Jacona  
Stefano Motta  
Daniela Pozzi

Segretario amministrativo

#### Personale tecnico

Dr. Angelo Boselli  
Dr. Anna Giulia Cattaneo  
Patrizia D'Angelo  
Dr. Rosalba Gornati  
Luisa Guidali  
Dr. Gianluca Manarolla

Dr. Emanuela Marras  
Dr. Luisa Paracchini  
Cinzia Roganti  
Rosa Rossi  
Giorgio Terzaghi  
Raffaele Terzaghi

### **Personale non di ruolo**

#### Collaboratori post-dottorato

Gianluca Molla  
Tiziana Rubino

Davide Vigetti

#### Dottorandi

Barbara Badiello  
Marco Bianchi  
Francesca Binda  
Stefano Bosisio  
Stella Carro  
Roberta Ceriani

Claudio Monetti  
Laura Motteran  
Damiano Preatoni  
Barbara Raimondi  
Silvia Sacchi  
Simona Segalla

Raffaella Cinquetti  
Elena Ferioli  
Greta Forlani  
Alessandra Gagliardi  
Viviana Job

Chiara Tettamanti  
Gianluca Tettamanti  
Davide Vigetti  
Serena Zaccara

#### Borsisti

Chiara Cappelletti  
Michela Costa  
Rossella De Andreis

Simona Lorenzi  
Ilaria Trizio

#### Tirocinanti

Roberta Chirichella  
Laura Cladinelli  
Letizia G. Marcone

Sabrina Mattioli  
Cristian Pellizzer  
Elena Rosini

#### **Hanno fatto parte del DBSF durante il 2001:**

Prof. Antonella Russo  
Dr. Massimo Statuto  
Dr. Daniele Binda  
Sig. Adriano Tresin  
Sig. Domenico Gaglioti

trasferita  
dimesso  
trasferita  
trasferito  
trasferito

## INFRASTRUTTURE E SERVIZI

### Servizio - Responsabile

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

Tra gli strumenti scientifici di maggior pregio si possono elencare:

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

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

### Servizio - Responsabile

- |                                   |                            |
|-----------------------------------|----------------------------|
| • Acqua deionizzata               | G. Terzaghi                |
| • Acqua MilliQ                    | R. Gornati                 |
| • Assorbimento atomico            | A. Fumagalli – G. Terzaghi |
| • Audiovisivi                     | A. Tresin - L. Guidali     |
| • Camera calda                    | A. Boselli                 |
| • Colture cellulari invertebrato  | M. deEguileor              |
| • Colture cellulari mammifero     | S. Giovannardi             |
| • Disposable / Reagenti           | R. Terzaghi                |
| • Gas                             | G. Terzaghi                |
| • Gascromatografia                | A. Di Guardo - G. Terzaghi |
| • HPLC / FPLC                     | L. Pollegioni - A. Boselli |
| • Informatica e telefoni          | C. Roganti                 |
| • Lavaggio vetreria               | R. Rossi                   |
| • Liofilizzazione                 | G. Terzaghi                |
| • Microscopio confocale           | S. Giovannardi             |
| • Microscopi elettronici          | G. Lanzavecchia            |
| • Radioisotopi                    | F. Acquati – R. Gornati    |
| • Rifiuti tossici e nocivi        | S. Banfi - (G. Terzaghi)   |
| • Rifiuti tossici e nocivi (B.A.) | L. Paracchini              |
| • Sequenziatore di proteine       | L. Pollegioni - A. Boselli |
| • Stabulario                      | G. Manarolla               |
| • Sterilizzazione                 | R. Gornati                 |

## ATTIVITA' DI RICERCA

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

### Riassunti delle ricerche svolte

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

L'asterisco identifica il coordinatore del gruppo.

Gruppo	Componenti - (*) P.I	Abstracts
Gruppo di Farmacologia Antineoplastica	E. Monti * M. B. Gariboldi G. Perletti E. Marras R. Ravizza M. Marazzi G. Pozzi	1, 2, 3
Biologia Molecolare	G Badaracco* N. Landsberger S. Carro M. Curradi A. Izzo S. Segalla	4, 5, 6
Botanica	P. Gerola* C. Tettamanti E. Ferioli E. Pilotto	7
Bioteecnologie vegetali	M. Bracale* C. Vannini B. Bernasconi M.T. Balsemin M. Tenti	8, 9
Gruppo di Analisi e Gestione delle Biocenosi	G. Tosi* B. Cerabolini A. Martinoli B. Badiello R. Ceriani A. Gagliardi B. Raimondi I. Trizio R. De Andreis D. G. Preatoni	10, 11, 12
Laboratorio di Sintesi ed Analisi Chimica	S. Banfi* A. Fumagalli* L. Carlucci G. Terzaghi E. Cassani M. Cazzaro S. Caprioli L. Mazzagatti E. Caruso M. Costa	13, 14, 15



	M. Crosta	
Gruppo Ricerche ambientali	D. Calamari* A. Di Guardo S. Zaccara Sara Castiglioni	16, 17
Unità di Ricerca QSAR	P. Gramatica* E. Papa L. Pozzoli F. Battaini	18,19
Metodi matematici	A. Porati * M. I. Granero	20
Immunologia comparata e Parassitologia	M. F. Brivio*	21
Biologia degli invertebrati	R. Valvassori M. de Eguileor* A. Grimaldi G. Tettamanti L. Guidali	22
Biologia applicata	C. Rossetti* F. Pomati G. Manarolla	23
Biologia cellulare	G. Bernardini* M. Prati R. Gornati C. Monetti D. Vigetti S. Bosisio	24, 25,26
Unità di Biochimica delle proteine	M. Pilone* L. Pollegioni* M. Fasano L. Piubelli G. Molla A. Boselli V. Job S. Sacchi S. Fantinato L. Motteran C. Cappelletti S. Lorenzi L. Caldinelli G. L. Marccone C. Pellizzer E. Rosini	27, 28
Genetica	R. Taramelli* A. Ghidoni A. Russo F. Acquati, M. Bianchi, R. Cinquetti, P. Campomenosi,	29, 30,31

Gruppo di Fotobioenergetica	A. Vianelli* A. G. Cattaneo	32
Fisiologia cellulare e molecolare	A. Peres* R. Fesce E. Bossi S. Giovannardi F. Binda G. Forlani	33, 34, 35, 36,
Acquacoltura	M. Saroglia*	37
Microbiologia	P. Barbieri* F. Arengi D. Solera	38
Neurofarmacologia	D. Parolaro* T. Rubino A. Vaccani	39
Ecologia Quantitativa e delle Acque Interne	G. Crosa* G. Lalumera P. Galli	40

## **1. Il nitrossido Tempol causa stress ossidativo, aumento dei livelli di p21<sup>waf1/cip1</sup> e apoptosi in linee cellulari umane.**

*Elena Monti, Raffaella Ravizza, Chiara Bonfadini e Marzia Gariboldi.*

Il nitrossido piperidinico Tempol (TPL) esercita un effetto antiproliferativo su un pannello di linee cellulari, con una significativa preferenza per le cellule tumorali rispetto a quelle normali. Questo effetto del TPL è dovuto all'induzione di apoptosi e sembra coinvolgere proprietà pro-ossidanti del nitrossido.

Gli eventi cellulari che portano all'apoptosi in seguito al trattamento con TPL sono ancora poco conosciuti, ma è probabile il coinvolgimento del mitocondrio. I mitocondri sono indicati come il punto cruciale nella fase effettrice dell'apoptosi, caratterizzata dal collasso del potenziale di membrana mitocondriale, dal disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa e dal rilascio di fattori proapoptotici. Il danno mitocondriale è preceduto dalla deplezione del pool di glutatione ridotto dall'organello stesso e può contribuire alla completa distruzione dello stato redox intracellulare, generando ROS (Reactive Oxygen Species). Così il mitocondrio rappresenta sia una fonte che un bersaglio di radicali liberi e potrebbe giocare un ruolo complesso nella risposta cellulare al TPL.

Gli scopi di questo studio sono i seguenti:

- correlare l'effetto apoptotico del TPL all'induzione di stress ossidativi, mediante la misurazione dei livelli di perossidi intracellulari, nelle cellule leucemiche HL60;
- verificare la presenza di TPL nei mitocondri di cellule trattate con il nitrossido;
- testare gli effetti del trattamento con TPL sul consumo di ossigeno e sulla produzione di ATP, dosato sui precipitati proteici mediante la reazione luciferina-luciferasi, nei mitocondri di cellule HL60;
- stabilire se il TPL esercita i suoi effetti interferendo specificatamente con uno o più passaggi della catena di trasporto elettronico mitocondriale. L'attività dei diversi complessi sarà valutata mediante spettrofotometria UV-vis.

## **2. Resistenza di linee cellulari leucemiche umane alla 1- $\beta$ -D-arabinofuranosilcitosina: caratterizzazione di un modello sperimentale.**

*Marzia Gariboldi, Raffaella Ravizza, Paolo Perletti, Emanuela Marras and Elena Monti*

L'antimetabolita 1- $\beta$ -D-arabinofuranosilcitosina (araC) è tra i più efficaci agenti utilizzati nella terapia di tumori ematologici. I meccanismi attraverso i quali araC esercita il suo effetto citotossico non sono ancora stati chiariti. L'incorporazione dell'araC nel DNA è associata all'induzione di morte cellulare e recentemente è stato riportato che tale morte avviene per apoptosi.

L'uso clinico dell'araC è però limitato dallo sviluppo di resistenza al farmaco da parte del tumore stesso. Diversi meccanismi sono ritenuti responsabili della chemioresistenza, ma recentemente è stato evidenziato che le cellule neoplastiche possono sottrarsi agli effetti della chemioterapia grazie a difetti nel processo apoptotico; in particolare, alterazione dell'espressione di geni coinvolti nella regolazione dell'apoptosi giocano un ruolo critico nella resistenza all'araC.

Il proto-oncogene *bcl-2* codifica per una proteina intimamente coinvolta nella regolazione dell'apoptosi, in particolare nelle cellule leucemiche. In queste cellule sembra possibile una correlazione livelli di espressione di *bcl-2* e risposta alla chemioterapia. Evidenze sperimentali indicano che l'espressione di *bcl-2* non è sempre sufficiente di per se a inibire la morte cellulare, ma che anche modificazioni post trascrizionali e/o alterazioni nella sua distribuzione subcellulare giocano un ruolo importante nella risposta alla chemioterapia.

Per meglio comprendere le basi molecolari del ruolo di *bcl-2* nella resistenza all'araC, abbiamo investigato la relazione tra l'effetto citotossico dell'araC e i livelli di espressione e la localizzazione subcellulare di *bcl-2* in tre linee cellulari leucemiche (HL60, KG1 e J111). Abbiamo inoltre valutato gli effetti dell'araC su cellule J111 (che mostravano i più bassi livelli di Bcl-2 e la più alta sensibilità al farmaco) che sovraesprimono l'oncogene *bcl-2*.

### **3. Tumor suppressor activity of the delta isoform of protein kinase C in colon cancer cells**

Gianpaolo Perletti

We have performed a comparative analysis of the expression of a panel of class "n" isoforms of Protein Kinase C (PKC) in a model consisting of the nontumorigenic colonic epithelial cell line D/WT, and its tumorigenic src-transformed derivative D/src line. The delta isoform of Protein Kinase C (PKC $\delta$ ) was found to be down-regulated in neoplastic D/src cells when compared to the parental D/WT line. Interestingly, overexpression of a wild-type cDNA PKC $\delta$  sequence into D/src cells inhibited cell growth and reverted this cell line to its parental, nontumorigenic status. These results were suggestive of a growth and tumor suppressor activity of PKC $\delta$  when overexpressed in rat colonic epithelial cells. Additional experiments evidenced that this activity was selective for GI neoplastic lesions, since non-colonic tumor lines responded poorly to PKC $\delta$  overexpression. As a next step we have amplified by RT-PCR a human sequence encoding the PKC $\delta$  cDNA. This cDNA was subcloned into the retroviral vector pBABE/hygro and stably transfected into the PT67 packaging cell line in order to obtain high titre retroviral particles displaying an amphotropic host range for in vitro and in vivo gene transfer experiments. Our retroviral vector, denominated MMLV/GFP/PKC $\delta$ , was used to infect a panel of human colon cancer cell lines. These lines displayed different response patterns: whereas the two lines HCT 116 and Caco-2 responded to the PKC $\delta$  growth- and tumor-suppressor activity, the line HT-29 was unaffected by PKC $\delta$  gene transfer. Besides providing a proof of evidence that PKC $\delta$  gene transfer could be potentially useful in colon cancer treatment, we reasoned that this discrepancy of response might provide an experimental model for studying the mechanisms of action of PKC $\delta$ . We have thus studied the phosphoserine/phosphothreonine profiles of the cell lines HCT 116 and HT-29 before and after gene transfer, to identify a potential specific substrate for PKC $\delta$ . At present we are

performing experiments to characterize a protein which was found to be present and serine phosphorylated in HCT 116 cells, but not in HT-29 cells. Microsequencing will reveal the identity of this potential substrate of PKC $\delta$ . It will be of great interest to assess whether this protein is responsible for tumor cell responsiveness to the anti-oncogenic activity of our novel tumor suppressor gene.

#### **4. Ruolo di PML/RAR $\alpha$ nel rimodellamento della cromatina.**

Simona Segalla, Laura Rinaldi, Nicoletta Landsberger, Gianfranco Badaracco.

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

Gli studi compiuti concordano sulla possibilità che alla base della APL ci sia una deregolazione delle proprietà trascrizionali di RAR $\alpha$ . Questo reprime o attiva specifici geni in relazione all'assenza-presenza di acido retinoico (RA) ed in virtù della sua capacità di reclutare attività iston-deacetilasiche o iston-acetiltransferasiche; tuttavia, quando fuso a PML, RAR $\alpha$  recluta quantità insolitamente alte di corepressori e quest'associazione è cruciale per il suo potere trasformante.

Il nostro lavoro ha lo scopo di studiare il ruolo di PML/RAR $\alpha$  nel rimodellamento della cromatina; la ricerca è stata compiuta utilizzando, come modello sperimentale, gli oociti di *Xenopus*.

In questo poster presentiamo i risultati della nostra ricerca che dimostrano come, a livello del promotore rarbeta, l'attivazione trascrizione, RA-dipendente, promossa da PML/RAR $\alpha$  sia meno efficace rispetto a quella prodotta da RAR $\alpha$ . Inoltre, i saggi di accessibilità della struttura nucleosomale evidenziano come RAR $\alpha$  produca una parziale disorganizzazione della cromatina; al contrario, PML/RAR $\alpha$  non soltanto ne stabilizza la struttura ma determina anche una sua maggiore chiusura, come emerge dai saggi topologici.

Questi risultati suggeriscono con forza che, alla base della APL, ci possa essere un anomalo reclutamento, ad opera di PML/RAR $\alpha$ , di complessi che, modificando lo stato degli istoni, alterano la struttura della cromatina.

#### **5. NASP: UNA PROTEINA CICLO-REGOLATA PROBABILMENTE COINVOLTA NELLA PROLIFERAZIONE CELLULARE**

S. Infantino, E. Gentili, M. Bonapace, N. Landsberger, G. Badaracco

La regolazione delle divisioni cellulari risulta finemente controllata e l'eventuale sua perdita può essere responsabile dello sviluppo di uno stato patologico. La cellula presenta dei programmi che permettono il raggiungimento di un equilibrio tra proliferazione e differenziamento: due processi che risultano inversamente correlati. Quando viene attivato il programma differenziativo, le cellule escono irreversibilmente dal ciclo, mediante l'espressione di geni tessuto-specifici e avviano dei meccanismi di protezione dalla morte programmata cellulare.

Il blocco irreversibile della duplicazione cellulare può essere però modificato dall'azione mediata da oncoproteine virali quali large T antigen di SV40 e E1A. Sulla base di ciò, miotubi terminalmente differenziati sono quindi stati infettati con l'adenovirus E1A dl520 e con il relativo controllo rappresentato dalla forma virale portante una delezione a carico di

E1A (E1A dl312) tale da non essere in grado di determinare il reingresso in ciclo. E' stata quindi condotta l'analisi dei geni differenzialmente espressi in seguito alla perdita del differenziamento cellulare e al rientro in ciclo. Questo approccio sperimentale ha permesso l'identificazione di un certo numero di geni e tra questi sNASP (Nuclear Autoantigenic Sperm Protein): una proteina che lega gli istoni. Recenti analisi, oltre ai dati ottenuti nello screening differenziale, hanno suggerito un importante ruolo di sNASP nella proliferazione cellulare in quanto si è osservata la variazione dei livelli di mRNA. La proteina sNASP, a differenza dell'mRNA, risulta quantitativamente pressoché costante durante la progressione attraverso il ciclo cellulare mentre, inducendo un arresto della proliferazione, si assiste ad una sua perdita graduale.

## **6. BONAPACE**

### **7. Il gene GUS può essere usato come gene reporter nelle piante?**

E. Pilotto e P. Gerola

L'assenza nelle piante della Poli- $\beta$ -glucuronidasi (GUS) ha fatto sì che, in tali organismi, tale gene fosse spesso utilizzato come gene reporter. In piante trasformate con un costrutto contenente il gene GUS associato al promotore in esame, l'attività GUS viene solitamente rilevata istochimicamente, mediante reazione con il cosiddetto X-Glu. La presenza del prodotto della reazione, un precipitato di colore blu, viene utilizzata come indicazione di cellula o tessuto in cui il promotore studiato è attivo.

Recentemente, il gene GUS è stato utilizzato in *N. alata* come gene reporter per studiare l'espressione del gene LAT52, gene polline specifico che era noto esprimersi nell'antera tardivamente, durante la microsporogenesi. In pistilli impollinati con polline trasformato con costrutto contenente il gene GUS associato al promotore LAT52, attività GUS è stata osservata, mediante reazione istochimica, nei tubetti pollinici nella parte alta dello stilo e nell'ovario, mentre è risultata assente nella metà inferiore dello stilo. Tali risultati erano stati interpretati come indicazione di una regolazione differenziata dell'attività del promotore del gene LAT52 durante la crescita dei tubetti pollinici lungo lo stilo.

Esperimenti preliminari indicano, tuttavia, che la diversa espressione istochimica dell'enzima GUS lungo il pistillo sia dovuta ad una inibizione dell'attività glucuronidasica nella metà inferiore dello stilo. Il promotore del gene LAT52 sarebbe attivo anche durante la crescita dei tubetti lungo lo stilo.

L'osservazione di inibizione dell'attività GUS e la sua disomogeneità di distribuzione nello stesso organo (parte superiore ed inferiore dello stilo) renderebbero dubbia la possibilità di utilizzo nelle piante del gene GUS come gene reporter quando la presenza della poliglucuronidasi viene evidenziata istochimicamente mediante reazione enzimatica.

### **8. Analisi della tolleranza allo stress salino in vite**

Marcella Bracale , Candida Vannini, Marta Tenti, Marta Galimberti, Mauro Fasano

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

Recentemente si è manifestata l'esigenza di ottenere portinnesti con spiccate capacità di resistenza a stress idrico e salino. Questa esigenza nasce dalla necessità di espandere la viticoltura sia in aree costiere della nostra penisola e di paesi extraeuropei (Australia, Nuova Zelanda, Argentina, Sud Africa, ecc.) in cui si utilizzano acque di irrigazione aventi alti livelli di soluti, sia in suoli salmastri nelle zone più interne. Al fine di esaudire tali richieste si stanno cercando gli approcci sperimentali più idonei ad ottenere portinnesti di vite da immettere sul mercato in base alle nuove necessità. Infatti il *breeding* classico non è più sufficiente a coprire tali esigenze soprattutto per una questione di tempi (servono

circa 20 anni prima di poter omologare un portinnesto originatosi da una popolazione di semenzali). A tal fine nuovi programmi di *breeding* non potranno prescindere da tecniche di selezione assistita sia per potere accorciare i tempi sia per ottenere risposte molto dettagliate e precise.

