

DIPARTIMENTO DI RICERCA TRASLAZIONALE ONCOLOGICA

Direttore: Prof. Giorgio Corte

IMMUNOLOGIA *struttura complessa*

Direttore: Prof.ssa Maria Cristina Mingari (*universitario convenzionato*)

Dirigenti: Barbara Carnemolla, Alessandro Poggi, Massimo Vitale
CPS tecnici di laboratorio: Raffaella Augugliaro, Romana Conte, Stefania Martini
Personale amministrativo: Alessandra Bini

L'Immunologia è una struttura complessa a cui afferiscono le strutture semplici di Immunoterapia Cellulare Personalizzata, Oncologia Molecolare e Angiogenesi e Embriogenesi e Tumorigenesi su Modelli Animali.

La struttura effettua ricerche sperimentali e di orientamento traslazionale relativamente ai vari aspetti dell'immunità cellulo-mediata sia di tipo innato sia di tipo specifico, con particolare riferimento allo studio di cellule effettrici con attività antitumorale.

I principali filoni di ricerca riguardano:

- studi di caratterizzazione molecolare e funzionale di recettori inibitori specifici per molecole HLA di classe I e di recettori che mediano l'attivazione delle cellule Natural Killer (NK) nella lisi dei tumori
- caratterizzazione dei meccanismi molecolari che permettono alle cellule NK di uccidere le cellule tumorali
- identificazione e caratterizzazione di Cellule Staminali del Cancro (CSC) isolate da tumori solidi ed ematologici. Studio della suscettibilità alla lisi da parte delle cellule NK
- identificazione di fattori solubili immunosoppressivi e ruolo dello stroma tumorale nei linfomi
- studio di popolazioni di linfociti T con attività citotossica contro tumori e virus
- studio del ruolo delle cellule dendritiche nelle interazioni con cellule effettrici dell'immunità naturale e nelle risposte contro antigeni tumorali
- caratterizzazione di recettori con attività regolatoria della risposta immunitaria verso neoplasie ematologiche e produzione e caratterizzazione di anticorpi ricombinanti umani (phage display library technology) specifici per tali recettori
- caratterizzazione delle vie biochimiche responsabili della apoptosi indotta dal bersaglio tumorale
- identificazione di nuovi antigeni tumorali, associati alla matrice extracellulare, da utilizzare come targets a scopo diagnostico e terapeutico
- analisi e confronto tra proteine della matrice extracellulare normale o neoplastica con tecniche di proteomica. In particolare sono in corso studi sulla periostina, proteina della matrice extracellulare espressa in isoforme a diverso peso molecolare derivate da splicing alternativo del pre-mRNA

La struttura di Immunologia interagisce attivamente con altri gruppi IST di area sperimentale e clinica e con numerosi e importanti gruppi di ricerca sia italiani che stranieri.

Metodiche

- Produzione e caratterizzazione di anticorpi monoclonali diretti contro strutture di superficie di cellule NK, linfociti T citotossici e di cellule tumorali
- Tecniche di clonazione di linfociti T e NK e analisi funzionali: valutazione dell'attività citotossica e della produzione di citochine
- Identificazione linfociti T antigene-specifici mediante tetrametri
- Coltura di cellule stromali isolate da timo, linfonodi, midollo osseo, biopsie cutanee e d'organo e colture di cellule tumorali provenienti da tumori solidi
- Valutazione apoptosi mediante annessina V, ioduro di propidio, DNA laddering
- Saggi di migrazione transendoteliale

- Valutazione molecole solubili mediante ELISA
- Tecniche avanzate di citofluorimetria
- Tecniche di microscopia confocale
- Tecniche di valutazione di flussi di calcio intracellulari in singola cellula
- Estrazione di proteine da tessuti umani normali e neoplastici o da colture cellulari, e loro separazione utilizzando varie tecniche cromatografiche
- Expertise nell'ambito della tecnologia della proteomica: 1D e 2D SDS-PAGE-immunoblotting, preparazione dei campioni per l'analisi mediante spettrometria di massa
- Spettrometria di massa (in collaborazione con l'Istituto G. Gaslini di Genova) per identificazione degli antigeni tumore associati
- Produzione e caratterizzazione di anticorpi ricombinanti umani (phage display library technology). Il laboratorio ha in uso (in collaborazione con l'Università degli Studi di Genova) Phage Display Libraries per la selezione di anticorpi ricombinanti umani che, opportunamente ingegnerizzati, costituiscono ottimi reagenti sia per diagnostica che per terapia
- Tecniche di clonaggio in vettori per espressione di proteine in batteri e cellule di mammifero
- Studio di tumor-targeting in vivo utilizzando molecole radiomarcate in collaborazione con l'Animal Facility dell'IST
- Studi di efficienza terapeutica in animali con tumore indotto (neuroblastomi murini e umani) utilizzando vari protocolli di somministrazione