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

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

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

### **9. Analisi della risposta allo stress da freddo in piante transgeniche di *Arabidopsis thaliana* sovraesprimenti il gene *Osmy4***

Candida Vannini, Marcella Bracale, Maria Teresa Balsemin, Silvia Cucinotta

Lo stress da freddo è il principale fattore limitante la produttività e la distribuzione geografica delle piante coltivate. A tutt'oggi la maggior parte dei geni noti, indotti da freddo, codificano per proteine strutturali abbondanti con ruolo fisiologico diretto di protezione/riparo dei danni causati da freddo. Questi geni rappresentano quindi il target finale della cascata di eventi molecolari indotta da stress. Di qui l'interesse per lo studio di fattori trascrizionali indotti da freddo: questi infatti agendo più a monte della cascata di eventi che portano alla tolleranza, sono capaci di controllare e di modulare l'espressione coordinata di più geni a valle.

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

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

Per identificare i geni indotti da *Osmyb4* e correlati con lo stress da freddo sono stati prodotti microarray ad alta densità.

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

Guido TOSI, Bruno CERABOLINI, Adriano MARTINOLI, Barbara BADIELLO, Roberta CERIANI, Rossella DE ANDREIS, Alessandra GAGLIARDI, Damiano G. PREATONI, Barbara RAIMONDI, Ilaria TRIZIO.

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

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

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

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

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

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

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

Bruno CERBOLINI, Roberta CERIANI, Rossella DE ANDREIS, Barbara RAIMONDI, Guido TOSI.

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

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

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

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

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

La terapia fotodinamica (PDT) applicata ai tumori è un'importante alternativa alle classiche cure antitumorali, ed è particolarmente adatta per tumori della pelle o, in genere, per quelle forme tumorali situate in zone raggiungibili da fibre ottiche. La PDT si basa infatti sull'attivazione di particolari sostanze, precedentemente somministrate per via endovenosa, ottenuta per irradiazione con un fascio di luce ad opportuna lunghezza d'onda ed intensità. Quando viene colpito dalla radiazione, il *fotocatalizzatore* assorbe energia e passa in uno stato eccitato; il ritorno allo stato fondamentale avviene per trasferimento dell'energia all'ossigeno molecolare che si trasforma in *ossigeno singoletto*; quest'ultimo è una specie radicalica estremamente reattiva che tende ad ossidare ogni sostanza che si trovi a breve distanza dal centro dove è stato generato. In questo modo, solo i tessuti che contengono la molecola fotosensibilizzante e che sono opportunamente irradiati vengono distrutti dall'azione combinata della luce e del catalizzatore.

Nella letteratura degli ultimi vent'anni si trovano molti esempi di molecole, quali porfirine, clorine e ftalocianine, studiate per la PDT; tuttavia, fino ad oggi, solo una sostanza (nome commerciale di Photofrin), che è una miscela di clorine ottenute per solfonazione della ematoporfirina, è attualmente usata in fase clinica. Benché il Photofrin abbia ottenuto l'approvazione della FDA, presenta ancora delle



caratteristiche che limitano il suo impiego, vale a dire: a) un'estesa fotosensibilizzazione della pelle, b) la scarsa capacità di assorbire radiazioni nella zona del rosso e c) il fatto stesso che sia una miscela di sostanze e non un composto puro.

In questo lavoro riportiamo la sintesi di alcuni nuovi fotosensibilizzanti **1-3** della famiglia delle porfirine e clorine ed il loro uso in vitro su cellule HCT116. Il composto **1** [H<sub>2</sub>-tetra(4-amminoetossietanolsolfonamido-fenil)porfirina] è stato sintetizzato dalla tetrafenilporfirina *via* cloro-solfonazione e successiva reazione con amminoetossietanolo; La porfirina **2** [H<sub>2</sub>-tetra(3,4,5-trimetossi-fenil)porfirina] è stata preparata a partire dall' 3,4,5-trimetossibenzaldeide e pirrolo mentre la corrispondente clorina **3** [H<sub>2</sub>-tetra(3,4,5-trimetossi-fenil)clorina] è stata ottenuta per riduzione di **2** con una idrazina.

L'attività è stata valutata incubando le cellule per 24 ore con i catalizzatori **1-3**, a concentrazioni comprese tra 2 e 70 ng/ml, sostituzione del terreno con PBS seguita da irraggiamento con luce bianca (proiettore per diapositive con lampada da 150 W; intensità 0.07 mW x cm<sup>-2</sup>) per 3 ore per un'energia totale di circa 250 mJ x cm<sup>-2</sup> x s<sup>-1</sup> x nm<sup>-1</sup>. Successivamente si rigenera il terreno originale e la sopravvivenza delle cellule è valutata con test MTT dopo 24 ore.

I risultati, confrontati con l'attività del Photofrin, indicano che almeno due delle nuove sostanze sono 10 –20 volte più attive della sostanza usata in clinica.

#### **14. INTERAZIONE FRA BIO-MOLECOLE E CLUSTERS METALLO-CARBONILICI**

Ovvero: i metalli in basso stato di ossidazione possono effettivamente essere fissati da alcune molecole di rilevanza biologica

**Michela Costa, Maria Teresa Loria, Marco Pastori e Alessandro Fumagalli**  
**Laboratorio di Sintesi Chimiche, Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale dell'Università degli Studi dell'Insubria, via J. H. Dunant 3, 21100 Varese**

I cluster metallo-carbonilici sono dati dai metalli di transizione in basso stato di ossidazione ( $\leq 0$ ) e sono per lo più specie anioniche genericamente formulabili come  $[M_n(CO)_x]^{c-}$ . L'aggregazione in un *cluster* di  $n$  atomi metallici (da un minimo di tre fino anche a qualche decina) avviene generalmente secondo una ben precisa geometria, spesso riconducibile alla struttura del reticolo cristallino del metallo massivo, di cui il cluster idealmente costituisce una porzione. Questo *frammento metallico*, neutro o dotato di una di carica anionica ( $c = 0, 1, 2, 3, \dots$ ) che ne esplicita lo stato di riduzione, è stabilizzato dal "guscio" esterno di leganti CO. Per queste caratteristiche, tali composti si possono dunque proporre come modelli del particolato metallico rilasciato dalle marmitte cataliche (*cristalliti* di Pt, Rh, Pd in stato di ossidazione zero o *ca.* zero). Caratteristica dominante dei cluster carbonilici è una certa densità elettronica, delocalizzata sugli atomi metallici che, si è sempre ritenuto, dovrebbe sfavorire la sostituzione del legante CO ( $\pi$ -acido) con altri puramente basici. Abbastanza recentemente, ed inaspettatamente, abbiamo trovato che un particolare cluster di rodio, l'anione  $[Rh_5(CO)_{15}]^-$  (un composto da noi isolato già da parecchi anni) reagisce anche con ammine alifatiche (leganti  $\sigma$  puri) dando *sostituzione di uno o due carbonili*. Tale *reattività, del tutto nuova*,<sup>1</sup> ha portato all'isolamento e caratterizzazione di due derivati, il dianione  $\{[Rh_5(CO)_{14}]-(H_2N(CH_2)_4NH_2)-[Rh_5(CO)_{14}]\}^{2-}$  (costituito da due cluster a geometria di bi-piramide trigonale incatenati dalla *putrescina*) ed il monoanione  $[Rh_5(CO)_{13}(H_2N(CH_2)_2NH_2)]^-$  (dove l'*etilendiammina* sostituisce ben due carbonili agendo da chelante). Questo risultato ha fatto intravedere la possibilità che anche altre molecole di particolare rilevanza biologica ed ovviamente contenenti atomi di azoto adeguatamente basici, possano reagire similmente.

Attualmente stiamo studiando la reattività non solo dell'anione pentanucleare  $[\text{Rh}_5(\text{CO})_{15}]^-$ , ma anche dei carbonili neutri di rodio ed iridio, nonché di alcune specie etero-metalliche di platino-rodio. L'indagine di reattività è condotta su molecole quali **glucosamina**, **dopamina**, **istamina**. Nel caso di quest'ultima siamo anche riusciti ad isolare un derivato allo stato cristallino (come sale di  $[\text{NMe}_4]^+$ ). Questo ha permesso di dedurre la struttura R-X qui a fianco riportata, dove è evidente la chelazione su di un metallo posto in posizione apicale. Di rilievo è la reattività di  $[\text{Rh}_5(\text{CO})_{15}]^-$  nei confronti delle **nucleobasi** che risulta in una *interazione specifica* nei confronti di **Adenina** e **Citosina**. L'interpretazione degli spettri IR ha evidenziato che tale interazione si manifesta anche con l'**Adenosina**, molto probabilmente con una chelazione che coinvolge l'ammino gruppo in posizione 6 e l'azoto in 7, con formazione di un anello penta-atomico.

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

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

\* DBSF, Università dell'Insubria

§ DCSSI, Università di Milano

L'interesse verso la progettazione e costruzione di nuovi networks polimerici di coordinazione ha avuto un notevole incremento negli ultimi anni. La scelta opportuna della geometria del legante e delle proprietà coordinative del centro metallico può essere usata come strategia per controllare il processo di self-assembly verso strutture con proprietà stabilite. Leganti bidentati, con lunghezza variabile fra i due centri coordinativi, possono essere usati per controllare le dimensioni delle cavità di networks nanoporosi; leganti polifunzionali possono servire sia per la costruzione di building-blocks sia per il networking. Sono stati preparati cinque nuovi leganti bidentati lunghi con diverso grado di flessibilità in cui una unità centrale aromatica è connessa a gruppi piridinici attraverso legami di tipo etero  $[4,4'$ -bis(piridil-4metossi)bifenile ( $L^5$ ) e  $1,5$ -bis(piridil-4metossi)naftalene ( $L^3$ )], carbonilico [ $1,4$ -fenilenebis(4-piridil-metanone) ( $L^1$ )], estereo [bis(4-piridil)tereftalato ( $L^2$ )] ed etilenico [ $1,4$ -bis[2-(4-piridil)etenil]benzene ( $L^4$ )]. L'utilizzo di questi nuovi leganti, nell'ambito del self-assembly di polimeri di coordinazione aventi una separazione metallo-metallo grande, ha portato all'isolamento di cinque composti con il cobalto nitrato ed uno con lo zinco triflato che presentano differenti motivi strutturali. I composti  $[\text{Co}(L^2)(\text{NO}_3)_2(\text{MeCN})]\cdot\text{MeCN}$  e  $[\text{Co}(L^5)(\text{NO}_3)_2]$  sono costituiti rispettivamente da catene lineari (periodo di 19.64 Å) ed a zig-zag (periodo di 38.65 Å). Motivi polimerici 3D e 2D sostenuti da legami sia coordinativi sia di idrogeno sono rispettivamente riscontrati nelle due specie  $[\text{Zn}(L^1)(\text{H}_2\text{O})_4](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2\cdot(L^1)_2\cdot\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Co}(L^4)_2(\text{H}_2\text{O})_4](\text{NO}_3)_2\cdot(L^4)_4\cdot(\text{H}_2\text{O})_8$ . Il composto  $[\text{Co}(L^1)_2(\text{NO}_3)_2]\cdot(\text{CH}_2\text{Cl}_2)_2$  presenta piani 2D a maglie quadrate mentre il composto  $[\text{Co}_2(L^2)_4(\text{NO}_3)_4]\cdot(\text{CH}_3)_2\text{CO}$  contiene unità dimeriche eccezionalmente lunghe (62.84 Å) costituite da anelli a 42 membri aventi un legante monodentato per metallo.

## 16. CALCOLO DELLE CONCENTRAZIONI AMBIENTALI DI COMPOSTI FARMACEUTICI : CONFRONTO CON DATI SPERIMENTALI NEI FIUMI

Calamari Davide<sup>1</sup>, Castiglioni Sara<sup>1</sup>, Di Guardo Antonio<sup>1</sup>, Fanelli Roberto<sup>2</sup>, Zuccato Ettore<sup>2</sup>.

Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Università dell'Insubria, Varese<sup>1</sup>.

Dipartimento di Ambiente e Salute, Mario Negri, Istituto di Ricerca Farmacologica, Milano<sup>2</sup>.

L'attenzione del mondo scientifico si è recentemente focalizzata sui composti farmaceutici come possibili contaminanti ambientali poiché queste molecole sono state rilevate in

numerosi ecosistemi acquatici. Per comprendere i potenziali effetti di queste sostanze vi è l'esigenza di predire le concentrazioni nei corsi d'acqua poichè i composti farmaceutici vi sono stati rilevati in gran numero e i carichi che giungono continuamente in ambiente acquatico attraverso le acque reflue sono elevati.

Una direttiva Europea (III/5504/94,1994) propone un'equazione per calcolare le concentrazioni ambientali (PEC) in funzione della quantità di sostanza usata annualmente, del numero di abitanti del bacino idrografico considerato, del volume di acqua consumata giornalmente da ogni abitante e di un fattore di diluizione.

Un approccio simile è stato utilizzato per calcolare le concentrazioni dei composti farmaceutici nei fiumi Po e Lambro in Lombardia, nord Italia. I carichi teorici (carichi derivati dalle vendite) nel bacino idrografico, calcolati dividendo i dati delle vendite nazionali per il numero di abitanti presenti nel bacino idrografico, sono poi stati divisi per le portate medie dei corsi d'acqua.

I valori di PEC e le concentrazioni calcolate dai carichi teorici sono stati confrontati con i dati sperimentali ottenuti da una recente indagine condotta sui fiumi Po e Lambro.

Da questo confronto si può osservare che le concentrazioni misurate sono inferiori rispetto a quelle ottenute dai calcoli teorici.

Eritromicina, lincomicina e ibuprofen presentano un rapporto tra le concentrazioni teoriche e quelle sperimentali attorno a 0.1, per l'atenololo tale rapporto è pari ad 1 mentre per il salbutamolo il valore è più alto.

Occorre ricordare che attualmente la predizione delle concentrazioni ambientali dei farmaci dai carichi teorici può essere solo generica a causa del numero limitato di molecole investigate e della carenza di dati sul comportamento ambientale di queste molecole.

## **17. PREVISIONE DEL RILASCIO DI DDT DAL SUOLO DELLA VAL D'OSSOLA MEDIANTE UN APPROCCIO MODELLISTICO INTEGRATO**

**Di Guardo Antonio e Calamari Davide**

Gruppo di Ricerche Ambientali,

La recente contaminazione da DDT nel Lago Maggiore ha fornito un quadro sperimentale ottimale per studiare il rilascio dal suolo, il movimento verso l'aria e le acque superficiali di tale molecola organica persistente. Tale rilascio costituisce un continuo apporto di DDT al Lago Maggiore che era stato coinvolto dalla contaminazione (scoperta nel 1996). Questa situazione causò il bando della pesca e del consumo di alcune specie ittiche e l'avvio di una campagna di monitoraggio delle concentrazioni nelle diverse fasi ambientali. Il DDT, prodotto da un sito industriale posto sulla riva del Fiume Toce, tributario del Lago Maggiore, è stato recentemente rilevato anche in val d'Ossola a concentrazioni sensibilmente più elevate rispetto al background. A tale proposito la quantificazione del possibile rilascio dal suolo e la seguente migrazione verso le acque superficiali costituisce un importante strumento per la comprensione dell'andamento futuro dei livelli di DDT nella biomassa del Lago. Per raggiungere tale scopo sono state quindi monitorate numerose fasi ambientali (suolo, vegetazione, acqua superficiale, solidi sospesi, sedimenti) della Val d'Ossola al fine di delineare il quadro dei livelli di DDT a distanze crescenti dall'impianto. Tali valori sono stati utilizzati per mettere a punto e calibrare un modello multimediale di fugacità per la previsione del movimento e rilascio del DDT dalla val d'Ossola verso il Lago Maggiore. Il modello verrà integrato in un contesto GIS (Geographic Information Systems) e consiste in un submodello suolo per la previsione del rilascio verso l'aria (volatilizzazione) e verso l'acqua (runoff) e un submodello fiume. Il modello integrato, accoppiato al modello Lago Maggiore già esistente, permetterà di valutare le dinamiche

temporali del DDT nel Lago Maggiore e quindi le concentrazioni nelle diverse fasi biotiche ed abiotiche.

## **18. APPROCCI QSAR E CHEMIOMETRICI PER LO STUDIO DI PERSISTENZA ATMOSFERICA E “LONG RANGE TRANSPORT” DI INQUINANTI ORGANICI PERSISTENTI (POPs)**

Paola Gramatica\*, Ester Papa\* e Stefano Pozzi\*\*

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

\*\* Laboratorio di Studi Ambientali (SPAA)- Lugano (Svizzera)

Molti inquinanti ambientali, ritrovati nei ghiacci polari, ma anche in quelli delle Alpi, come ad esempio molti pesticidi, PAH, PCB, ecc., hanno una tendenza al “Long Range Transport” (LRT), dovuto alla combinazione della loro persistenza ed intrinseca tendenza alla mobilità.

I valori di emivita sono comunemente usati come indicatori di persistenza, ma variano molto nei diversi comparti, dipendono dai test di laboratorio e sono noti solo per pochi composti organici.

Per colmare queste lacune di dati vengono realizzati modelli predittivi QSAR. Modelli di regressione con i minimi quadrati ordinari sono realizzati utilizzando diversi descrittori molecolari teorici, rappresentanti di diversi aspetti strutturali (anche 3D) delle molecole. I modelli ottenuti, le cui elevate capacità predittive sono verificate con diverse tecniche di validazione (*leave-one-out*, *leave-more-out*, *leverage*) permettono di predire le emivite in atmosfera, suolo, acque per oltre un centinaio dei più importanti inquinanti organici di diverse classi chimiche. Tali emivite vengono poi linearmente combinate con l'Analisi delle Componenti Principali (PCA), ottenendo un utile indice globale della tendenza alla persistenza. Anche diverse proprietà chimico-fisiche, come volatilità, solubilità, assorbimento nel suolo, ecc. hanno influenza sulla tendenza al LRT.

La miglior combinazione di tali proprietà e delle emivite nei diversi comparti, che minimizzi la tendenza al LRT, viene trovata applicando le funzioni di utilità con le tecniche MultiCriteria Decision-Making (MCDM): gli inquinanti vengono quindi ordinati secondo la loro tendenza al LRT (Indice LRT). L'applicazione di modelli di regressione e di classificazione a questo indice LRT, utilizzando descrittori molecolari teorici, permette infine di predire questa tendenza anche per molecole prima della loro immissione sul mercato e addirittura della loro sintesi.