Attrezzature

- Laboratori attrezzati per colture cellulari
- Microscopio per analisi immagine IX70 corredato da CellR e sistema di deconvoluzione per la valutazione in singola cellula della concentrazione endocellulare di ioni calcio, magnesio, H+
- Microscopio confocale FV 500
- Microscopio Axiovert 100 corredato di sistema Attofluor per analisi in singola cellula della concentrazione di ioni calcio, magnesio, H+
- Spettrofluorimetro LS50B per la valutazione della concentrazione di ioni intracellulari
- Fluorescence Activated Cell Sorter (FACSsort) per la separazione di sottopopolazioni cellulari
- FACSan per l'analisi citofluorimetrica della espressione di antigeni
- Apparecchiatura per 1D e 2D-gel-elettroforesi
- Camera calda per uso isotopi radioattivi (beta e gamma emittenti)
- Cappe biohazard, cappe chimiche
- Incubatori CO2
- Congelatori -80°C e contenitori azoto liquido

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Molecular analysis and regulation of leukaemic cell-induced apoptosis of cytotoxic effector cells*

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *NK cells and tumors in humans: identification and molecular characterization of reciprocal regulatory pathways*

Compagnia San Paolo - *Fattori solubili e stroma dei linfomi coinvolti nella immunosoppressione*

Istituto Superiore di Sanità - Programma Italia/USA Malattie Rare - *Cytokine/based immunotherapy and subversion of tumor/related immunosuppression in preclinical models of cutaneous and ocular melanoma*

Ministero della Salute - *"Danger Factors" e redox extracellulare nella progressione neoplastica: possibili targets per lo sviluppo di terapie innovative*

Ministero della Salute - *Early onset obesity in children: role of inflammation in the development insulin resistance*

Ministero della Salute - *Innovative therapeutic models for the treatment of hematological malignancies*

Ministero della Salute - *Microambiente tumorale: ruolo nella progressione neoplastica ed effetti sulle difese dell'ospite. Identificazione di nuovi bersagli per lo sviluppo di terapie innovative*

Ministero della Salute - *Progetto oncologico di medicina molecolare: i tumori femminili*

Ministero della Salute - *Sviluppo di nuovi approcci diagnostici e terapeutici nel neuroblastoma*

Ministero della Salute - *Targeting tumor-related immunosuppression for new combined approaches of immunotherapy*

Pubblicazioni

Barboro P.-D'arrigo C.-Repaci E.-Bagnasco L.-Orecchia P.- Carnemolla B.-Patrone E.-Balbi C.
Proteomic analysis of the nuclear matrix in the early stages of rat liver carcinogenesis: identification of differentially expressed and MAR binding proteins.
Exp. Cell Res. Epub Oct 28, 2008

Barboro P.-Rubagotti A.-Orecchia P.-Spina B.-Truini M.-Repaci E.-Carmignani G.-Romagnoli A.-Introini C.-Boccardo F.-Carnemolla B.-Balbi C.
Differential proteomic analysis of nuclear matrix in muscle invasive bladder cancer: potential to improve diagnosis and prognosis.
Cell. Oncol. 30:13/26, 2008

Carrega P.-Morandi B.-Costa R.-Frumento G.-Forte G.-Altavilla G.-Ratto G.B.-Mingari M.C.-Moretta L.-Ferlazzo G.
Natural killer cells infiltrating human nonsmall cell lung cancer are enriched in CD56bright CD16- cells and display an impaired capability to kill tumor cells.
Cancer 112:863/875, 2008

Catassi A.-Paleari L.-Servent D.-Sessa F.-Dominioni L.-Ognio E.- Cilli M.-Vacca P.-Mingari M.C.-Gaudino G.-Bertino P.-Paolucci M.- Calcaterra A.-Cesario A.-Granone P.-Costa R.-Ciarlo M.-Alama A.- Russo P.
Targeting alpha7 nicotinic receptor for the treatment of pleural mesothelioma.
Eur. J. Cancer 44:2296/2311, 2008

Della Chiesa M.-Romeo E.-Falco M.-Balsamo M.-Augugliaro R.-Moretta L.-Bottino C.-Moretta A.-Vitale M.
Evidence that the KIR2DS5 gene codes for a surface receptor triggering natural killer cell function.
Eur. J. Immunol. 38:2284/2289, 2008