## **19. I principali temi di ricerca dell'Unità QSAR**

Paola Gramatica, Ester Papa, Francesca Battaini, Luca Pozzoli e Pamela Pilutti

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

P: - emivite in diversi comparti ambientali

P: - biodegradabilità (borsa di studio di Facoltà a Papa)  
P: - reattività atmosferica (con radicali OH e NO<sub>3</sub>, e con ozono) (tesi di laurea di Pilutti)  
P: - Long Range Transport (collaborazione con Pozzi (Lugano))  
B: - BioConcentration Factor (BCF)  
T: - Tossicità acquatica di miscele di pesticidi (progetto Comunità Europea BEAM)  
T: - Water Quality Objectives per l'inquinamento delle acque (Lista Priorità della CEE)  
T: - Tossicità di inquinanti atmosferici (nitrofenoli)

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

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

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

(\*) Gruppo di Metodi Matematici in biologia

(\*\*) Unità di Fotobioenergetica

La ricerca si propone di individuare il frame di lettura più antico nelle zone di genomi virali a doppia lettura, partendo da ipotesi relative all'uso dei codoni sinonimi nei due geni sovrapposti. In particolare si vuole analizzare la presenza di eventuali "bias" relativi a quei codoni che potrebbero portare, per shift, a codoni di STOP nel gene sovrapposto. Questa metodologia consente di indagare sul tipo di eventi evolutivi che hanno portato alla lettura sovrapposta permettendo di discriminare, semplificando le diverse casistiche, fra varie ipotesi. Tra queste una è l'estensione di un gene che conduce ad una sovrapposizione con un gene preesistente e un'altra l'evoluzione, dovuta all'insorgere di un nuovo "frame" di lettura, di un gene "ex novo", sovrapposto ad uno già presente. Si può pertanto considerare la possibilità di comparare diverse modalità di acquisizione, durante l'evoluzione, di nuovi geni (nuove funzioni): in particolare, appare interessante approfondire, per le ragioni sopra esposte, l'insorgenza di "frame" di lettura sovrapposti, confrontandola con il rimescolamento di esoni ("exon shuffling") mediante ricombinazione e/o l'evoluzione divergente in seguito a duplicazione genica. Per ciascuno di tali processi, in opportune condizioni al contorno comparabili fra loro, potrebbe essere definibile un potenziale generativo di nuove funzioni ed una velocità media/istantanea di evoluzione molecolare. Infine, non andrebbe dimenticata la possibile interazione, specie nei virus i cui capsidi appartengono a particolari gruppi spaziali, fra questi aspetti funzionali dell'evoluzione dei geni sovrapposti e i limiti geometrico-strutturali (biomeccanici) dell'involucro in cui il materiale genetico è contenuto.

## **21. Meccanismi di immunoevasione e immunodepressione indotti da nematodi entomoparassiti.**

Maurizio F. Brivio, Maristella Mastore, Patrizia Urso, Massimo Moro.

DBSF - Lab. Immunologia Comparata e Parassitologia.

I complessi entomopatogenici nematode-batteri (*Steinernema feltiae-Xenorhabdus* sp.) sono largamente impiegati negli interventi di lotta biologica integrata come insetticidi biotecnici.

Gli effetti letali indotti dai batteri simbiotici, rilasciati nella cavità emocelica dell'ospite nella fase tardiva dell'infezione, sono stati ampiamente elucidati (Dunphy e Webster, 1984; Dunphy e Halwani, 1997), mentre i processi che avvengono tra nematode e sistema

immunitario dell'insetto ospite, nella fase precoce dell'infezione, sono ancora fondamentalmente da chiarire.

Dati precedenti ci hanno permesso di formulare un modello plausibile della strategia di immunodepressione indotta dal parassita una volta penetrato nella cavità emocelica; lo studio è stato condotto sulla modulazione del sistema proPO di *Galleria mellonella* indotta dal parassita vitale, a tempi brevi post-infezione. Recentemente ci siamo orientati sullo studio dell'eventuale ruolo svolto dalla superficie corporea (cuticola) del parassita nell'interazione con il sistema immunitario del lepidottero. La cuticola dei parassiti è sostanzialmente la prima struttura ad interagire con il sistema immunitario e la sua importanza nella relazione ospite-parassita è stata ampiamente documentata in molte specie (Blaxter et al., 1992). E' stata quindi analizzata la modulazione del sistema proPO (profenolossidasi-fenolossidasi) indotta dalla presenza di cuticole isolate da *S. feltiae*, sia *in vitro* che *in vivo*. Le cuticole sono state isolate e purificate mediante sonicazione-omogenizzazione, sottoposte a diversi trattamenti (allo scopo di modificarne chimicamente struttura e composizione) e iniettate nell'emocele dell'ospite. I risultati ottenuti sembrano indicare chiaramente che la superficie corporea di *Steinernema feltiae* svolge un ruolo chiave nelle fasi precoci dell'interazione con l'ospite, riducendo drasticamente l'attività del sistema proPO, riconosciuto come il più precoce *induttore* della difesa umorale negli Artropodi. E' stata inoltre intrapreso uno studio sull'interazione del parassita con le popolazioni cellulari immunocompetenti dell'ospite; i primi dati sembrano suggerire l'insorgenza di meccanismi di *molecular mimicry* mediante cui il parassita riesce ad eludere il riconoscimento *non self* dell'ospite.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **23. Effetti degli Estratti del Cianobatterio FP1 (*Oscillatoria planktothrix*) sul Sistema Immunitario e sulle Cellule Tumoral**

Acquati F.\*, Bernardini G.\*, Fasano M.\*, Gornati R.\*, Kohn L.D.<sup>+</sup>, Lanzavecchia A.<sup>°</sup>, Molteni M.\*, Rossetti C.\*, Sallusto F.<sup>°</sup>, Taramelli R.\*

\*DBSF- Università degli Studi dell'Insubria-Varese-Italia.

<sup>°</sup>Centro di Ricerche Biomediche-Bellinzona –Svizzera

<sup>+</sup>Edison Biotechnology Institute-Ohio-USA

I Cianobatteri sono un ampio Taxa, caratterizzati dalla capacità di fare fotosintesi pur essendo dei procarioti. In letteratura sono studiati per diversi aspetti, principalmente per la capacità di alcuni di produrre tossine e per le proprietà farmacologiche dei loro estratti. In questo lavoro si sono caratterizzati gli effetti degli estratti idrofilici e mediamente idrofobici di un Cianobatterio isolato dal Lago di Varese e identificato morfologicamente e geneticamente come un' *Oscillatoria planktothrix* (1). Sia gli estratti in ambiente idrofilico che quelli in ambiente idrofobico hanno mostrato la capacità di indurre maturazione delle Cellule Dendritiche e di funzionare come adiuvanti nella risposta immunitaria pur non mostrando capacità antigeniche. La maturazione delle Cellule Dendritiche sembra essere caratterizzata dall'assenza di induzione di citochine pro-infiammatorie e dall'assenza di espressione dei recettori di "homing" verso i linfonodi, che si osservano invece nella maturazione indotta con gli estratti ottenuti da altri procarioti non fotosintetici. L'estratto in ambiente idrofobico, alla stessa concentrazione in cui è in grado di indurre maturazione nelle Cellule Dendritiche, ha mostrato capacità inibenti la proliferazione di linee tumorali di melanoma. Le molecole biologicamente attive sembrano essere i LipoOligoSaccaridi presenti sulla membrana esterna del Cianobatterio. Le prime caratterizzazioni strutturali hanno evidenziato che questi composti sono molto differenti da quelli estraibili da altri procarioti. In particolare: (1) non sembrano essere LipoPoliSaccaridi; (2) i composti biologicamente attivi sembrano compartimentarsi nella fase mediamente idrofobica invece che in quella idrofilica; (3) non sembrano presentare la frazione O-antigen. Questi risultati, che sono ancora in una fase preliminare, supportano l'ipotesi che i composti estraibili del Cianobatterio FP1 hanno diversi effetti biologici, prevalentemente a carico della componente Liposaccaridica, non ancora descritti in letteratura. In particolare il tipo di maturazione delle Cellule Dendritiche senza la produzione di citochine infiammatorie suggerisce un loro potenziale impiego come adiuvanti nei vaccini senza i classici effetti indesiderati.

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

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

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

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

Il catabolismo delle basi azotate puriniche porta alla formazione di xantina che, ad opera della xantina deidrogenasi, è convertita ad acido urico. Questa via enzimatica è conservata in tutti i vertebrati mentre la successiva degradazione dell'acido urico viene progressivamente persa durante l'evoluzione. L'uomo (insieme ad altri Pongidi) elimina, come i Rettili e gli Uccelli, acido urico, mentre gli altri Mammiferi escretano allantoina. Gli anfibi possiedono l'intera via catabolica ed eliminano  $\text{CO}_2$  e  $\text{NH}_4^+$ . I pesci, invece, presentano un quadro più complesso e ancora poco chiaro. Recentemente, oltre al cDNA dell'enzima allantoicasi dell'anfibio *Xenopus laevis*, abbiamo clonato il cDNA dell'allantoicasi di uomo e di topo. Nei Mammiferi l'attività di questo enzima non è mai stata riscontrata e il fatto di avere isolato delle sequenze espresse omologhe al cDNA di anfibio ci è sembrato sorprendente. Benchè la struttura dei due geni di Mammifero sia molto conservata, in topo si osserva un trascritto completo, in uomo, invece, esistono due trascritti, uno che parte dell'esone 7 e l'altro che parte dall'esone 2. Entrambi i trascritti umani, quindi, potrebbero produrre proteine troncate a livello N terminale. Quale possa

essere la funzione di questi trascritti apparentemente inutili in uomo e in topo sarà oggetto dei nostri sforzi futuri.

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

Monetti Claudio, Vigetti Davide, Maria Elena Mussida, Rosalba Gornati, Mariangela Prati and Giovanni Bernardini.

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

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

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

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

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

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

R. Gornati, G. Bernardini, C. Monetti, D. Vigetti, S. Bellinetto,

R. Monti, S. Bosisio and M. Prati

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

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

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



condotti sui mammiferi; questo potrebbe essere un notevole vantaggio nell'impiego dello *X. tropicalis*.

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

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

## **27. Studi sulle flavoproteine ossidasi**

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

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

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

Gli studi che vengono eseguiti su questi enzimi modello riguardano:

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

I principali risultati sono stati ottenuti usando molte metodologie della moderna biologia strutturale, come la modificazione chimica, la mutagenesi sito-specifica, la proteolisi limitata, il molecular modelling, la risoluzione della struttura 3D mediante diffrazione ai raggi X, la cinetica allo stato stazionario e prestazionario.

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

Chiara Cappelletti, Simona Lorenzi, Gianluca Molla, Laura Motteran, Mirella Pilone, Loredano Pollegioni, Silvia Sacchi  
*Unità di Biochimica delle Proteine - DBSF Via J.H. Dunant, 3 – Varese*

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

- flavoossidasi
- acilasi
- proteasi

Questi enzimi vengono studiati per caratterizzarne le proprietà di stabilità e di attività, e per svilupparne l'impiego (ad esempio come biocatalizzatori o biosensori). La produzione di adatti biocatalizzatori è stata spesso ottenuta mediante l'immobilizzazione covalente

dell'enzima e la messa a punto di un reattore apposito.

Si cerca inoltre di modificare le caratteristiche native delle proteine mediante due approcci principali: il rational e l'irrational design. Il primo approccio è basato su una conoscenza approfondita delle proprietà strutturali e funzionali dell'enzima oggetto dello studio ed utilizza principalmente la tecnica di mutagenesi sito specifica. Il secondo approccio invece si basa su metodi combinatori, ad esempio la tecnica di mutagenesi casuale, al fine di ottenere una libreria di proteine mutanti da cui isolare (mediante un adatto metodo di selezione) quelle con le (nuove) proprietà desiderate. In alcuni casi lo sviluppo del biocatalizzatore adatto ha infatti richiesto il clonaggio del corrispondente gene per ottenere la sovraespressione della proteina wild-type e/o di proteine mutanti ottenute mediante rational o irrational design.

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

*Francesco Acquati, Marco Giorgio Bianchi, Raffaella Cinquetti, Paola Campomenosi, Diego Negri, Sara Castiglioni, Antonella Russo, Barbara Munaro, , L. Varesco, V. Gismondi, L. Possati, Maria Grazia Tibiletti, M. G. Daidone, D. I. Smith, C. Morelli, G. Barbanti-Brodano e Roberto Taramelli.*

Numerose evidenze sperimentali suggeriscono la presenza di geni oncosoppressori sul cromosoma 6 umano a livello della regione 6q27. Tale regione è infatti bersaglio di delezioni durante lo sviluppo di un ampio spettro di tumori. Recentemente, abbiamo identificato in 6q27 un gene (RNASE6PL) codificante una ribonucleasi appartenente alla famiglia Rh/T2/S. La sequenza aminoacidica codificata è ampiamente conservata nelle diverse specie. Le funzioni biologiche attribuite a questa classe di RNAsi sono piuttosto eterogenee, tuttavia, un meccanismo comune di tali funzioni è l'inibizione della proliferazione cellulare. Abbiamo in precedenza dimostrato che RNASE6PL è un gene oncosoppressore di classe II, in quanto la sua espressione è ridotta nel 30% dei carcinomi ovarici e nel 75% delle linee tumorali analizzate. Linee cellulari umane trasfettate con tale gene mostrano inoltre una soppressione della tumorigenicità se inoculate in topo nudo. Inoltre, alcuni cloni cellulari trasfettati mostrano una marcata induzione di senescenza. Diversi esperimenti sono in corso allo scopo di caratterizzare la regolazione, la localizzazione cellulare e le funzioni della proteina RNASE6PL. A questo scopo stiamo studiando funzionalmente la regione del promotore con costrutti reporter (Luciferasi). Contemporaneamente è stato isolato l'ortologo murino ed è in corso la produzione di topi knockout. Verranno inoltre presentati i risultati preliminari degli esperimenti di produzione e purificazione della proteina RNASE6PL e di citolocalizzazione della proteina come prodotto di fusione con GFP.

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

*N. Skagiakou, A. Russo, P. Campomenosi, F. Acquati, R. Cinquetti, Elisabetta Bortolotto, e R. Taramelli.*

DRAP1/BACE2 è una proteina recentemente caratterizzata, appartenente alla famiglia delle aspartil proteasi, il cui gene mappa sul cromosoma 21q22.3, nella regione critica per la sindrome di Down. La proteina DRAP1 presenta un'omologia elevata con BACE1, la  $\alpha$ -secretasi responsabile del taglio proteolitico della proteina APP e della conseguente produzione del frammento A $\beta$ , coinvolto nella formazione delle placche senili

patognomoniche del morbo di Alzheimer. Il trascritto primario di BACE2 è stato caratterizzato e sono state descritte alcune forme alternative di splicing, una delle quali produce una proteina priva del dominio transmembrana, che quindi indirizzerebbe la proteina per la secrezione.

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

Inoltre, allo scopo di studiare la localizzazione subcellulare della proteina, si sono effettuati esperimenti di immunofluorescenza sulle stesse linee cellulari ed è stato allestito un costrutto per l'espressione di DRAP1 come prodotto di fusione con GFP. I prossimi esperimenti in questo ambito saranno volti a verificare se l'espressione di DRAP1 sia costitutiva o inducibile ed eventualmente caratterizzare gli stimoli in grado di indurre l'espressione. Infine, stiamo producendo delle linee di topi transgenici per DRAP1 per valutare il ruolo fisiologico di questo gene *in vivo*.

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

*Raffaella Cinquetti, Roberto Valli, Mattia Cremona, Chiara Camesasca, Adelio Cangemi, Silvana Bardelli, Barbara Heiddegger, Marco Giorgio Bianchi, Paola Campomenosi, Monica Taborelli, Maria Grazia Tibiletti, Antonella Russo, Francesco Acquati e Roberto Taramelli.*

Il Ritorno Venoso Polmonare Anomalo Totale (TAPVR) è una rara cardiopatia congenita caratterizzata dall'errata connessione, durante lo sviluppo embrionale, delle vene polmonari con l'atrio destro del cuore anziché con l'atrio sinistro.

Sebbene le basi genetiche di questa patologia cardiaca non siano ancora comprese in dettaglio, studi recenti di citogenetica classica o analisi di linkage hanno definito alcune regioni cromosomiche coinvolte nella patogenesi del TAPVR (4p13-q12; 2q31-33; 22 cen-q11 e 10p). Recentemente, abbiamo identificato una traslocazione *de novo*, apparentemente bilanciata, tra i cromosomi 10 e 21, t(10;21)(q23.1;q11.2) in un paziente pediatrico affetto da TAPVR. I genitori ed il fratello del probando sono risultati sani e privi del riarrangiamento cromosomico sopra descritto; l'evento di traslocazione nel probando potrebbe quindi avere interrotto la sequenza codificante di un gene implicato nello sviluppo cardiovascolare o comunque alterato la sua regolazione.

La caratterizzazione citogenetica del *breakpoint* mediante esperimenti di ibridazione *in situ* per fluorescenza (FISH) ha portato all'identificazione di cloni PAC e BAC che attraversano il breakpoint sui cromosomi 10 e 21 traslocati. Le regioni genomiche contenute in tali cloni sono attualmente oggetto di una dettagliata caratterizzazione molecolare allo scopo di mappare con precisione i due breakpoint ed avviare la ricerca di eventuali geni candidati situati nelle vicinanze dei breakpoint stessi, e come tali potenzialmente implicati nella patogenesi del TAPVR.

### **32. Regolazione redox dell'efficienza di trasferimento dell'energia di eccitazione nei batteri fotosintetici verdi: meccanismi e possibile significato fisiologico**

Anna Giulia Cattaneo\*, Paolo D. Gerola° e Alberto Vianelli\*

\*Unità di Fotobioenergetica; °Cattedra di Botanica, Facoltà di Scienze MM.FF.NN.-Varese

La nostra ricerca ha come oggetto la struttura, funzione e regolazione dell'apparato fotosintetico dei batteri verdi come modello dell'apparato fotosintetico delle piante superiori. In particolare, viene studiata la regolazione del trasferimento di energia nell'antenna e, in generale, si cerca di evidenziare e caratterizzare possibili meccanismi fotoprotettivi. In particolare, obiettivo di questo lavoro è l'individuazione e l'analisi dello smorzamento della fluorescenza (indice dell'energia di eccitazione) in condizioni ossidanti in due specie rappresentative dei batteri verdi rispettivamente sulfurei e non-sulfurei, *Chlorobium tepidum* (fotoautotrofo anaerobio obbligato) e *Chloroflexus aurantiacus* (fotoautotrofo o fotoeterotrofo facoltativo in condizioni anaerobiche, oppure chemoorganotrofo in condizioni aerobiche). Entrambe moderatamente termofile, posseggono lo stesso tipo di antenna (clorosomi) ma un diverso tipo di centro di reazione. Misure di assorbimento e di fluorescenza (allo stato stazionario e risolta nel tempo) condotte su clorosomi isolati hanno evidenziato, in *Cf. aurantiacus* ma non in *Cb. tepidum*, un meccanismo efficiente di smorzamento dell'energia in condizioni più ossidanti di quelle di un ambiente aerobico (ottenute mediante l'aggiunta di ferricianuro). Tali misure e l' $E_m$  apparente dello smorzatore (di circa +450 mV) suggeriscono che esso sia un catione di batterioclorofilla c. Misure di Risonanza Elettronica Paramagnetica (EPR) su clorosomi delle due specie e di Risonanza Magnetica Rivelata Otticamente (ODMR) su membrane fotosintetiche intatte sono in accordo con questa ipotesi. Un possibile ruolo fisiologico di tale fenomeno nella dissipazione dell'energia di eccitazione in eccesso viene discusso nel contesto dell'ecofisiologia dei due microorganismi.

### **33. EFFETTI DI $Na^+$ e $Cl^-$ SUL COTRASPORTATORE NEURONALE DEL GABA rGAT1.**

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

rGAT1 svolge l'importante ruolo fisiologico porre fine alla trasmissione sinaptica gabaergica nel sistema nervoso centrale e di recuperare il neurotrasmettitore rilasciato. Esso è un membro della famiglia di cotrasportatori che dipendono dal  $Na^+$  e dal  $Cl^-$ . Il ruolo del  $Na^+$  è naturalmente quello di fornire l'energia del suo gradiente elettrochimico, mentre il ruolo del  $Cl^-$  non è chiaro. In questo lavoro abbiamo studiato gli effetti delle concentrazioni extracellulari di  $Na^+$  e  $Cl^-$  sulle correnti transienti del cotrasportatore espresso in oociti di *Xenopus*. Questo tipo di corrente è legato ad un riarrangiamento conformazionale della molecola in seguito a variazioni potenziale di membrana. La dipendenza dal voltaggio di queste correnti viene spostata a valori più negativi da riduzioni nelle concentrazioni di entrambi gli ioni, tuttavia l'effetto del  $Na^+$  è più forte di quello del  $Cl^-$ . Questo effetto è accompagnato da un'accelerazione del processo. Questi risultati non possono essere spiegati dall'equazione di Boltzmann-Hill (Mager et al. 1996, J. Neurosci 16, 5405). Abbiamo ipotizzato un modello basato sull'esistenza di un vestibolo sul lato esterno del cotrasportatore, al quale  $Na^+$  e  $Cl^-$  potrebbero avere accesso selettivo. In questo modo la soluzione esterna ed il vestibolo darebbero luogo ad un sistema di Donnan in grado di riprodurre buona parte delle osservazioni sopra descritte. In particolare, il rapporto di Donnan prevede che riduzioni di  $Na^+$  o di  $Cl^-$  esterni abbiano i medesimi effetti sul  $Na^+$  nel vestibolo. Inoltre il sistema genera anche un potenziale elettrico vestibolare che si somma al potenziale di membrana. Il confronto dettagliato tra il modello ed i dati sperimentali mostra che la teoria può spiegare gli effetti del  $Na^+$  e del  $Cl^-$

sulle costanti di velocità in ingresso, mentre gli effetti sulla costante di velocità in uscita sono maggiori di quelli previsti, e richiedono assunzioni aggiuntive, probabilmente con il coinvolgimento di modificazioni allosteriche.

#### **34. THE TEMPERATURE EFFECT ON THE PRESTEADY-STATE AND TRANSPORT-ASSOCIATED CURRENTS OF THE GABA COTRANSPORTER rGAT1**

**Elena Bossi, Francesca Binda, Stefano Giovannardi, Greta Forlani e Antonio Peres**  
**Laboratorio di Fisiologia cellulare emolecolare**

The effects of temperature on the presteady-state and transport associated currents of the GABA transporter GAT1 have been studied using heterologous oocytes expression and voltage-clamp.

The possibility of heterologous expression in *Xenopus laevis* oocytes has greatly expanded our knowledge of the properties of several cotransporters. In the majority of the cases however, the experiments have been performed at room temperature, which is obviously not physiological for a mammalian transporter. Studying the effects of temperature on the kinetics and amplitude of the transport characteristics is also a useful mean to obtain information on the nature of the processes, since the temperature coefficient  $Q_{10}$  is related to the complexity of the underlying mechanism.

Increasing the temperature from 15 to 30 °C diminished the maximal value of the relaxation time constant of the presteady-state current and increased the amplitude of the current associated with the GABA transport. The curve of the presteady-state charge vs voltage was shifted toward negative potential by increasing temperatures, while the maximal amount of charge ( $Q_{max}$ ) remained constant; the  $\tau$  vs V curve was also negatively shifted by increasing temperatures.

Analysis of the outward ( $\alpha$ ) and inward ( $\beta$ ) rate constants as functions of temperature showed that they are affected differently, with a  $Q_{10} = 3.4$  for  $\alpha$  and a  $Q_{10} = 1.5$  for  $\beta$ .

The different temperature coefficients of the rate constants account for the observed shift. These observations are consistent with a charge movement mechanism based on a conformational change of the protein; the weaker temperature sensitivity of the inward rate constant  $\beta$  suggests a rate-limiting diffusional component on this process.

#### **35. MODULATION OF THE INWARD RECTIFIER POTASSIUM CHANNEL IRK1 BY THE RAS SIGNALLING PATHWAY**

Greta Forlani, Patrizia Camelliti\*, Monica Balestrini†, Antonio Peres, Renata Zippel† and Stefano Giovannardi.

Department of Structural and Functional Biology, Università dell'Insubria, Via J. H. Dunant 3, 21100 Varese, Italy \*Department of Physiology, University of Oxford, Parks Road, OX1 3PT Oxford, United Kingdom and †Department of General Physiology and Biochemistry, Università di Milano Via Celoria 26, 20133 Milano Italy.

In neurons Ras and mitogen activated protein kinases (MAPK) regulate a diverse array of functions such as neuronal differentiation, apoptosis and participate also in synaptic transmission. In particular, the MAPK pathway is necessary for long term potentiation in mammalian hippocampus, is required for long term facilitation and is also involved in cerebellar long term depression. In addition Ras is also involved in modulating ionic channels activity, suggesting that in neurons the Ras pathway may also be implicated in the control of intrinsic excitability. Inwardly rectifying potassium channels are known to play important roles in the maintenance of the resting membrane potential and in the fine-tuning of excitability after synaptic input. IRK1/Kir 2.1 is a member of this family of channels, it is widely expressed in the mammalian CNS and in the hippocampus and it is mainly

localized in the soma and in apical dendrites of the pyramidal cells. IRK1 contains also a C-terminal region that couples to PDZ domains, an important element involved in targeting and recycling of various synaptic proteins. In this study we investigated the role of Ras and Mitogen-Activated-Protein-Kinase (MAPK) pathway on the modulation of the inward rectifier potassium current IRK1. We show that while expression of IRK1 alone in HEK-293 cells allows the appearance of a potassium current with strong inward rectifying properties, coexpression of the constitutive active form of Ras (Ras-L61) leads to a significant reduction (~ 40 %) of the mean current density without altering its kinetics. The inhibitory effect of Ras-L61 is not due to differential expression of IRK1 since Northern analysis indicates that IRK1 RNA level is not affected by Ras-L61 co-expression. Moreover it can be abrogated by pre-treatment with the MAPK kinase inhibitor PD98059. Confocal microscopy analysis of cells transfected with the fusion construct green fluorescent protein-IRK1 shows that the channel is mainly localized at the plasma membrane. Coexpression of Ras-L61 delocalises the fluorescence signal to the whole cell while pre-treatment with PD98059 partially restores the membrane localization. In conclusion our data indicate that Ras-MAPK pathway modulates IRK1 current probably through a local redistribution of the IRK1 channels rather than a direct effect on its activity suggesting a role for Ras signalling in the intracellular trafficking of this channel.

### **36. Attività sinaptica: cinetica della secrezione quantale evocata**

Riccardo Fesce – DBSF – Università dell’Insubria

La visione attuale del rilascio quantale di neurotrasmettitore propone che la vescicola migri verso il sito di rilascio (zona attiva), dove interazioni proteiche conducono al “docking” alla membrana presinaptica ed alla formazione di un complesso proteico (la “macchina di fusione”) che rende la vescicola competente al rilascio di un quanto, in risposta all’arrivo del potenziale d’azione. Nell’approccio biofisico classico, il rilascio quantale è visto come un processo binomiale, dove  $n$  vescicole (siti) competenti per l’esocitosi rilasciano un quanto, con probabilità  $p$ , in risposta al potenziale d’azione. Studi statistici e cinetici del rilascio quantale hanno fornito però risultati difficili da conciliare con questo modello semplificato. Vengono qui presentati e discussi dati che suggeriscono una nuova ipotesi interpretativa. Si sono studiate le risposte sinaptiche, e l’attività di rilascio spontaneo, durante stimolazione elettrica, alla giunzione neuromuscolare di topo e nel ganglio cervicale superiore di ratto. Sono stati applicati impulsi appaiati con intervallo variabile e stimolazioni ripetitive, a frequenza fissa o con intervalli tra gli stimoli di durata casuale. Si è riscontrato un comportamento statistico di tipo binomiale a bassa  $n$  (pochi siti o vescicole pronti per il rilascio), ma non si è osservata la correlazione attesa tra risposte sinaptiche successive. Si è invece evidenziato un transitorio (<5 ms) spegnimento dell’attività secretiva dopo ogni risposta evocata dal potenziale d’azione. Questo suggerisce che tutti i complessi di fusione disponibili vengano attivati dal potenziale d’azione, e nuovi complessi siano rapidamente ricostituiti dopo il rilascio evocato. Si propone quindi che l’aspetto stocastico del sistema non sorga dalla probabilità con cui il potenziale d’azione attiva i complessi di fusione. Piuttosto, l’assemblaggio del complesso di fusione della vescicola sarebbe un processo reversibile stocastico, esposto a vari meccanismi regolatori che influenzano il rilascio, sia spontaneo sia evocato. Il potenziale d’azione scatenerebbe invece deterministicamente il rilascio sincrono solo dai complessi competenti, adeguatamente organizzati.

### **37. Adattamenti morfologici dell'apparato respiratorio di branzino (*Dicentrarchus labrax*) a differenti livelli di ossigeno disciolto in acqua: vantaggi per il "compromesso osmo-respiratorio" ?**

Marco Saroglia<sup>1</sup>, Genciana Terova<sup>2</sup>, Gaetano Caricato<sup>2</sup>, Angelo De Stradis<sup>3</sup>, Anna Caputo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – Università degli Studi dell'Insubria, Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Varese

<sup>2</sup> - Università degli Studi della Basilicata, Dipartimento di Produzione Animale, Potenza

<sup>3</sup> - Università degli Studi della Basilicata, Centro Interdipartimentale di Microscopia, Potenza

In branzini (*Dicentrarchus labrax*) allevati con tecnologia intensiva applicando due diverse tecnologie di ossigenazione (aerazione ed ossigenazione con gas puro), ottenendo rispettivamente 80-100% e 120-130% del valore di saturazione dell'ossigeno in acqua, è stata misurata la Distaza di Diffusione dei Gas (DDG) mediante microscopio laser-confocale computerizzato. I risultati hanno fornito rispettivamente spessori corrispondenti rispettivamente a 1,75 ( $\pm 0,16$ ) e 2,31 ( $\pm 0,35$ )  $\mu\text{m}$  nel periodo estivo (22-25°C), contro 2,51 ( $\pm 0,23$ ) e 2,95 ( $\pm 0,2$ )  $\mu\text{m}$  nel periodo autunnale (13-16°C). I dati mostrano un significativo aumento del valore di DDG con l'incremento della  $P_{O_2}$  in acqua, sia nel caso del trattamento con ossigeno puro che quando, con l'abbassarsi della temperatura, aumenta la solubilità dei gas.

Successivamente, su 3 lotti della stessa specie acclimatati per un periodo di 2 mesi a temperatura costante (24°C), in condizioni di ipossia, normossia ed iperossia, rispettivamente 60-70%, 90-100% e 120-140% del valore di saturazione, è stata misurata con lo stesso strumento la Superficie Respiratoria Totale (RSA). I valori di RSA rilevati rispetto al peso corporeo (b.w.), sono stati rispettivamente pari a 351,98 ( $\pm 8,90$ ), 264,86 ( $\pm 48,20$ ), 212,90 ( $\pm 57,22$ )  $\text{mm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  b.w., nei 3 regimi di ossigenazione. I risultati hanno pertanto mostrato un andamento della RSA inversamente proporzionale alla disponibilità di ossigeno.

Ipotizzando che la riduzione delle condizioni di diffusione del gas a livello branchiale con i regimi di elevato tenore di  $O_2$  possano essere giustificati da un vantaggio nel mantenimento dell'equilibrio osmotico, branzini acclimatati a due livelli di ossigenazione (ipossia ed iperossia) sono stati trasferiti, per un tempo di 60', in secchi contenenti acqua priva di sodio. I risultati della determinazione del sodio accumulato nella stessa acqua, parzialmente in elaborazione, hanno mostrato un rilascio di  $\text{Na}^+$  nell'ordine di 74  $\text{nmol}/\text{min}'/\text{g}$  b.w. tra i branzini esposti a regime di ipossia e di 35  $\text{nmol}/\text{min}'/\text{g}$  b.w. tra i branzini esposti a regime di iperossia, sostenendo l'ipotesi di un vantaggio delle condizioni di iperossia nel mantenimento dell'osmolarità, attraverso un possibile compromesso osmorespiratorio.

### **38. Ottimizzazione di ceppi di *Pseudomonas* per la biodegradazione di inquinanti ambientali: metilbenzeni e cloro-aromatici**

P. Barbieri<sup>1</sup>, F. Arengi<sup>2</sup>, D. Solera<sup>2</sup>, G. Bertoni<sup>2</sup>, R. Macchi<sup>2</sup>, E. Galli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> DBSF, Università dell'Insubria; <sup>2</sup> DGBM, Università di Milano.

Per ottenere ceppi batterici più efficienti nella degradazione di contaminanti ambientali abbiamo sviluppato tre attività di ricerca: 1. identificazione delle limitazioni metaboliche nella degradazione di molecole strutturalmente correlate; 2. studio della regolazione del catabolismo; 3. sviluppo di strategie per la degradazione di composti cloro-aromatici.

1. Per identificare i “colli di bottiglia” che limitano la degradazione di molecole strutturalmente correlate è stato analizzato lo spettro di substrati degli enzimi coinvolti nel catabolismo di metilbenzeni in *Pseudomonas stutzeri* OX1. La reazione limitante è l’apertura dell’anello aromatico catalizzata dalla catecolo 2,3-diossigenasi che, contrariamente agli altri enzimi della via, appare dotata di un ristretto spettro di substrati.

2. L’incapacità di un ceppo batterico di utilizzare un certo substrato può essere dovuta, oltre che al limitato spettro di substrati degli enzimi catabolici, anche all’incapacità del substrato stesso di indurre la trascrizione. In *P. stutzeri* OX1 abbiamo osservato che vi può essere trascrizione di un operone catabolico indipendentemente dalla presenza dell’effettore specifico ma in funzione della fase di crescita. Questo fenomeno, finora mai descritto per circuiti regolativi analoghi, può essere sfruttato per l’espressione di geni eterologhi in *Pseudomonas* svincolata dalla presenza di un effettore specifico.

3. Mentre gli acidi clorobenzoici sono composti degradati da un certo numero di batteri i clorotolueni sono composti normalmente recalcitranti alla biodegradazione ma che possono essere co-metabolizzati da alcuni ceppi di *Pseudomonas*. Sfruttando tali capacità abbiamo ottenuto degradazione di clorotolueni in co-culture di *P. putida* KT2442(*upper TOL*)-*A. ramosus* FG1.

### **39. PRIME EVIDENZE SPERIMENTALI DI SENSITIZZAZIONE AL $\Delta^9$ -TETRAIDROCANNABINOLO: ASPETTI COMPORTAMENTALI E CORRELATI CELLULARI**

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

Gruppo di Neurofarmacologia

Per verificare la possibile esistenza di sensitizzazione comportamentale al  $\Delta^9$ -tetraidrocannabinolo ( $\Delta^9$ -THC), il principale componente psicoattivo della marijuana ratti maschi adulti sono stati trattati due volte al giorno per cinque giorni consecutivi con dosi crescenti di  $\Delta^9$ -THC (5, 10, 20, 40, 40 mg/kg, i.p.) e 20 giorni dopo l’ultima somministrazione sono stati iniettati con una dose soglia di  $\Delta^9$ -THC (5mg/kg) e osservati per 80 minuti. La somministrazione di  $\Delta^9$ -THC induce negli animali pretrattati una sindrome di eccitazione motoria caratterizzata soprattutto da un significativo incremento dell’attività stereotipata; al contrario, negli animali mai esposti alla droga il  $\Delta^9$ -THC induce una evidente sindrome d’inibizione motoria. L’eccitazione motoria presente nei ratti pre-esposti al  $\Delta^9$ -THC si può definire sensitizzazione comportamentale. Sono stati inoltre caratterizzati i meccanismi cellulari coinvolti in questo processo analizzando nel SNC i livelli del recettore cannabico, l’accoppiamento recettore cannabico-Gproteine, i livelli di cAMP e i livelli e l’attivazione di alcuni fattori di trascrizione. Venti giorni dopo il pretrattamento cronico con  $\Delta^9$ -THC si osserva una significativa up-regulation del recettore cannabico CB1 localizzata solo a livello cerebellare (20%) e un significativo incremento nell’accoppiamento recettore cannabico/G-proteine localizzato specificatamente nel cervelletto (30%) e nel caudato putamen (40%). Sia nel caudato putamen che nel cervelletto degli animali sensitizzati si osserva una tendenza all’incremento nei livelli basali di cAMP che però non raggiunge la significatività statistica, risultato che ben si correla con la mancata alterazione dei livelli di CREB e AP1. Infine nel caudato putamen l’agonista cannabico CP-55,940 mantiene la sua capacità di inibire la produzione di cAMP stimolata da forskolina mentre, nel cervelletto degli animali sensitizzati il CP-55,940 perde tale capacità. I risultati ottenuti dimostrano l’esistenza di sensitizzazione comportamentale al



$\Delta^9$ -THC caratterizzata da meccanismi neuroadattativi specifici localizzati nel caudato putamen e nel cervelletto.

#### **40. Unità di ricerca in Ecologia Quantitativa e delle Acque Interne**

**Giuseppe Crosa (PA), Davide Calamari (PO), Giorgia Lalumera (Borsista), Paolo Galli (Borsista)**

L'Unità sviluppa ricerche, sia teoriche che applicate, sulle proprietà ecologiche degli ecosistemi acquatici continentali. Attenzione viene posta sull'applicazione e sviluppo di tecniche di analisi numerica per la misura della variazione delle comunità acquatiche in ecosistemi naturali e perturbati. Studi specifici sono anche rivolti alle caratteristiche idrauliche e fisiche dei sistemi fluviali con l'obiettivo di fornire basi scientifiche per la loro gestione. Di recente l'Unità ha sviluppato due linee di ricerca relative all'analisi della variazione genetica di specie acquatiche di particolare interesse ecologico. Le attività in atto nel 2001 riguardano 10 progetti di ricerca:

1. Development of integrated water management tools for the Tuyamuyn reservoir complex for the improvement of the drinking water supply and public health in the disaster zone of the lower Amu-Darya (IWMT).
  2. Investigation of innovative pollution clean-up and avoidance strategies for surface water and groundwater resources at the "Disaster Zone" of the Amu-Darya lowers.
    3. Structural and functional analysis of freshwater invertebrates communities in West Africa.
  4. Presenze ed effetti sull'ecosistema dei farmaci usati in acquicoltura.
  5. Progetto Life-Natura 2001: conservazione di *Austropotamobius pallipes* in due S.I.C. della Lombardia.
  6. Sviluppo di Metodi per la valutazione qualitativa dei corsi d'acqua minori della Provincia di Milano.
  7. Linee guida operative per il miglioramento dell'integrità ecologica di corsi d'acqua di pianura.
  8. Analisi filogeografica del sistema ospite parassita applicato alla fauna acquatica continentale.
  9. Ecologia dei parassiti della fauna ittica.
  10. Analisi delle variazioni temporali delle caratteristiche ecologiche del lago di Varese.
-

## **Progetti di ricerca finanziati**

### ***Fondo di Ateneo per la Ricerca***

Responsabile: prof. Paola Gramatica

Ammontare: L. 6.668.561

Titolo: "Modellamento QSAR di parametri di persistenza ambientale (costanti di velocità di degradazione, emivite, ecc.) per inquinanti organici persistenti (POPs)"

Responsabili: M.S. Pilone, L. Pollegioni, L. Piubelli:

Ammontare: L. 15.668.000

Titolo: Ingegneria proteica di funzioni: attività, specificità e stabilità

Responsabile: prof. S. Banfi

Ammontare:

Titolo:

Responsabile: Prof. R. Taramelli, Prof. A Ghidoni, Prof.A. Russo, Dr. F. Acquati

Ammontare: Lit. 19.600.000

Titolo:

Responsabile: prof. D. Parolaro

Ammontare: 10.000.000

Titolo:

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

Responsabile: prof. M.S. Pilone:

Ammontare: Lit. 90.000.000 (+ Lit. 38.000.000 dall'Università dell'Insubria)

Titolo: Ingegneria evolutiva di specifiche funzioni, proprietà di legame e di stabilità nelle proteine.

Responsabile: Prof. P. Barbieri.