Giuliani M.-Giron Michel J.-Negrini S.-Vacca P.-Durali D.-Caignard A.-Le Bousse C.-Chouaib S.-Devocelle A.-Bahri R.-Durrbach A.- Taoufik Y.-Ferrini S.-Croce M.-Mingari M.C.-Moretta L.-Azzarone B.
Generation of a novel regulatory NK cell subset from peripheral blood CD34+ progenitors promoted by membrane bound IL/15.
PLoS ONE 3:e2241;1/e2241;16, 2008

Lombardi M.-Terrazzano G.-Cosentini E.-Gargiulo L.-Risitano A.-Camerlingo R.-Sica M.-Aufiero D.-Poggi A.-Pirozzi G.-Luzzatto L.-Rotoli B.-Notaro R.-Alfinito F.-Ruggiero G.
Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: significant association with specific HLA/A, /B, /C, and /DR alleles in an italian population.
Hum. Immunol. 69:202/206, 2008

Patterson S.-Chaidos A.-Neville D.-Poggi A.-Butters T.-Roberts I.- Karadimitris A.
Human invariant NKT cells display alloreactivity instructed by invariant TCR/CD1d interaction and killer Ig receptors.
J. Immunol. 181:3268/3276, 2008

Pende D.-Marcenaro S.-Falco M.-Martini S.-Bernardo M.-Montagna D.- Romeo E.-Cognet C.-Martinetti M.-Maccario R.-Mingari M.C.-Vivier E.-Moretta L.-Locatelli F.-Moretta A.
Anti leukemia activity of alloreactive NK cells in KIR ligand mismatched haploidentical HSCT for pediatric patients: evaluation of the functional role of activating KIR and redefinition of inhibitory KIR specificity.
Blood Epub Oct 22, 2008

Poggi A.-Catellani S.-Bruzzone A.-Caligaris F.-Gobbi M.-Zocchi M.
Lack of the leukocyte associated Ig/like receptor/1 expression in high risk chronic lymphocytic leukaemia results in the absence of a negative signal regulating kinase activation and cell division.
Leukemia 22:980/988, 2008

Poggi A.-Zocchi M.

Role of bone marrow stromal cells in the generation of human CD8(+) regulatory T cells.

Hum. Immunol. 69:755/759, 2008

Ponassi R.-Biasotti B.-Tomati V.-Bruno S.-Poggi A.-Malacarne D.- Cimoli G.-Salis A.-Pozzi S.-Miglino M.-Damonte G.-Cozzini P.- Spyraiki F.-Campanini B.-Bagnasco L.-Castagnino N.-Tortolina L.- Mumot A.-Frassoni F.-Daga A.-Cilli M.-Piccardi F.-Monfardini I.- Perugini M.-Zoppoli G.-D'arrigo C.-Pesenti R.-Parodi S.

A novel Bim/BH3 derived Bcl/X(L) inhibitor. Biochemical characterization, in vitro, in vivo and ex vivo anti leukemic activity.

Cell Cycle 7:3211/3224, 2008

Stifanese R.-Averna M.-De Tullio R.-Salamino F.-Cantoni C.-Mingari M.C.-Prato C.-Pontemoli S.-Melloni E.

Role of the calpain calpastatin system in the density dependent growth arrest.

Arch. Biochem. Biophys. 479:145/152, 2008

Vacca P.-Cantoni C.-Prato C.-Fulcheri E.-Moretta A.-Moretta L.- Mingari M.C.

Regulatory role of NKp44, NKp46, DNAM/1 and NKG2D receptors in the interaction between NK cells and trophoblast cells. Evidence for divergent functional profiles of decidual versus peripheral NK cells.

Int. Immunol. 20:1395/1405, 2008

Viale M.-Petrillo G.-Maccagno M.-Castagnola P.-Aiello C.-Cordazzo C.-Mariggio' M.-Jadhav S.-Bianchi L.-Leto G.-Rizzato E.-Poggi A.- Spinelli D.

Sensitivity of different resistant tumour cell lines to the two novel compounds (2Z,4E)/2/methylsulfanyl/5/(1/naphthyl)/4/nitro/2,4 /pentadienoate and (1E,3E)/1,4/bis(2/naphthyl)/2,3/dinitro/1,3/buta diene.

Eur. J. Pharmacol. 588:47/51, 2008

Vitale C.-Cottalasso F.-Montaldo E.-Moretta L.-Mingari M.C.

Methylprednisolone induces preferential and rapid differentiation of CD34+ cord blood precursors toward NK cells.