Ammontare : Lit. 93.000.000.

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

Responsabile: prof. D. Parolaro

Ammontare: lire 108.000.000

Titolo "Alterazioni cellulari indotte da farmaci d'abuso e da stimoli avversivi non evitabili nel sistema nervoso centrale di ratto" finanziata per un totale (cofinanziamento MURST 76.000.000) all'interno del Progetto nazionale "Neurobiologia dei disturbi motivazionali: interazione tra meccanismi di apprendimento associativo e non- associativo nel sistema mesolimbico" (coord. Gaetano DiChiara)

Responsabile: Dr. A. Di Guardo

Ammontare: € 96.059

Titolo: (resp. Unità di ricerca), Trasporto di contaminanti nell'arco alpino, MURST/ATENE0 COFIN 2001, (coord. Marco Vighi)

Responsabile: prof. P. Gerola

Ammontare: lire 90.000.000

Titolo: Internalizzazione di proteine nel tubetto pollinico in relazione alle interazioni col tessuto di trasmissione stilare

Responsabile: prof. A. Peres

Ammontare: lire 105.000.000

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

### **Unione Europea**

Responsabile: Prof. Paola Gramatica

Ammontare: L. 54.670.274

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

Responsabile: prof. Guido Tosi

Ammontare: 680.000,00 Euro

Titolo: Biological conservation and sustainable management of Mount Meru natural system, Tanzania.

Responsabile: Dr. Bruno Cerabolini

Ammontare: 41.317,00 Euro

Titolo: Gestione integrata di ambienti prealpino-insubrici  
Ente: Comunità Europea (progetto LIFE2000NAT/IT/7258)

Responsabile: prof. G.Crosa

Ammontare: 49.580 €.

Titolo: Conservazione di *Austropotamobius pallipes* in due SIC della Lombardia  
Ente: U.E.

### **CNR**

Responsabile: Dr. Gianpaolo Perletti

Ammontare: Euro 11,878 (lire 23,000,000)

Titolo: Applicazioni terapeutiche della modulazione di isoforme di classe "n" della Protein Chinasi C

Responsabile: Prof. P. Barbieri

Ammontare: lire 26.000.000.

Titolo: Miglioramento e costruzione di ceppi di *Pseudomonas* per la biodegradazione di contaminanti ambientali quali composti aromatici metil-, cloro-, o nitro-sostituiti.

Responsabile: Dr. Elena Bossi

Ammontare: lire 15.000.000

Titolo: Domini strutturali responsabili della dipendenza ionica nei trasportatori sodio-cloro dipendenti

### **Altri Enti**

Responsabile: prof. L. Pollegioni e M.S. Pilone

Ammontare: 130.000.000

Titolo: Produzione di enzimi per intermedi di antibiotici beta-lattamici

Ente: Antibioticos S.p.A

Responsabile: prof. M.S. Pilone e L. Pollegioni

Ammontare: Lit. 54.000.000

Titolo: Produzione di proteasi ricombinanti come biocatalizzatori per applicazioni industriali

Ente: Polo Scientifico e tecnologico Lombardo

Responsabile: Prof. R. Taramelli

Ammontare: Lit. 78.000.000

Titolo: Molecular genetics of ovarian tumors: mapping and cloning of a Tumor suppressor gene localised to the peritelomeric portion of chromosome 6 (6q27).

Ente: AIRC

Responsabile: prof. Guido Tosi

Ammontare: 24015,00 Euro

Titolo: Indagine sull'influenza dello Svasso (*Podiceps cristatus*) e del Cormorano (*Phalacrocorax carbo*) sull'ittiofauna del Lario, con particolare attenzione all'interazione Svasso-Alborella (*Alburnus alburnus alborella*)

Ente: Provincie di Como e Lecco

Responsabile: prof. Guido Tosi

Ammontare: 25.134,00 Euro

Titolo: Indagine sulla caratterizzazione delle popolazioni di alcune componenti dell'avifauna acquatica e loro potenziale influenza sull'ittiofauna presente nei principali corpi idrici del territorio provinciale.

Ente: Provincia di Varese

Responsabile: prof. Guido Tosi

Ammontare: 332.580,00 Euro

Titolo: Conservazione ed incremento della biodiversità nelle foreste mediante interventi di gestione integrata della componente faunistica

Ente: Regione Lombardia

Responsabile: prof. Gianfranco Badaracco, Davide Calamari, Guido Tosi

Ammontare: 21.150,00 Euro

Titolo: Caratterizzazione ecologica, morfologica e comportamentale delle popolazioni di trota in provincia di Varese mediante l'ausilio di tecniche di genetica molecolare

Ente: Provincia di Varese

Responsabile: prof. G.Crosa

Ammontare: 15.000 €.

Titolo: Development of integrated water management tools for the Tuyamuyn reservoir complex for the improvement of the drinking water supply and public health in the disaster zone of the lower Amu-Darya (IWMT)

Ente: .. INTAS

Responsabile: prof. D. Calamari

Ammontare: 15.000 €.

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

Ente: INTAS

Responsabile: prof. D. Calamari

Ammontare: 92.000 €

Titolo: Presenze ed effetti sull'ecosistema dei farmaci usati in acquicoltura

Ente: Ministero delle Politiche Agricole

Responsabile: prof. G.Crosa

Ammontare: 50.000 €.

Titolo: Linee Operative per la Rinaturalizzazione di Rogge Appartenenti al Reticolo Idrografico Minore della Provincia di Milano

Ente: Provincia di Milano, Direzione Centrale Ambiente Servizio Caccia e Pesca

Responsabile: prof. G.Crosa

Ammontare: 35.000 €.

Titolo: Taratura e standardizzazione di metodi per la valutazione qualitativa dei corsi d'acqua minori della Provincia di Milano.

Ente: Provincia di Milano, Direzione Centrale Ambiente Settore Acque Superficiali

## SEMINARI

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

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

Nel corso del 2001 sono stati tenuti i seguenti seminari:

- 08/01/2001 - Dr. Daniel Lawson\_\_\_\_\_ ospite Mirella Pilone  
C. elegans Database Group. Wellcome Trust Genome Campus. Hixton, Cambridge. UK  
Genome annotation past and present: a walk from ACEDB to ENSEMBL
- 12/01/2001 - Dr. Vincent Niviere\_\_\_\_\_ ospite Loredano Pollegioni  
Laboratoire de Chimie et Biochimie des Centres Redox Biologiques Grenoble France  
Superoxide reductase SOR, a new enzymatic system involved in detoxication of superoxide stress
- 31/01/2001 - Jean Marie Gregoire e Pietro Alessandro Brivio\_\_\_\_\_ ospiti G. A. Lanzarone e G. Tosi  
Space Application Institute, European Commission, Joint Research Centre, Ispra;  
Rep.Telerilevamento, IRRS-CNR, Milano  
Identificazione e mappatura delle aree bruciate a scala globale: potenzialità dei sensori ottici di osservazione della terra
- 06/02/2001 - Prof. Riccardo Fesce\_\_\_\_\_ ospite Antonio Peres  
DIBIT, Ospedale S. Raffaele  
cinetiche veloci del ricircolo di vescicole sinaptiche
- 21/02/2001 - Sebastiano Bruno Serpico\_\_\_\_\_ ospiti G. A. Lanzarone e G. Tosi  
Dipartimento di Biofisica ed Ingegneria Elettronica, Università di Genova  
Classificazione statistica di immagini telerilevate del territorio: Inquadramento e sviluppi recenti
- 28/03/2001 - Alessandro Annoni\_\_\_\_\_ ospiti G. A. Lanzarone e G. Tosi  
Space Application Institute, European Commission, Joint Research Centre, Ispra  
L'uso del GIS per la rete ecologica NATURA2000
- 02/05/2001 - Eugenio Zilioli e Claudia Giardino\_\_\_\_\_ ospiti G. A. Lanzarone e G. Tosi  
Rep.Telerilevamento,IRRS-CNR, Milano; DIIAR, Politecnico di Milano  
Il Telerilevamento per il Monitoraggio dei Laghi
- 15/05/2001 - Prof. Henriette Molinari\_\_\_\_\_ ospite Antonio Peres  
Dipartimento Scientifico e Tecnologico, Università degli Studi di Verona  
Caratterizzazione strutturale e studio del meccanismo di folding mediante NMR:  
applicazioni a proteine appartenenti alla famiglia delle lipocaline
- 18/05/2001 - Prof. Giorgio Binelli\_\_\_\_\_ ospite Roberto Taramelli  
Università di Sassari  
Genetica di popolazioni delle conifere: dalle alpi al mediterraneo
- 24/05/2001 - Dr. Valerio Orlando\_\_\_\_\_ ospite Nicoletta Landsberger  
DIBIT-HSR Hospital - DNA/protein interaction unit  
Controllo epigenetico della trascrizione in Drosophila

- 29/05/2001 - Prof.ssa Giovanna Bianchi Scarrà\_\_\_\_\_ ospite Roberto Taramelli  
Università di Genova  
Ruolo di geni ad alta e bassa penetranza nella suscettibilità al melanoma
- 31/05/2001 - Dott. Tiziana Giovannini\_\_\_\_\_ ospite Marcella Bracale  
Eridania Béghin-Say R&D Center Biotecnologie Molecolari Massa Lombarda (RA)  
Detection degli OGM: applicazioni e problematiche in ambito industriale
- 05/06/2001 - Dott. Massimo Labra\_\_\_\_\_ ospiti Marcella Bracale, Bruno Cerabolini  
Università di Milano - Bicocca  
Struttura genetica delle popolazioni della pianta andina Puya raimondii Harms
- 12/06/2001 - Dr. Antonio Servadio\_\_\_\_\_ ospite Francesco Acquati  
Ospedale San Raffaele  
Modelli transgenici condizionali per lo studio dell'eredoatassia neurodegenerativa SCA1
- 18/06/2001 - Prof. Giuseppe Orombelli, Dott. Mauro Guglielmin, Dott. Nicoletta Cannone  
\_\_\_\_\_ ospite Davide Calamari  
Facoltà di Scienze Ambientali Università Milano Bicocca, Facoltà di Scienze di Varese -  
Università Insubria, Università di Roma 3  
L'Antartide e il Global Change: una sfida ed una opportunità per la ricerca internazionale e  
italiana.
- 21/06/2001 - Dr. Nicola Gallinaro\_\_\_\_\_ ospiti B. Cerabolini, G. Tosi  
Libero professionista "Progetto tipologie forestali"  
Criteri generali di gestione forestale
- 26/06/2001 - Prof. G. Lanfranchi\_\_\_\_\_ ospite Antonella Russo  
Dipartimento di Biologia e Centro Ricerche Interdipartimentale Biotecnologie Innovative  
(CRIBI), Università di Padova  
Espressione genica nel muscolo scheletrico: un approccio genomico
- 10/07/2001 - Dr.ssa Paola Anghilieri  
Technical Specialist life Science Sigma Aldrich  
Analisi dell'espressione genica: fondamenti di DNA hybridization array
- 4/09/2001 - Dr. Stefano Campaner\_\_\_\_\_ ospite Loredano Pollegioni  
NIH Bethesda, USA  
SIL (SCL interrupting locus protein) e' coinvolta in leucemia, embriogenesi e ciclo cellulare
- 
- 20/11/2001 - Dr. Heiko Mueller  
Pharmacia Corporation Italy  
High Throughput Biology in the Post Genomic Era: Using Microarrays and Bayesian  
Inference to Decipher the Transcriptional Program of Cancer Cells

## EVENTI

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

<b>Titolo</b>	<b>Date</b>	<b>Organizzazione</b>
96° Congresso Nazionale della Società Botanica Italiana	Settembre, 26, 2001	DBSF
Il paziente grave	Settembre, 14, 2001	Univ. dell'Insubria e Soc. It. Di Psichiatria
Giornate di Chirurgia vascolare dell'Insubria	Settembre, 7-8, 2001	Facoltà di Medicina, Univ. dell'Insubria
Congresso internazionale sul cancro del Polmone	Giugno, 16, 2001	Facoltà di Medicina, Univ. dell'Insubria
Convegno sui disturbi del comportamento alimentare in età evolutiva	Marzo, 24, 2001	Dip. Scienze Cliniche e Biologiche, Univ. dell'Insubria
Verso una professionalizzazione del Bioeticista	Gennaio, 22, 2001	Dipartimento di Medicina e Sanità pubblica, Univ. dell'Insubria



## ATTIVITA' DIDATTICA

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

Insegnamento	Docente
Anatomia comparata	
Biochimica II	Prof. Loredano Pollegioni
Biochimica applicata (scuola di Specializzazione in Biochimica Clinica)	prof. Mirella Pilone
Biochimica industriale	Prof. Mirella Pilone
Biologia cellulare	Dr. Maurizio Brivio
Biologia molecolare	Prof. Gianfranco Badaracco
Biologia molecolare II	Dr. Nicoletta Lansberger
Biologia generale	prof. Paolo Gerola
Biotechnologie cellulari	Prof. Giovanni Bernardini
Biotechnologie vegetali	Prof. Marcella Bracale
Botanica	Prof. Paolo Gerola
Botanica II (Morfologia e Fisiologia vegetale) (Botanica II)	Prof. Marcella Bracale Dr. Bruno Cerabolini
Chimica biologica	Prof. Mirella Pilone
Chimica biologica (Busto Arsizio)	Dr. Luciano Piubelli
Chimica biologica II (Biochimica strutturale) (Enzimologia)	Prof. Loredano Pollegioni
Chimica generale ed inorganica	Prof. Alessandro Fumagalli
Chimica organica	Prof. Paola Gramatica
Citologia e Istologia	Prof. Giovanni Bernardini
Citogenetica	Prof. Achille Ghidoni
Ecologia	Prof. Davide Calamari
Ecologia delle acque interne	Prof. Giuseppe Crosa
Ecologia microbica	Prof. Paola Barbieri
Ecologia quantitativa	Prof. Giuseppe Crosa
Economia biotecnologica	Dr. Carlo Rossetti
Enzimologia (scuola di Specializzazione in Biochimica Clinica)	prof. Loredano Pollegioni
Farmacologia	Prof. Daniela Parolaro
Fisica I	Prof. Fabrizio Celentano
Fisica II	Dr. Maria Ilde Granero
Fisiologia cellulare	Dr. Stefano Giovannardi
Fisiologia generale	Prof. Antonio Peres
Fisiologia generale II	Dr. Carlo Rossetti
Fisiologia vegetale	prof. Paolo Gerola
Fitogeografia	Dr. Bruno Cerabolini
Fondamenti di valutazione di impatto ambientale (Chimica dell'ambiente) (Ecologia applicata)	Prof. Paola Gramatica Dr. Antonio Di Guardo
Genetica	Prof. Achille Ghidoni

	Prof. Antonella Russo
Genetica II (Genetica II) (Genetica molecolare)	Prof. Antonella Russo Prof. Roberto Taramelli
Genetica molecolare II	Prof. Roberto Taramelli
Genetica umana	Prof. Roberto Taramelli
Laboratorio di Biologia sperimentale I	Coord. Prof. Magda de Eguileor
Laboratorio di Biologia sperimentale II	Coord. Prof. Loredano Pollegioni
Laboratorio di Chimica con elementi di Chimica Fisica	Prof. Stefano Banfi
Laboratorio di tecniche farmacologiche	Prof. Elena Monti
Laboratorio di tecniche fisiologiche	Dr. Elena Bossi
Metodi matematici e statistici	Prof. Alfredo Porati
Metodologie Biochimiche	Prof. Mauro Fasano
Microbiologia generale	Prof. Paola Barbieri
Patologia generale e Immunologia	Dr. Massimo Statuto
Tecniche diagnostiche in Biochimica clinica D.U. Tecnico sanitario di Laboratorio biomedico	Prof. Mirella Pilone
Tossicologia	Dr. Gianpaolo Perletti
Zoocenosi e conservazione della fauna	Prof. Guido Tosi
Zoogeografia	Dr. Adriano Martinoli
Zoologia	Prof. Roberto Valvassori
Zoologia II	Prof. Magda de Eguileor
Zoologia applicata	Prof. Guido Tosi

## LAUREATI

	<b>Cognome e nome</b>	<b>Relatore</b>	<b>Titolo tesi</b>
1	Albertini Veronica	Giovanni Bernardini	Geni differenzialmente espressi in embrioni di <i>Xenopus laevis</i> dopo esposizioni a metalli
2	Altea Stefania	Prati Mariangela	Valutazione mediante test fetax degli effetti embriotossici di tre diverse forme chimiche dell'arsenico
3	Antichi Alessandro	Antonio Di Guardo	Presenza distribuzione e trasporto del odt nel bacino del lago Maggiore
4	Bagnoli Elena	Giovanni Bernardini	Immunofenotipo dell'infiltrato linfoide nei carcinomi gastrici associati ad instabilita' dei microsatelliti studio di 66 casi
5	Bai Antonio	Carlo Rossetti	Studio della propagazione atriale in ritmo sinusale negli atri cardiaci umani
6	Barbati Cristina	Bracale Marcella	Messa a punto di sistemi pcr quantitativa specifici per l'evento di trasformazioni Kliberty-link (t25) in <i>Zea mays</i>
7	Bardelli Silvana	Russo Antonella	Insabilita' cromosomica e riarrangiamenti bcl-2/jm in linfociti di pazienti
8	Battaini Francesca	Crosa Giuseppe	Ampiezza e sovrapposizione di nicchie di specie di zooplanto del lago di Varese
9	Bianchi Paola	Achille Ghidoni	Ricerca di riarrangiamenti subtelomerici mediante ibridazione in situ a fluorescenza (fish) in 55 sospetti per i quali l'analisi clinica e suggestiva di traslocazione criptica
10	Binda Mara	Roberto Taramelli	Produzione e analisi degli effetti biologici di un ribozima diretto contro la proteina chinasi cx in una linea di carcinoma prostatico umano androgeno-indipendente
11	Bracchitta Francesca	Antonio Di Guardo	Dinamiche di bioaccumulo del ddt nello svasso maggiore (podiceps cristatus)
12	Brivio Sara	Magda de Eguileor	Fattori prognostici negli oligodendrogliomi studio morfologico ed immunohistochimico
13	Budassi Barbara	Davide Calamari	Applicazione dell'indice di funzionalita' (i.f.f.) sul fiume Ticino
14	Caldinelli Laura	Mirella Piloni	Conversione di un enzima dimerico in monomero. L'importanza del loop Beta 12-Beta13 nella D-amminioacido ossidasi da <i>Rhodotorula gracilis</i>
15	Campi Valentina	Carlo Rossetti	Aneuploidie ed espressione di pericentrina e di $\gamma$ -tubulina nei tumori maligni
16	Canavesi Alessandra	Magda de Eguileor	Memoria immunitaria negli irudineei analisi delle risposte a trapianti (2° set)
17	Casati Alessia	Loredano Pollegioni	Proprietà strutturali delle proteine di avena e grano saraceno e loro modificazione nei processi dell'industria alimentare
18	Castiglioni Sonia	Gianfranco Badaracco	Analisi di possibili meccanismi molecolari implicati nella repressione trascrizionale metilazione dipendente
19	Cazzaro mersia	Stefano Banfi	Demolizione ossidativa del plasmide blue script catalizzata da metallo porfirine e doatori di ossigeno: studio preliminare per la terapia fotodinamica
20	Chirichella Roberta	Guido Tosi	Comparazione delle nicchie ecologiche di alcune specie di chiropter del parco Adamello Brenta
21	Colombo Federica	Magda de Eguileor	Definizione dell'aspetto cromosomico da nuclei estratti dalla paraffina di linfomi gastrici a grandi e piccole cellule
22	Colombo Ilaria	Antonio Di Guardo	Concentrazione in aria e bioaccumulo di ddt in conifere
23	Corinella Fernanda Arcellaschi	Paolo Gerola	Studio comparativo di caratteri fogliari anatomici e morfologici in Poacere e Cyperacere
24	Cucinotta Silvia	Bracale Marcella	Produzione e analisi di piante bdi arabidopsis thaliana sovraesprimenti il gene OSnyb4 coinvolto nell'acclimatazione a freddo
25	de Simone Alessandra	Elena Monti	Ruolo del sistema p53/p21 waf 1/cip1 nella risposta di cellule tumorali al trattamento con doxorubicina
26	Fezzardi Samantha	Mariangela Prati	Valutazione mediante test fetax degli effetti embriotossici del platino in due diversi stati di ossidazione
27	Haidegger Barbara	Russo Antonella	Caratterizzazione citogenetica del breakpoint sul

			cromosoma 21 nella traslocazione t (10;21) q (23,1; q 11,2) osservata in un soggetto affetto da una forma rara di cardiopatia congenita
28	Infantino Simona	Gianfranco Badaracco/Nicoletta Landsberger	Caratterizzazione biochimica e molecolare di nasp:una proteina ciclo-regolata probabilmente coinvolta nel differenziamento cellulare
29	Ippoliti Alessandro	Calamari Davide	Reintroduzione dell'Alborella ( <i>albus albus alborella</i> ) nel lago di Varese: aspetti della biologia riproduttiva e valutazione dell' efficacia di diverse tecniche di riproduzione artificiale
30	Jessica Ponti	Giovanni Bernardini	Effetti tossicologici e potenziale cancerogeno di metalli in tracce:studio in vitro mediante colture cellulari
31	Lorenzi Simona	Loredano Pollegioni	Ingegneria proteica per l'acquisizione di nuovefunzioni: un mutante della D-aminoacido ossidasi attivo sui D-aminoacidi acidi
32	Luoni Chiara	Giovanni Bernardini	
33	Macchi Elena	Antonio Peres	Selettività ionica delle correnti accoppiate e non accoppiate attraverso il cotrasportatore di aminoacidi KAAT 1
34	Maineri Alessia	Maria Ilde Granero	Studio sull'evoluzione dei geni sovrapposti :analisi statistico-informazionale
35	Mangano Elena	Antonio Peres	Utilizzo del lievito come modello elettrofisiologico e per lo studio della proliferazione
36	Marazzato Michele	Bruno Cerabolini	Parametri fogliari di alberi e arbusti in relazione all'habitat alla stagione e alle strategie delle piante
37	Marcone Letizia Giorgia	Loredano Pollegioni	Studio della specificita' di substrato del nuovo flavoenzima glicina ossidasi mediante mutagenesi sito specifico
38	Mare Lydia	Badaracco Gianfranco	Instabilita' dei microsattelliti nei carcinomi endometriali studio di 120 casi
39	Maspero Andrea	Crosa Giuseppe	Caratterizzazione limnologica di tre bacini subalpini: Varese, Monate e Comabbio
40	Mattioli Sabrina	Guido Tosi	Dinamica delle Colonie Riproduttive di orecchioni ( <i>Plecotus auritus</i> ) in relazione ad alcuni parametri macro e micro ambientali
41	Moro Massimo	Badaracco Gianfranco	Carratterizzazione funzionale del complesso proteico fra la cpg binding protein 2 ( <i>mecp2</i> ) e la proteina p20
42	Munaro Barbara	Taramelli Roberto	Isolamento e caratterizzazione dell'ortologo murino del gene umano <i>rnase6pl</i>
43	Musichini Luca	Elena Monti	Uso di un modello cellulare umano per lo studio del coinvolgimento delle proteine chinosi nella patologia diabetica
44	Nodari Mose	Guido Tosi	Uso di classificatori convenzionali e non convenzionali per l'iidentificazione bioacustica di alcune specie di chiroterri
45	Paccioletti Sarah	Stefano Giovannardi	La mutazione k448e nel 5° loop extracellulare del trasposrtatore del gaba <i>rgat1</i> conferisce
46	Papa Ester	Gramatica Paola	Studio del destino ambientale di inquinamenti organici persistenti: approccio molecolare QSAR
47	Patrizia Felli	Stefano Giovannardi	Caratterizzazione elettrofisiologica del trasportatore per Gaba e Betaina <i>bgt-1</i> espresso oociti di <i>xenopus Leavis</i>
48	Pedroli Ambra	Russo Antonella	Caratterizzazione fenotipica e genotipica della popolazione di <i>Vibrio Vulnificus</i>
49	Pellizzer Cristian	Taramelli Roberto	Identificazione di sostanze proteratogene in vitro usando cellule embrionali staminali
50	Pentassuglia Laura	Taramelli Roberto	Caratterizzazione molecolare di un ricombinante
51	Placidi Claudia	Gianfranco Badaracco	Correlazioni fra instabilita' dei microsattelliti,espressione immunoistochimica di p53 e sopravvivenza in una casistica di coroinomi gastrici ed avanzati
52	Polce Chiara	Guido Tosi	Caratterizzazione distributiva e ecologica della popolazione di bufalo cafro ( <i>Syncerus caffer</i> ) del parco nazionale del Tarangire (Tanzania)
53	Porrini Silvia	Guido Tosi	Gli ambienti aquatici del parco nazionale di Arusha,

			Tanzania: aspetti lhnologici
55	Pozzi Davide	Loredano Pollegini	Tentativi di espressione dell'enzima Rnase 6pl umano
56	Pozzi Gianluca	Rossetti Carlo	Catabolismo di cianotossine alcaloidi: ruolo della vita di degradazione delle purine
57	Raimondi Andrea	Magda de Eguileor	Formazione di giunzioni aderenti in due linee cellulari di astrocitoma-glioblastoma
58	Rigati Loredana	Elena Monti	Effetto sinergico del nitrossido piperidinico tempol e della temozolamide su linee cellulari di glioma maligno umano
59	Rocchi Carmen	Stefano Giovannardi	Effetti della temperatura sulle correnti pre steady state e sulle correnti associate al trasporto di GABA nel cotrasportatore r GAT-1
60	Rosini Elena	Loredano Pollegioni	Un nuovo approccio di ingegneria proteica: directed evolution di una Flovoproteina ossidasi mediante error-prone PCR
61	Saporiti Elena	Antonio Di Guardo	Bioconcentrazione di ppt. In latifoglie e ruolo nella catena tofica
62	Springer Karin	Bernardini Giovanni	Uso di metodi alternativi in vitro
63	Tabano Silvia	Ghidoni Achille	microriarrangimenti sbilanciati e riarrangimenti strutturali bilanciati associati a fenotipi anomali :una risorsa per lo studio della correlazione genotipo-fenotipo nell'uomo
64	Tenti Marta	Marcella Bracale Candida Vannini	
65	Valli Roberto	Russo Antonella	Caratterizzazione citogenetica del break point sul cromosoma 10 nella traslocazione (10,21) (q23;q11,2) osservata in un soggetto affetto da una rara forma di cardiopatia congenita
66	Volta Pietro	Davide Calamari	Il regime alimentare delle diverse forme di coregone (coregonus spp.) del lago Maggiore alla luce della recentt evoluzione troofica ambientale
67	Zaninetti Massimiliano	Guido Tosi	Dinamica di popolazione e uso dell' habitat dello scoiattolo comune ( <i>Sciurus vulgaris</i> ) in ambiente forestale alpino

## **DOTTORATI DI RICERCA**

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

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

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

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

## Dottorato di Ricerca in “Biologia evolutiva e dello sviluppo”

Coordinatore: Prof. Roberto Taramelli

**Durata del Dottorato:** 3 anni

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

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

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

### Collegio Docenti:

Prof. Gianfranco Badaracco  
Prof. Giovanni Bernardini  
Prof. Marcella Bracale  
Dr. Maurizio Brivio  
Prof. Fabrizio Celentano  
Prof. Magda deEguileor  
Prof. Paolo Gerola  
Dr. Stefano Giovannardi  
Prof. Antonio Peres  
Prof. Mirella Pilone  
Prof. Loredano Pollegioni  
Prof. Antonella Russo

### Studenti XVI ciclo:

- Dr. Marco Bianchi (tutore Prof. Roberto Taramelli)
- Dr. Francesca Binda\* (tutore Prof. Antonio Peres)
- Dr. Raffaella Cinquetti (tutore Prof. Antonella Russo)
- Dr. Simona Segalla (tutore Prof. Gianfranco Badaracco)

### Studenti XV ciclo:

- Dr. Gianluca Tettamanti\* (tutore Prof. de Eguileor)
- Dr. Claudio Monetti\* (tutore Prof. Bernardini)
- Dr. Elena Ferioli (tutore Prof. Gerola)
- Dr. Silvia Sacchi (tutore Prof. Pilone)

### Studenti XIV ciclo:

- Dr. Stella Carro\* (tutore Prof. Badaracco)
- Dr. Viviana Job\* (tutore Prof. Pilone)
- Dr. Chiara Tettamanti (tutore Prof. Gerola)

### Studenti XIII ciclo:

- Dr. Davide Vigetti\* (tutore Prof. Bernardini)

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

**Coordinatore:** Prof. Davide Calamari

**Durata del Dottorato:** 3 anni

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

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

### **Collegio Docenti:**

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

### **Studenti XVI ciclo:**

- Alessandra Gagliardi \*(tutore Prof. Tosi)
- Serena Zaccara\* (tutore Prof. Calamari)
- Barbara Badiello (tutore Prof. Tosi)
- Stefano Bosisio (tutore Dr. Prati)

### **Studenti XV ciclo:**

- Barbara Raimondi\* (tutore Dr. Cerabolini)
- Roberta Ceriani (tutore Dr. Cerabolini)



## Elenco delle pubblicazioni 2001

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

1. Acquati F, Nucci C, Bianchi MG, Gorletta T, Taramelli R. Molecular cloning, tissue distribution, and chromosomal localization of the human homolog of the R2/Th/Stylar ribonuclease gene family. *Methods in Molecular Biology*. 2001;160:87-101.
2. Acquati F, Morelli C, Cinquetti R, Bianchi MG, Porrini D, Varesco L, Gismondi V, Rocchetti R, Talevi S, Possati L, Magnanini C, Tibiletti MG, Bernasconi B, Daidone MG, Shridhar V, Smith DI, Negrini M, Barbanti-Brodano G, Taramelli R. Cloning and characterization of a senescence inducing and class II tumor suppressor gene in ovarian carcinoma at chromosome region 6q27. *Oncogene* 2001 Feb 22;20(8):980-8.
3. ARENGHI F.L.G., BARBIERI P., BERTONI G., DE LORENZO V. 2001. New insights into the activation of *o*-xylene biodegradation in *Pseudomonas stutzeri* OX1 by pathway substrates. *EMBO Reports* 2, 409-414.
4. ARENGHI F.L.G., BERLANDA D., GALLI E., SELLO G., BARBIERI P. 2001. Organization and regulation of *meta* cleavage pathway genes for toluene and *o*-xylene derivative degradation in *Pseudomonas stutzeri* OX1. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 3304-3308.
5. Barajon I., C. Rumio, E. Donetti, A. Imberti, M. F. Brivio, P. Castano. Pattern of expression of c-Myc, MAX and Bin 1 in human anagen hair follicles. *British J. of Dermatol.*, **144** (6), 1193-1203 2001.
6. BARBIERI P., ARENGHI F. L.G., BERTONI G., BOLOGNESE F., GALLI E. 2001. Evolution of catabolic pathways and metabolic versatility in *Pseudomonas stutzeri* OX1. *Antonie van Leeuwenhoek.* 79:135-140.
7. Baroni S., Mattu M., Vannini A., Cipollone R., Aime S., Ascenzi P., Fasano M. Effect of ibuprofen and warfarin on the allosteric properties of haem-human serum albumin - A spectroscopic study. *EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY* 268 (23): 6214-6220 (2001).
8. Benincori,T., Mazzoli,S., Sannicolò,F., Consonni,V. Gramatica,P., Todeschini,R., Zotti,G. And G. Schiavon *Steric Control of Conductivity in Highly-conjugated Polythiophenes* *Chemistry of Materials* 13 (5), (2001) 1665-1673.
9. Bortoletto E, Mognato M, Ferraro P, Canova S, Cherubini R, Celotti L, Russo A. Chromosome instability induced in the cell progeny of human T lymphocytes irradiated in G(0) with gamma-rays. *Mutagenesis*. 2001 Nov;16(6):529-37.
10. Braida Daniela, Pozzi Morena, Parolaro Daniela and Mariaelvina Sala "Intracerebral self-administration of the cannabinoid receptor agonist CP55,940 in the rat:interaction with the opioid system" *European Journal of Pharmacology* 413, 227-234, 2001.
11. Carbonera D., Bordignon E., Giacometti G., Agostini G., Vianelli A., Vannini C. 2001 Fluorescence and Absorption Magnetic Resonance of Chlorosomes from *Green Bacteria Chlorobium tepidum* and *Chloroflexus aurantiacus* *J. Phys. Chem. B* 105,246-255
12. Casiraghi M., Martinoli A., Bosco T., Preatoni D.G, Andrietti F. Nest provisioning and stinging pattern in *Ammophila sabulosa* (Hymenoptera: Sphecidae): influence of prey size. *Italian Journal of Zoology*, 68(4): 299-303.

13. Casiraghi M., Andrietti F., Bonasoro F., Martinoli A. A note on the host detection by *Buathra tarsoleuca* (Schrank) (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasite of *Ammophila sabulosa* (L.) And *Podalonia affinis* (Kirby) (Hymenoptera: Sphecidae). *Journal of Insect Behavior*, 14(3):299-312.
14. Cornelissen J.H.C, Aerts R., Cerabolini B., Werger M.J.A., Ven Der Heijden M.G.A. Carbon cycling traits of plant species are linked with mycorrhizal strategy. *Oecologia*, 129:611-619
15. Crosa G., Yameogo L., Calamari D., Diop M.E., Nabe' K., Konde' F. (2001) Analysis of the effects of rotational larviciding on aquatic fauna of two Guinean rivers:the case of permethrin. *Chemosphere*. 44,501-510.
16. Crosa G., Yameogo L., Calamari D., Konde' F, Nabe'. (2001) Effects of larvicide treatment on invertebrate communities of Guinean rivers,West Africa. *Hydrobiologia*. 458, 151-158.
17. de Eguileor M., Grimaldi A., Tettamanti G., Congiu T., Protasoni M., Reguzzoni M., Valvassori R. And Lanzavecchia G., 2001. Ultrastructure and functional versatility of hyrudinean botryoidal tissue. *Tissue & Cell*, 33: 332-341
18. Fantinato, S., Pollegioni, L. And M.S. Pilone. Engineering, expression and purification of a His-tagged chimeric D-amino acid oxidase from *Rhodotorula gracilis* (2001) *Enzyme Microbial Technology* 29, 407-412
19. Fasano M., Baroni S., Vannini A., Ascenzi P., Aime S. Relaxometric characterization of human hemalbumin. *Journal Of Biological Inorganic Chemistry* 6 (5-6): 650-658 (2001)
20. Faust,M., Altenburger,R., Backaus,T., Blanck,H., Boedeker,W., Gramatica,P., Hamer,V., Scholze,M., Vighi,M. And L:H:Grimme *Predicting the joint algal toxicity of multi-component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants*. *Aquatic Toxicology*, 56 (2001) 13-32.
21. Finizio A., Di Guardo A. (2001) Estimating temperature dependence of solubility and octanol-water partition coefficient for organic compounds using RP-HPLC. *Chemosphere* 45, 1063-1070.
22. Forlani,G., Bossi,E., Ghirardelli,R., Giovannardi,S., Binda,F., Bonadiman,L., Ielmini,L. And A. Peres. *K448E mutation in the external loop 5 of rgat1 transporter induces ph sensitivity and altered substrates interactions*. *J.Physiology*, 536 (2001) 479-494.
23. Forlani,G., Bossi,E., Perego,C., Giovannardi,S., and A. Peres. *Three kinds of currents in the canine Betaine/GABA transporter BGT-1 expressed in Xenopus laevis oocytes* *Biochim.Biophys.Acta* 1538 (2001) 172-180.
24. Fumagalli,A., Malatesta,M.C., Vallario,M., Ciani,C., Moret,M., Sironi,A. 2001. Mixed ruthenium-iridium carbonyl cluster complexes. Synthesis of the anions [Ru3Ir2(CO)14]2- and [Ru3Ir2(CO)14H]- and crystal structures of their [tetraphenylphosphonium]+ salts. *J.Cluster Sci.* 12:187
25. Galli P., Crosa G., Mariniello L., Ortis M. And D'Amelio D. 2001. Water quality as a determinant of the composition of fish parasite communities. *Hydrobiologia*, 452: 173-179.
26. Galli P., Crosa G., Bertoglio S., Mariniello L., Ortis M. And D'Amelio S. 2001. Populations of *Lamproglena pulchella* von Nordmann, 1832 (Copepoda: Eudactylinidae) in cyprinid fish in rivers with different pollution levels. *Journal of Applied Ichthyology*, 17: 93-96.

27. Gariboldi M, Ravizza R, Marras E, Perletti G, De Simone A, Piccinini F, Monti E. (2001) *Resistance of human leukemic cell lines to 1- $\beta$ -D-arabinofuranosylcytosine: characterization of an experimental model.* International Journal of Oncology, 18:1245-1249.
28. Gramatica,P. *QSAR approach to the evaluation of chemicals* Chimica Oggi-Fine Chemicals Directory, (2001), 18-24.
29. Gramatica,P., Vighi,M., Consolaro,F., Todeschini,R., Finizio,A. And M.Faust. *QSAR approach for the selection of congeneric compounds with a similar toxicological mode of action.* Chemosphere, 42, (2001), 873-883.
30. Gramatica,P., Consolaro,F. And S.Pozzi. *QSAR approach to POPs screening for atmospheric persistence.* Chemosphere, 43, (2001), 655-664.
31. Harris, M., Ghisla, S. And L. Pollegioni. Ph and kinetic effects in D-amino acid oxidase catalysis. Evidence for a concerted mechanism In substrate dehydrogenation via hydride transfer (2001) European Journal of Biochemistry 268, 1-18.
32. Labra M., Savini C., Bracale M., Pilucchi N., Colombo L., Sala F. 2001 Genomic changes in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) Plants produced by infecting calli with *Agrobacterium tumefaciens* Plant Cell Rep. 20: 325-330.
33. Lindi C., Montorfano G., Rossi F., Gornati R., Rizzo A.M. Effect of ethanol exposure on *Xenopus* embryo lipid composition Alcohol and Alcoholism 36: 388-392, 2001.
34. Martinoli A., D.G. Preatoni, B. Chiarenzi, Tosi G. Diet of stoats (*Mustela erminea*) in an Alpine habitat: the importance of fruit consumption in summer. *Acta Oecologica*, 22(1): 45-53.
35. Massi P., Vaccani A., Romorini S. and D. Parolaro "Comparative characterization in the rat of the interaction between cannabinoids and opiates for their immunosuppressive and analgesic effects" Journal of Neuroimmunology 117, 116-124, 2001.
36. Mattu M., Vannini A., Coletta M., Fasano M., P. Ascenzi. Effect of bezafibrate and clofibrate on the heme-iron geometry of ferrous nitrosylated heme-human serum albumin: an EPR study. JOURNAL OF INORGANIC BIOCHEMISTRY 84 (3-4): 293-296 (2001).
37. Mognato M, Ferraro P, Canova S, Sordi G, Russo A, Cherubini R, Celotti L. Analysis of mutational effects at the HPRT locus in human G(0) phase lymphocytes irradiated in vitro with gamma rays. *Mutation Research*. 2001 Mar 1;474(1-2):147-58.
38. Monti E, Supino R, Colleoni M, Costa B, Ravizza R, Gariboldi M. 2001 *The piperidine nitroxide TEMPOL impairs mitochondrial function and induces apoptosis in HL60 cells.* J Cell Biochem, 82:271-276
39. Motteran L., Pilone M.S., Molla G., Ghisla S. and L. Pollegioni. Cholesterol oxidase from *Brevibacterium sterolicum*: covalent flavinylation and redox properties relationships (2001) Journal of Biological Chemistry 276, 18024-18030.
40. Perletti G, Marras E, Concari P, Cortellezzi L, de Eguileor M and Piccinini F (2001) *Involvement of PI3K in pkce-mediated oncogenic signal in rat colonic epithelial cells.* International Journal of Oncology, 19:395-399.