Int. Immunol. 20:565/575, 2008

Capacità di attrarre e formare ricercatori

Contrattisti: Mirna Balsamo, Paolo Canevali, Gabriele Gaggero, Valentina Rea

Attività didattica universitaria e training

I dirigenti della struttura svolgono attività didattica per la Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Genova, nell'ambito di:

- Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia e Corso di Laurea in Odontoiatria (insegnamenti Immunologia e Immunopatologia), Prof.ssa M.C. Mingari
- Corso di Laurea in Scienze Infermieristiche (insegnamenti Immunologia e Immunopatologia), Prof.ssa M.C. Mingari
- Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie (insegnamenti Immunologia e Immunopatologia), Prof.ssa M.C. Mingari
- Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica (insegnamenti Immunologia, Immunopatologia, Immunoematologia, Tecniche Immunologiche e Immunoematologiche), Scuola di Specializzazione in Oncologia (insegnamento Immunologia), Scuola di Specializzazione in Microbiologia e Virologia (insegnamento Immunologia), Prof.ssa M.C. Mingari

Presso la struttura completano il proprio percorso formativo:

- tirocinanti pre-laurea del Corso di Laurea in Scienze Biologiche e Biotecnologie dell'Università degli Studi di Genova
- dottorandi in Immunologia, Vaccinologia e Trapianti (indirizzo: Immunologia Clinica e Sperimentale, Area Medicina e Chirurgia) dell'Università degli Studi di Genova
- specializzandi in Patologia Clinica e in Malattie dell'Apparato Respiratorio dell'Università degli Studi di Genova

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torre A, piano 1

IMMUNOTERAPIA CELLULARE PERSONALIZZATA

struttura semplice

Responsabile: Dott.ssa Daniela Pende

La struttura semplice Immunoterapia Cellulare Personalizzata afferisce alla struttura complessa Immunologia.

Si propone come principale obiettivo il trasferimento alla clinica delle competenze e delle tecnologie acquisite nel campo dell'immunologia dei tumori.

I principali filoni di ricerca sono rappresentati da:

- caratterizzazione dei meccanismi molecolari che permettono alle cellule NK di uccidere le cellule tumorali
- produzione di anticorpi monoclonali specifici per recettori delle cellule NK e per molecole espresse selettivamente su cellule tumorali, con un possibile utilizzo in campo diagnostico e terapeutico
- messa a punto di protocolli di immunoterapia basati sull'uso di cellule NK alloreattive in pazienti affetti da tumori ematologici (Leucemia Mieloide Acuta, AML) e da tumori solidi di diverso istotipo (melanomi, carcinomi renali)
- messa a punto di metodiche d'isolamento e coltura di cellule NK utilizzando procedure GMP (good manufacturing practice) e reagenti abilitati all'uso in clinica ("Clinical grade").

Metodiche

- Tecniche di separazione e coltura di linfociti NK sia per studi in vitro che in condizioni "GMP" per uso in clinica
- Tecniche di clonazione di linfociti NK
- Tecniche avanzate di citofluorimetria
- Valutazione dell'attività citotossica dei linfociti NK tramite metodiche di rilascio di cromo radioattivo e di degranulazione con tecniche citofluorimetriche
- Valutazione della produzione di citochine tramite ELISA
- Produzione e caratterizzazione di anticorpi monoclonali diretti contro strutture di superficie di linfociti NK e di cellule tumorali
- Studi di efficienza terapeutica in animali con tumore indotto, in particolare leucemie, utilizzando vari protocolli di somministrazione

Attrezzature

La struttura si avvale delle seguenti attrezzature proprie della struttura complessa cui afferisce:

- Laboratorio attrezzato per colture cellulari
- Microscopio confocale FV 500
- FACSCalibur per l'analisi citofluorimetrica dell'espressione di antigeni
- Camera calda per uso isotopi radioattivi (beta e gamma emittenti)
- Cappe biohazard, cappe chimiche
- Congelatori -80°C e contenitori azoto liquido

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Fondazione Berlucci - *Strategie immunoterapiche per il controllo della recidiva leucemica dopo trapianto di progenitori emopoietici*

Ministero della Salute - *Innovative therapeutic models for the treatment of hematological malignancies*

Ministero della Salute - *Nuovi approcci diagnostici come base molecolare per lo sviluppo di terapie innovative nella cura delle neoplasie ematologiche*

Pubblicazioni

Fogli M.-Mavilio D.-Brunetta E.-Varchetta S.-Ata K.-Roby G.-Kovacs C.-Follmann D.-Pende D.-Ward J.-Barker E.-Marcenaro E.-Moretta A.-Fauci A.

Lysis of endogenously infected CD4+ T cell blasts by rIL2 activated autologous natural killer cells from HIV infected viremic individuals.