41. Pollegioni L., Harris C.M., Molla G., Pilone M.S. and S. Ghisla Identification and role of ionising functional groups at the active center of *Rhodotorula gracilis* D-amino acid oxidase (2001) FEBS Letters 507, 323-326.
42. Ponti W., Rubino T., Bardotti M., Poli G. and D. Parolaro. "Cannabinoids inhibit nitric oxide production in bone marrow derived feline phages" *Veterinary, Immunology and Immunopharmacology* 82, 203-214, 2001.
43. Rizzo A.M., Rossi F., Guerra A., Berra B., Gornati R., Bernardini G., S. Sonnino. Exogenous sphingosine is taken up and metabolised by *Xenopus laevis* embryos Grown in Petri dishes. *Bioscience Report* 2001 (in press).
44. Rossetti C., Pomati F., Calamari D. (2001) Microorganisms' activity and energy fluxes in Lake Varese (Italy) a field method. *Water Research*. 35,1318-1324.
45. Rubino T., Viganò D., Massi P. and D. Parolaro "The psychoactive ingredient of marijuana induces behavioral sensitization" *European Journal of Neuroscience* 14, 1-4, 2001.
46. RYOO D., SHIM H., ARENGHI F.L.G., BARBIERI P., WOOD T.K. 2001. Tetrachloroethylene, Trichloroethylene, and Chlorinated Phenols Induce Toluene-*o*-Xylene Monooxygenase Activity in *Pseudomonas stutzeri* OX1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56:545-549.
47. SCONAMIGLIO R., NOTOMISTA E., BARBIERI P., PUCCI P., DAL PIAZ F., TRAMONTANO A., DI DONATO A. 2001. Conformational analysis of putative regulatory subunit D of the toluene-*o*-xylene monooxygenase complex from *Pseudomonas stutzeri* OX1. *Protein Science* 10, 482-490.
48. SHIM H., RYOO D., BARBIERI P., WOOD T.K. 2001. Aerobic Degradation of Mixtures of Tetrachloroethylene, Trichloroethylene, Dichloroethylenes, and Vinyl Chloride by Toluene-*o*-Xylene Monooxygenase of *Pseudomonas stutzeri* OX1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56:265-269. (DOI: 10.1007/s002530100650)
49. Tibiletti MG, Bernasconi B, Furlan D, Bressan P, Cerutti R, Facco C, Franchi M, Riva C, Cinquetti R, Capella C, Taramelli R. Chromosome 6 abnormalities in ovarian surface epithelial tumors of borderline malignancy suggest a genetic continuum in the progression model of ovarian neoplasms. *Clinical Cancer Research*. 2001 Nov;7(11):3404-9.
50. Tisi, R., Coccetti, P., Banfi, S., Martegani, E.. 3-nitrocoumarin is an efficient inhibitor of budding yeast phospholipase-C. *Cell Biochem. Funct.* (2001), 19(4), 229-235.
51. Tonini R., Franceschetti S., Parolaro D., Sala M., Mancinelli E., Tininini S., Brusetti R., Sancini G., Brambilla R., Martegani E., Sturani E. and R. Zippel "Involvement of CDC25Mm/Ras-GRF1 dependent signaling in the control of neuronal excitability" *Molecular and Cellular Neuroscience* 18, 691-701, 2001.
52. Vigetti D., Monetti C., and Bernardini G. Molecular cloning of mouse allantoicase cDNA. *Biochimica Biophysica Acta* 1519: 117-121, 2001.
53. Vighi, M., Gramatica, P., Consolaro, F. and R. Todeschini *QSAR and chemometric approaches for setting water quality objectives for dangerous chemicals*. *Ecotox and Environ Safety*, 49, (2001)206-220.
54. Vismara R., Azzellino A., Bosi R., Crosa G. And Renoldi M. 2001. Habitat Suitability Curves for Brown trout (*Salmo trutta fario* L.) In the River Adda, Northern Italy. *Regulated River Research and Management*, 17(1): 37-50.

55. Wauters L. A., Gurnell J., Martinoli A., Tosi G. Does interspecific competition with introduced grey squirrels affect foraging and food choice of Eurasian red squirrels? *Animal Behaviour*, 61(6): 1079-1091.
56. Wauters L.C., Gurnell J., Preatoni D., Tosi G. Effects of spatial variation in food availability on spacing behaviour and demography of Eurasian red squirrel. *Ecography*, 24:525-538.
57. Yameogo L., Traore' K., Back C., Hougard Jm., Calamari D. (2001) Risk assessment of etofenprox (vectron) on non-target aquatic fauna compared with other pesticides used as Simulium larvicide in a tropical environment. *Chemosphere*.42,965-974.
58. Yameogo L., Crosa G., Samman J., Nabe' K., Konde' F., Tholley D., Calamari D. (2001) Long term assessment of insecticides treatments in West Africa: aquatic entomofauna. *Chemosphere*. 44 ,1759-1773.

## Articoli su altre riviste

1. Caccianiga M., Andreis C., Cerabolini B. Vegetation and environmental factors during primary succession on glacier forelands: some outlines from the Italian Alps. *Plant Biosystems*, 135(3):295-310.
2. Crosa, G., Yaméogo, L., Calamari, D., Nabé, K., and Kondé F. 2001. Quantitative Ecological
3. Assessment of Larvicides Treatments in Guinean Rivers. UNESCO *Tech. Doc. in Hdrol.* UNESCO, Paris, 46: 64.
4. de Eguileor M., Grimaldi A., Tettamanti G., Valvassori R., Leonardi M.G., Giordana B., Tremblay E., Digilio M.C. and Pennacchio F., 2001. Larval anatomy and structure of absorbing epithelia in the aphid parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera, Braconidae). *Arthropod Structure & Development*, 30: 27-37
5. de Eguileor M., Grimaldi A., Tettamanti G., Ferrarese R., Congiu T., Protasoni M., Perletti G., Valvassori R. and Lanzavecchia G. *Hirudo medicinalis: a new model system for testing activators and inhibitors of angiogenesis. Angiogenesis, in press.*
6. Fasano, M. La rilassometria. LA CHIMICA E L'INDUSTRIA. 83 (8): 88-89 (2001).
7. Fasano, M. Applicazioni biologiche della rilassometria. LA CHIMICA E L'INDUSTRIA. 83 (10): 92 (2001).
8. Galli P., Cucci M.L. e Crosa G. 2001. Monogenean parasites from tropical fish collected in Aquarium of Genova *Bollettino Società Italiana di Patologia Ittica*, 13: 3-10.
9. Galli P., Gentili A., Santagostino M. e Crosa G. 2001. Contributo alla conoscenza dell'elmintofauna di *Bufo bufo* (L., 1758) provenienti dai bacini di Endine e del Segrino. *Pianura*, 13: 85-88.

## Libri e capitoli di libri

1. BALESTRIERI A., MARTINOLI A., FORNASARI L. Nottola di Leisler, *Nyctalus leisleri*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 113-114. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
2. BANI L., FORNASARI L., BALESTRIERI A., PREATONI D. Pipistrello di Savi, *Hypsugo savii*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 100-103. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
3. CALAMARI D., JONES K., KANNAN K., LECLOUX A., OLLSON M., THURMAN M., ZANNETTI P. (2001) Monitoring as indicator of persistence and long-range transport. 205-244. In Klecka G.M. et al. Eds. Evaluation of persistence and long-range transport of organic chemicals in the environment. SETAC PRESS Pensacola FL.
4. DI GUARDO A., CALAMARI D., BENFENATI E., HALLING-SORENSEN B. ZUCCATO E., FANELLI R. (2001) Pharmaceuticals as environmental contaminants: modelling distribution and fate. 91-102. In Kummerer K. Ed. Pharmaceuticals in the environment. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
5. MARTINOLI A., PREATONI D., BALESTRIERI A. Pipistrello di Nathusius, *Pipistrellus nathusii*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 95-96. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
6. MARTINOLI A. Faina, *Martes foina*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 240-242. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
7. MARTINOLI A. Martora, *Martes martes*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 236-238. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
8. MARTINOLI A. Stesura dei testi riguardanti i Chiroterti (20 specie), e coordinamento editoriale per la parte sui Mammiferi, del CD-ROM, La fauna dei Parchi Lombardi: tutela e gestione. Regione Lombardia.
9. MARTINOLI A., CANTINI M., C. VIOLANI. Gli studi teriologici da Spallanzani ai giorni nostri. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 15-18. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
10. MARTINOLI A., FORNASARI L., REMONTI L. Serotino comune, *Eptesicus serotinus*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 104-105. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
11. PEDROTTI L. & TOSI G. Camoscio, *Rupicapra rupicapra*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 279-288. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
12. PEDROTTI L. & TOSI G. Muflone, *Ovis orientalis*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 262-267. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
13. PEDROTTI L. & TOSI G. Stambecco, *Capra ibex*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 269-277. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
14. Pilone M.S., L. Pollegioni Raffaello Cortina Editore, Milano, Italia Metodologia Biochimica K. Wilson and J. Walker Curatori edizione italiana:
15. Porati A. Granero M.I. I Principi della Fisica" Volume I°: Tomo 1 pagg 1-304 Tomo 2 pagg 1-112 Tomo 3 pagg. 1-110 Editore Einaudi scuola- Milano -2001
16. PREATONI D. Topolino delle case, *Mus domesticus*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 210-211. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
17. PREATONI D., DE CARLI E., FORNASARI L. Vespertilio smarginato, *Myotis emarginatus*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 75-76. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
18. PREATONI D. & PREZIOSI M. Ratto nero, *Rattus rattus*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 195-196. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.

19. PREZIOSI M. & PREATONI D. Surmolotto, *Rattus norvegicus*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 192-194. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
20. ZAVA B., MARTINOLI A., FORNASARI L., BALESTRIERI A. Nottola, *Nyctalus noctula* In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 111-112. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
21. ZILIO A., PREATONI D., MARTINOLI A. Pipistrello albolimbato, *Pipistrellus kuhlii*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 97-99. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
22. ZILIO A., PREATONI D., MARTINOLI A. Pipistrello nano, *Pipistrellus pipistrellus*. In: Prigioni C., Cantini M. & Zilio A. (eds) 2001. *Atlante dei Mammiferi della Lombardia*, 93-94. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia.
23. ZUCCATO E., BAGNATI R., FIORETTI F., NATANGELO M., CALAMARI D., FANELLI R. (2001) Environmental loads and detection of pharmaceuticals in Italy. 19-26. In Kummerer K. Ed. *Pharmaceuticals in the environment*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.



## Comunicazioni a Congressi

1. Acquati F., Bianchi M.G., Cinquetti R., Campomenosi P., Russo A., Munaro B., Negri D., Varesco L., Gismondi V., Possati L., Tibiletti M.G., Daidone M.G., Smith D., Morelli C., Barbandi-Brodano G., Taramelli R. (2001). Caratterizzazione strutturale e funzionale di RNASE6PL, un putativo gene oncosoppressore localizzato sul cromosoma 6 umano. 3° Convegno FISV - 21-25 settembre 2001 - Riva del Garda. p 99.
2. ARENGHI F.L.G., SOLERA D., WOELK T., GALLI E., BARBIERI P. 2001. Growth-phase-dependent effector-independent activation of the *Pseudomonas stutzeri* OX1 toluene-o-xylene monooxygenase promoter mediated by the transcriptional activator TouR. Abs. Int. ASM Conf. Biodegradation, bioremediation and biocatalysis, San Juan (Puerto Rico). # 121 p. 65.
3. ARENGHI F.L.G., WOELK T., SOLERA D., GALLI E., BARBIERI P. 2001. Gratuitous activation of the PToMO promoter of *Pseudomonas stutzeri* OX1. Abs. *Pseudomonas* meeting, Brussels (Belgium). p. 25.
4. Backaus T., R.Altenburger, A.Arrhenius, H.Blanck, F.Consolaro, M.Faust, A.Finizio, . Gramatica, M.Grothe, M.Junghans, W.Meyer, M.Pavan, M.Scholze, R.Todeschini, M.Vighi, S.Villa, H. Walter and L.H.Grimme Bridging the Gap between Science and Regulation of Chemical Mixtures: the "BEAM" EU Research Project 11<sup>th</sup> Annual Meeting of SETAC Europe, Madrid (Spain), 6-10 May 2001.
5. BALDI F., PEPI M., BARBIERI P. 2001. Biosensors and pollutants monitoring. TEBIO Proc. 1<sup>st</sup> Int. Congress on Biotechnology. Section: Environment. pp. 12-19.
6. Barbieri P., Arenghi F.L.G., Solera D., Bertoni G., Macchi R., Galli E. 2001. Optimizing *Pseudomonas* strains for the biodegradation of environmental pollutants: methyl- and chloro-aromatics. Convegno Progetto Finalizzato Biotecnologie, Genova. p. 128.
7. Bardini M., Parisi M., Labra M., Vannini C., Bracale M., Sala F. (2001) Variazione somaclonale in piante transgeniche di *Arabidopsis thaliana* mediante floral dip. Gruppo di lavoro Biotecnologie, Differenziamento e Organismi Geneticamente Modificati, Genova.
8. Baroni Simona, Marco Mattu, Alessandro Vannini, Rita Cipollone, Silvio Aime, Paolo Ascenzi, Mauro Fasano. Relaxometric NMR characterization of human hemalbumin: Effect of drug binding. XXXI Congresso Nazionale Risonanze Magnetiche. Parma, 19-22 Settembre 2001.
9. Baroni Simona, Marco Mattu, Alessandro Vannini, Rita Cipollone, Silvio Aime, Paolo Ascenzi, Mauro Fasano. NMR Relaxometric characterization and drug binding properties of human hemalbumin. 3<sup>rd</sup> International workshop on Structural characterization of proteins by NMR, x-ray diffraction and computational methods. San Vito di Cadore, 27-30 Settembre 2001.
10. Binda F., Bossi E., Giovannardi S., Forlani G. and Peres A. Na<sup>+</sup> AND Cl<sup>-</sup> EFFECTS ON THE NEURONAL GABA COTRANSPORTER rGAT1. Congresso nazionale SINS, Torino, settembre 2001.
11. Cerabolini B., Ceriani R.M., De Andreis R., Lo Pinto M., Tosca A., Villa M. Il Centro Regionale per la flora Autoctona della Lombardia. Atti 96° Congresso della Società Botanica Italiana, Varese, 26-28 settembre 2001.
12. Ceriani R.M., Cerabolini B., De Andreis R. Il Centro Per La Flora Autoctona Della Regione Lombardia. Seminario tecnico internazionale "Flora autoctona - Materiale vegetale autoctono per recuperi ambientali ed ingegneria naturalistica" Vertemate con Minoprio, 27 novembre 2001.
13. Ceriani R.M., De Andreis R., Cerabolini B., Tosca A. Il Centro Per La Flora Autoctona della Regione Lombardia. Atti del II° Meeting Internazionale del Volontariato Ecologico (Campo dei Fiori, Plesio, Vertemate con Minoprio, Morbegno), 26-29 settembre 2001. Manuali delle Guardie Ecologiche, Regione Lombardia, Servizio Volontario di Vigilanza Ecologica, 2002. Cattaneo Paolo Grafiche, Oggiono.
14. Codipietro P., Galanti V., Rossi R., Tosi G. Participatory Land Use And Wildlife Mapping: An experience in Arusha Region, Tanzania: Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa) 12 - 17 agosto 2001(Abstract n.65).

15. de Eguileor M. The CD-like markers in leeches: relevance to cellular and humoral immunity. NATO Conference. Advanced Research Workshop. Prague July 4-7, 2001:
16. de Eguileor. Leech immunity Reunion d'Immunologie des Invertebrés. Lille 11-14 Septembre 2001
17. Di Guardo A., Bracchitta F., Gagliardi A., Martinoli A., Tosi G., Calamari D. Dynamics of bioaccumulation of DDTs in great crested grebe (*Podiceps cristatus*) Poster presented at 11th Annual meeting of SETAC-Europe, Madrid, 6-11 May 2001
18. Di Guardo A., Colombo I., Saporiti E., Zaccara S., Cerabolini B., Calamari D. Field derived accumulation and release kinetics of ddt's in five plant species Poster presented at 11th Annual meeting of SETAC-Europe, Madrid, 6-11 May 2001
19. Di Guardo A., Galassi S., Bracchitta F. Gagliardi A., Martinoli A., Tosi G., CALAMARI D.: Distribuzione del DDT nelle uova e nei tessuti di svasso maggiore (*Podiceps cristatus*) XI Congresso della Società Italiana di Ecologia (SitE), Sabaudia, 12-14 settembre 2001 (poster)
20. Di Guardo Antonio, Antichi Alessandro, Zaccara Serena E Calamari Davide "Previsione del rilascio di ddt dal suolo della val d'ossola mediante un approccio modellistico integrato" (presentation); XI Congresso della Società Italiana di Ecologia (SitE), Sabaudia, 12-14 settembre 2001.
21. Fasano Mauro, Maria Orsale, Sonia Melino, Fabio Forlani, Marco Sette, Maurizio Paci, Silvia Pagani. The two structural domains of *Azotobacter vinelandii* Rhodanese change their contact surface during the enzymatic cycle: evidence from NMRD relaxometry. 2<sup>nd</sup> Conference on FC NMR relaxometry. Torino, 1-3 Giugno 2001.
22. Fasano Mauro, Michael Orth, Manuela Basso, Sabrina Giraudo, Bruno Bergamasco, Leonardo Lopiano, Anthony H. V. Schapira. Effetto dell'espressione di alfa-sinucleina sul quadro di espressione proteica in un modello cellulare inducibile. Riunione annuale della lega italiana per la lotta alla malattia di parkinson, le malattie extrapiramidali e le demenze. Alba, 7-9 novembre 2001.
23. Fiandra L., de Eguileor M., Leonardi M:G., Casartelli M., Grimaldi A., Milani A, Tettamanti G., Pennacchio F., Giordana B. Caratterizzazione della via paracellulare nell'intestino medio delle larve di *Bombix mori*. 62° Convegno Nazionale Unione Zoologica Italiana 23-27 settembre 2001:
24. Forlani, E. Bossi, R. Ghirardelli, S. Giovannardi, F. Binda, L. Ielmini and A. Peres pH sensitivity conferred to rGAT1 gaba transporter by mutations in the extracellular loop 5. Riunione primaverile dell Soc. It. Di Fisiologia, Firenze, febbraio 2001.
25. Galanti V., Codipietro P., Rossi R., Tosi G. Migratory Wildlife Distribution Mapping In The Tarangire-Manyara Complex, northern Tanzania. Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa) 12 - 17 agosto 2001(Abstract N. 122).
26. Galanti V., Musci M., Rossi R., Tosi G. Does Habitat Quality Drive Migratory Movements Of wildebeest and zebra in the Tarangire Area, northern Tanzania?. Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa) 12 - 17 agosto 2001(Abstract N. 124).
27. Galanti V., Musci M., Rossi R., Tosi G. Spatial Distribution And Movements Of Wildebeest And zebra in Tarangire National Park, northern Tanzania. Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa) 12 - 17 agosto 2001(Abstract N. 123).
28. Galli P. and Crosa G. 2001. Monogenean parasites from tropical fish collected in Aquarium of Genova (Italy). 18th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). 26-30 August 2001. Stresa, Italy.
29. Galli P., Crosa G., Stefani F. e Calamari D. 2001. "Core and satellite" hypothesis applied at fish parasite species. XI Congresso S.It.E. Sabaudia 12-14 settembre 2001.
30. Galli P., Maggioni S., Acquistapace A., Crosa G. e Garibaldi L. 2001. Parassiti di *Scardinius erythrophthalmus* prelevati dal lago d'Iseo. La veterinaria pubblica verso il terzo millennio – dalla gestione del rischio alla prevenzione dell'emergenza. Bergamo 25 maggio 2001.
31. Gariboldi M.B, Ravizza R., Rimoldi V., Monti E. Synergistic antiproliferative effects of the piperidine nitroxide Tempol and Temozolomide against human glioma cell lines. Proceedings of the American Association for Cancer Research, 42: (455), 2001.

32. Ghiani A., Labra M., Casazza G., Citterio S., Sgorbati S., Vannini C., Ruffini-Castiglione M., Bracale M. (2001) Analysis of cytosine methylation pattern in response to water deficit in pea root tips. XLV convegno S.I.G.A., Salsomaggiore 2001
33. Giovannardi S., E. Bossi, G. Forlani, F. Binda and A. Peres. Biophysics and molecular physiology of membrane transport systems. 1<sup>a</sup> Giornata Interdipartimentale Insubrica. Como, ottobre 2001.
34. Giovannardi S., G. Forlani, E. Bossi, R. Ghirardelli, F. Binda, L. Bonadiman and A. Peres. K448E mutation in the extracellular loop 5 of *rgat1* gaba transporter induces alterations in interactions of substrates. Riunione primaverile dell Soc. It. Di Fisiologia, Firenze, febbraio 2001.
35. Gornati R, Bernardini G., Monetti C, Vigetti D, Prati M *Xenopus tropicalis* as a valid alternative to *Xenopus laevis* Gruppo Embriologico Italiano Fano 7-9 giugno 2001
36. Gramatica P., A. Santagostino e Ezio Bolzacchini Approccio multidisciplinare allo studio dei nitrofenoli: analisi, tossicologia e modellamento predittivo QSAR I° congresso Nazionale di Chimica Ambientale – SCI, Rosignano Solvay (Li), 5-8 giugno 2001.
37. Gramatica P., H. Walter and R. Altenburger Ranking of “EEC Priority List 1” chemicals for structural similarity and modelling of algal toxicity 11<sup>th</sup> Int. Symposium of MESAEP on Environ. Pollution and its Impact on life in Mediterranean region – Limassol (Cipro), 6-10 october 2001.
38. Gramatica P., E.Papa and M.Pavan Modelling and prediction of pollutant global persistence by theoretical molecular descriptors 11<sup>th</sup> Annual Meeting of SETAC Europe, Madrid (Spain), 6-10 May 2001.
39. Gramatica P., E.Papa and S.Pozzi Multicriteria decision-making and QSAR approaches for the screening of long range transport potential of organic pollutants 1<sup>th</sup> Annual Meeting of SETAC Europe, Madrid (Spain), 6-10 May 2001.
40. Gramatica P., E.Papa and S.Pozzi SAR and chemometric approaches to the screening of POPs for environmental persistence and Long Range Transport 1<sup>th</sup> Int. Symposium of MESAEP on Environ. Pollution and its Impact on life in Mediterranean region Limassol (Cipro), 6-10 october 2001.
41. Gramatica P., P.Lorenzini, A.Santagostino and E.Bolzacchini Atmospheric Monitoring, Toxicology and QSAR Modelling of Nitrophenols. 11<sup>th</sup> Int. Symposium of MESAEP on Environ. Pollution and its Impact on life in Mediterranean region –Limassol (Cipro), 6-10 october 2001.
42. Kemp J.L., Harper D.M. and Crosa G. 2001. A deeper understanding of river habitat-scale ecohydraulics: interpreting the relationship between habitat type, depth and velocity using knowledge of sediment dynamics and macrophyte growth. International Conference on The Application of Ecohydrology to Water Resources Development and Management. UNESCO. 16-18 September 2001. Venice, Italy.
43. Labra M., Ghiani A., Citterio S., Bracale M., Sgorbati S. (2001) Analisi del pattern di metilazione della citosina in risposta al deficit idrico negli apici radicali di pisello. Gruppo di Lavoro di Biologia Cellulare e Molecolare, Roma.
44. Locatelli F., Bracale M., Magnani E., Coraggio I. (2001) *Osmyb7* of rice: one gene encodes for two transcription factors belonging to different classes. Keyston Symposia, Mechanisms of Eukaryotic Transcriptional Regulation, Santa Fè (USA).
45. Martinoli A., Carlini E., Cerabolini B., Chiarenzi B., Preatoni D.G., Wauters L.A., TOSI G. Multifunctional use of forests in northern Italy: towards an ecological community-based approach. Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa) 12 - 17 agosto 2001 (Abstract N. 224).
46. Martinoli A., Preatoni D., Wauters L.A., Tosi G. Bats In An Alpine Landscape: A comparative analysis of habitat preferences Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa), 12 - 17 agosto 2001 (Abstract N. 225).
47. Martinoli A., Preatoni D.G., Mattioli S., Tosi G. Disomogeneità Morfometrica Ed ecologica di un “gruppo” di individui del genere *Plecotus*: ecotipo o nuova specie? Atti del II Congresso Italiano di Teriologia, San Remo (IM), 21 - 23 settembre 2001.
48. Melino Sonia, Maria Vittoria Orsale, Fabio Forlani, Mauro Fasano, Marco Sette, Maurizio Paci, Silvia Pagani. The two structural domains of *Azotobacter vinelandii* Rhodanese

- change their contact surface during the enzymatic cycle: a fluorescence, circular dichroism, NMR relaxometry and high resolution NMR of the interaction with hypophosphite ion. XXXI Congresso Nazionale Risonanze Magnetiche. Parma, 19-22 Settembre 2001.
49. Milani A., Farneti M.R., Grimaldi A., Digilio M.C., Leonardi M.G., Fiandra L., Casartelli M., Tettamanti G., de Eguileor M., Pennacchio F., Giordana B. Assorbimento di nutrienti nel tegumento di *Aphidius ervi* durante lo sviluppo larvale. 62° Convegno Nazionale Unione Zoologica Italiana 23-27 settembre 2001:
  50. Monti E., R. Ravizza, A. De Simone, M. B. Gariboldi,, F. Piccinini. I nitrossido piperidinico tempol potenzia la citotossicità della temozolomide su linee cellulari di glioma umano Atti del XXX Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, Genova, 30 maggio - 2 giugno 2001, pag. 25.
  51. Monti E., Raffaella Ravizza and Marzia Gariboldi. The piperidine nitroxide Tempol causes oxidative stress, p21waf1/cip1 upregulation and apoptosis in human cancer cell lines. Workshop: Redox signaling in proliferative disorders (26), 2001.
  52. Mustoni A., Carlini E., Chiarenzi B., Chiozzini S., Wauters L.A. Martinoli A., Tosi G (2001). Brown bear reintroduction in the Italian Alps: the first two years of a success-story. Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa), 12 - 17 agosto 2001(Abstract N. 253).
  53. Mustoni A., Chiarenzi B., Carlini E., Chiozzini S., Martinoli A, Tosi G. (2001). Progetto Life-Ursus: status e prospettive dell'operazione di reintroduzione dell'Orso bruno (*Ursus arctos*) nella Alpi Centrali. Atti del II Congresso Italiano di Teriologia, San Remo (IM), 21 - 23 settembre 2001.
  54. Mustoni A., Chiozzini S., Carlini E., Chiarenzi B., Fraquelli C., Lattuada E., Martinoli A., Tosi G. Reintroduction of brown bear in the Italian Alps: preparing local people as well as bears. Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa), 12 - 17 agosto 2001; (Abstract N. 254).
  55. Mustoni A., Pedrotti L., Dupre' E., Carlini E., Chiarenzi B., Fraquelli C., Preatoni D.G., Tosi G. Reintroducing alpine ibex in the eastern Alps: Analysing socio-political opportunity and habitat suitability. Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa), 12 - 17 agosto 2001(Abstract N. 255).
  56. Onelli E., E.Pilotto, L. Carraro e P. Gerola (2001) Impollinazione interspecifica: incompatibilità o ungruità unilaterale? 96° Congresso Nazionale della Società Botanica Italiana. 26-28, settembre 2001
  57. Osnato M., Bracale M., Locatelli F., Vannini C., Magnani E., Coraggio I. (2001) Myb4: a rice transcriptional factor involved in cold tolerance. XLV Convegno S.I.G.A., Salsomaggiore
  58. Pilone M.S., L. Piubelli, S. Fantinato, G. Molla and L. Pollegioni. Role of the C-terminal loop of yeast D-amino acid oxidase in protein stability and aggregation state (2001) 4th European Symposium of the Protein Society, Parigi, Francia, 388
  59. Pilone M.S., V. Job and L. Pollegioni The new flavoenzyme glycine oxidase: an evolutionary comparison (2001) 4th European Symposium of the Protein Society, Parigi, Francia, 408
  60. Pilotto E., E. Onelli, L. Carraro e P. Gerola (2001) Il gene GUS può essere usato come gene reporter nelle piante? 96° Congresso Nazionale della Società Botanica Italiana. 26-28, settembre 2001
  61. Piubelli L., L. Caldinelli, G Molla, M.S. Pilone, S. Iametti, F. Bonomi, D. Fessas and L. Pollegioni Role of the  $\beta$ 12- $\beta$ 13 loop of yeast D-amino acid oxidase on stability and on aggregation: a rational design and thermodynamic study (2001) Italian Biochemical Society Transactions, vol 17, 46° Convegno Nazionale SIB, Siena, 13.08
  62. Preatoni D. G., Martinoli A., Chirichella R., Tosi G. Modelli di idoneità ambientale per i Chiroteri: il caso del Parco Naturale Adamello Brenta. Atti del II Congresso Italiano di Teriologia, San Remo (IM), 21 - 23 settembre 2001.
  63. Preatoni D.G., Badiello B., Martinoli A., Wauters L.A., Tosi G. Sesam: towards a standardization of GIS-based habitat suitability models for ungulates. Proceedings of 8<sup>th</sup> International Theriological Congress, Sun City (South Africa), 12 - 17 agosto 2001 (Abstract N. 280).

64. Rodondi G, Pellegrini S, Brusa T, Cattaneo A G, Vianelli A, Gerola P. "Analisi della composizione microbiologica del lago di Tovel". 96° Congresso della Società Botanica Italiana, Varese 26-28/9/2001
65. Rubino Tiziana, Viganò Daniela, Massi Paola and Daniela Parolaro "Δ<sup>9</sup>-tetrahydrocannabinol sensitization: behavioural aspects and cellular correlates" 1<sup>th</sup> Annual International Cannabinoid Research Society Meeting, San Lorenzo de El Escorial, Spain, June 28-30, 2001
66. Sacchi S., S. Lorenzi, G Molla, L Pollegioni and M S Pilone Rational design of a novel specificity of D-amino acid oxidase: towards the biosensor for all D-amino acids? (2001) 5° Congresso Nazionale Biotecnologie, L'Aquila, 116
67. Sacchi S., S. Lorenzi, G Molla, M S Pilone and L Pollegioni Engineering a new D-amino acid oxidase: an evolved enzyme and its applications (2001) Italian Biochemical Society Transactions, vol 17, 46° Convegno Nazionale SIB, Siena, 1.11
68. SOLERA D., ARENGHI F.L.G., GALLI E., BARBIERI P. 2001. Gratuitous activation of the *Pseudomonas stutzeri* OX1 P<sub>TO</sub>MO promoter: role of the transcriptional activator TouR. Abs. *Pseudomonas* meeting, Brussels (Belgium). p. 110.
69. Stefani F., Galli P., Crosa G. e Calamari D. 2001. Analisi filogeografica delle popolazioni italiane di *Scardinius erythrophthalmus* L. XI Congresso S.It.E. Sabaudia 12-14 settembre 2001.
70. Tettamanti G., Grimaldi A., Marras E., Perletti G., Valvassori R., de Eguileor M., Lanzavecchia G. *Hirudo medicinalis*: un nuovo modello sperimentale per lo studio dell'angiogenesi. 62° Convegno Nazionale Unione Zoologica Italiana 23-27 settembre 2001:
71. Vannini C., Bracale M., Locatelli F., Balsemin M.T., Tenti M., Cucinotta S., Coraggio I. (2001) Analisi della risposta allo stress da freddo in piante di *Arabidopsis thaliana* sovraesprimenti il gene *Osmyb4*. 96° Congresso della Società Botanica Italiana, Varese.
72. Viganò Daniela and Daniela Parolaro "Δ<sup>9</sup>-tetrahydrocannabinol sensitization: behavioural aspects and cellular correlates" Riunione dei dottorandi in Farmacologia e Scienze Affini, Certosa di Pontignano, Siena, Settembre 2001
73. Vianelli A, Vannini C, Balsemin MT, Granata M, Gerola P D, Granero M I, Porati, A. "Redox state controls light energy utilization in photoautotrophic organisms: the case of a light-changing environment". Graduate School in Nonlinear Science on "Phyllotaxis and biological oscillations". Lyngby, Denmark, 24-27/1/2001.
74. Vianelli A, Cattaneo A G, Gerola P D, Itoh S. "Oxidant-induced fluorescence quenching in green photosynthetic bacteria: mechanisms and possible physiological significance". 40° Congresso della Società Italiana di Fisiologia Vegetale, Abano Terme, 17-19/9/2001.
75. Vianelli A, Cattaneo A G, Gerola P D, Itoh S. "Smorzamento della fluorescenza indotto da ossidanti nei batteri fotosintetici verdi: meccanismi e possibile significato fisiologico nella fotoprotezione". 96° Congresso della Società Botanica Italiana, Varese 26-28/9/2001
76. Viganò Daniela, Fezza Filomena, Cascio Maria Grazia, Massi Paola, Vaccani Angelo, Romorini Stefano, Di Marzo Vincenzo and Daniela Parolaro "Reduction of endocannabinoid contents in several brain regions after chronic morphine treatment in rats" 11<sup>th</sup> Annual International Cannabinoid Research Society Meeting, San Lorenzo de El Escorial, Spain, June 28-30, 2001
77. Viganò Daniela, Rubino Tiziana, Ascari Isabella and Daniela Parolaro "Cellular mechanisms supporting morphine sensitization" XXX Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, Genova, 30 maggio-2 giugno 2001
78. Vigetti D, Monetti C, Bosisio S, Gornati R, Prati M, Bernardini G Unione Zoologica Italiana San Remo 23-27 settembre 2001
79. Walter H., R. Altenburger, M.Scholze, F. Consolaro and P.Gramatica. Mixture toxicity analysis of environmental chemicals 1<sup>th</sup> Annual Meeting of SETAC Europe, Madrid (Spain), 6-10 May 2001.

## Reports

1. Badaracco G., Calamari D., Tosi G., Trizio I., Martinoli A., Puzzi C., Trasforini S., Landsberger N. Caratterizzazione ecologica, morfologica e comportamentale delle popolazioni di trota presenti in provincia di Varese. Provincia di Varese, Settore Politiche per l'Agricoltura e Gestione Faunistica, Università degli Studi dell'Insubria. Relazione attività al luglio 2001.
2. Brusa G., Morelli C., Cerabolini B., Martinoli A. Concetto di paesaggio naturale transfrontaliero quale sostegno per la creazione di una rete di aree protette nell'area tra il Parco Nazionale Val Grande (Italia) e l'area Centovalli - Collina di Maia - Lago Verbano (Confederazione Elvetica). Studio e conservazione delle aree cacuminali d'interesse entomologico nell'area della cresta Pian Cavallone / Marona / Zeda / Crocette / Torrione (Parco Nazionale Val Grande). Ente Parco Nazionale Val Grande, Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale – Varese. Relazione finale.
3. Calamari D., Crosa G., Lalumera G. e Galli P. Presenza ed effetti sull'ecosistema dei farmaci usati in acquicoltura, secondo rapporto sullo stato di avanzamento della ricerca, progetto 5-C-24 V Piano triennale della pesca e dell'acquicoltura. Ministero delle Politiche Agricole.
4. Ceriani R.M. Studio dei caratteri riproduttivi e coltivazione *ex situ* di specie autoctone delle praterie prealpine. Relazioni trimestrali relative all'assistenza Tecnico-Scientifica alle attività del Centro Regionale per la Flora Autoctona – Relazioni aprile 2001, luglio 2001, ottobre 2001.
5. Ceriani R.M. Coltivazione *ex situ* di specie autoctone delle praterie prealpine. Relazione trimestrale relativa all'assistenza Tecnico-Scientifica per la gestione dell'azione C5 "Riproduzione *ex-situ* di specie vegetali" – Progetto Life Natura 2000 (LIFE00NAT/IT/7258) – Relazione dicembre 2001.
6. Crosa G., Genoni P. e Stefani F. 2001. Taratura e standardizzazione di metodi per la valutazione qualitativa dei corsi d'acqua minori della Provincia di Milano. Amministrazione Provinciale di Milano, Direzione Centrale Ambiente, Settore Acque Superficiali.
7. De Andreis R. Colture *in vitro* di specie autoctone delle praterie prealpine e analisi biomolecolari per la valutazione della variabilità genetica nelle popolazioni naturali. Relazioni semestrali relative all'assistenza Tecnico-Scientifica alle attività del Centro Regionale per la Flora Autoctona “. Relazioni giugno 2001, dicembre 2001.
8. Martinoli A. & Preatoni D. Presenza e distribuzione dei pipistrelli (*Chiroptera*) nel territorio del Parco Naturale Adamello Brenta. Parco Naturale Adamello Brenta.
9. Tosi G., Martinoli A., Carlini E., Preatoni D.G., Scherini G., Badiello B., Tosi W. Piano Faunistico Venatorio della Regione Lombardia. Regione Lombardia Assessorato all'Agricoltura, Università degli Studi dell'Insubria - Varese, Università degli Studi di Pavia, Università degli Studi di Milano Bicocca. 1121 pp.
10. Tosi G., Martinoli A., Carlini E., Cerabolini B., Chiarenzi B., Gallinaro N., Preatoni D.G., Scherini G., Wauters L.A., Adornato L., Badiello B., Sutti F., Tosi W. Conservazione ed incremento della biodiversità delle foreste mediante interventi di gestione integrata della componente faunistica. Regione Lombardia Servizio Ambiente Rurale e Politiche Forestali, Università degli Studi dell'Insubria. Relazione attività al giugno 2001.
11. Tosi G., Martinoli A., Gagliardi A., Puzzi C., Viganò A., Wauters L.A., Bianchi A. Influenza di alcune specie dell'avifauna acquatica: Svasso maggiore, Cormorano ed Ardeidi (Airone cenerino, Airone rosso, Nitticora) sull'ittiofauna dei principali corpi idrici della provincia di Varese. Provincia di Varese, Settore Politiche per l'Agricoltura e Gestione Faunistica, Università degli Studi dell'Insubria. Relazione giugno 2001.
12. Tosi G., Martinoli A., Gagliardi A., Negri A., Viganò A., Wauters L.A., Bianchi A. Influenza di Svasso maggiore (*Podiceps cristatus*) e Cormorano (*Phalacrocorax carbo*) sull'ittiofauna del Lario, con particolare attenzione all'interazione Svasso-Alborella. Provincia di Como, Settore Risorse Ambientali (Servizio Ittico), Provincia di Lecco, Settore Caccia e Pesca (Servizi Faunistico e Pesca), Università degli Studi dell'Insubria. Relazione giugno 2001.