PLoS Pathog. 4:7;1/7;13, 2008

Pende D.-Marcenaro S.-Falco M.-Martini S.-Bernardo M.-Montagna D.-Romeo E.-Cognet C.-Martinetti M.-Maccario R.-Mingari M.C.-Vivier E.-Moretta L.-Locatelli F.-Moretta A.

Anti leukemia activity of alloreactive NK cells in KIR ligand mismatched haploidentical HSCT for pediatric patients: evaluation of the functional role of activating KIR and redefinition of inhibitory KIR specificity.

Blood Epub Oct 22, 2008

Santoro A.-Cannella S.-Trizzino A.-Bruno G.-De Fusco C.-Notarangelo L.-Pende D.-Griffiths G.-Arico' M.

Mutations affecting mRNA splicing are the most common molecular defect in patients with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3.

Haematologica 93:1086/1090, 2008

Schmudde M.-Braun A.-Pende D.-Sonnemann J.-Klier U.-Beck J.-Moretta L.-Broker B.

Histone deacetylase inhibitors sensitize tumour cells for cytotoxic effects of natural killer cells.

Cancer Lett. 272:110/121, 2008

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torre A, piano 1.

ONCOLOGIA MOLECOLARE E ANGIOGENESI

struttura semplice

Direttore ad interim: Prof.ssa Maria Cristina Mingari (*universitario convenzionato*)

Dirigenti: Nicoletta Ferrari, Michele Lo Casto

CPS tecnici sanitari di laboratorio: Sebastiano Carlone, Claudio Malfatto

La struttura semplice Oncologia Molecolare e Angiogenesi afferisce alla struttura complessa Immunologia.

La struttura svolge attività di ricerca di base e preclinica, nonché didattica, collaborando con altre strutture d'Istituto, dell'Ateneo genovese e con importanti realtà nazionali ed internazionali.

Le attività di ricerca, aventi come obiettivo prioritario lo studio dell'angiogenesi e del microambiente tumorale sia dal punto di vista biologico - individuando i fenomeni che portano alla progressione tumorale - sia applicando modelli preclinici di chemio prevenzione e terapia, riguardano in particolare:

- applicazione di protocolli angiopreventivi (chemioprevenzione dell'angiogenesi) in vivo ed in vitro basati su molecole naturali e di sintesi
- studio del microambiente tumorale ed identificazione del suo ruolo nella genesi e progressione della neoplasia (colon, prostata)
- studio dell'ipossia e della trasduzione del segnale modulata da radicali liberi quali fattori di promozione tumorale target di terapia
- regolazione metabolica di morte e sopravvivenza nella cellula tumorale

Metodiche

- Analisi correlate al processo di angiogenesi in vitro ed in vivo (migrazione ed invasione cellulare, apoptosi, crescita cellulare, tubulogenesi di cellule endoteliali, Matrigel plug assay, xenografts)
- Tecnologie avanzate per lo studio dell'espressione genica (Real Time PCR, microarray expression profiling)

Attrezzature

- Attrezzature per PCR
- Sistemi per elettroforesi (apparecchiature per gel di agarosio e di acrilammide, apparecchio per transfer da membrana (Western), ecc.).
- Apparecchiatura per dot blot.
- Lettore per piastre.
- Spettrofotometro.
- Microscopio rovesciato e normale a fluorescenza completo di fotocamera.
- Microtomo.
- Ultracentrifuga completa di parco rotori.
- Centrifughe preparative refrigerate.
- Cappe biohazard.
- Cappe chimiche.
- Incubatori CO₂.
- Congelatori -80°C.
- Contenitori azoto liquido

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Compagnia San Paolo - *Approccio integrato al miglioramento di diagnosi, prognosi e terapia del carcinoma prostatico*

Compagnia San Paolo - *Farmacogenetica dell'endocrino terapia del carcinoma mammario: i polimorfismi dei geni CYP19 e CYP2D6*

Compagnia San Paolo - *Il microambiente tumorale come bersaglio di terapie antineoplastiche innovative: identificazione dei fattori favorenti la progressione neoplastica e sviluppo di nuovi approcci terapeutici*

Istituto Superiore di Sanità - Programma Italia/USA "Malattie Rare" - *Tumor angiogenesis and inflammation as therapeutic targets of retinoblastoma*

Ministero della Salute - *Approccio integrato al miglioramento della terapia del carcinoma prostatico*

Ministero della Salute - *"Danger Factors" e redox extracellulare nella progressione neoplastica: possibili targets per lo sviluppo di terapie innovative*

Ministero della Salute - *Innovative therapeutic models for the treatment of hematological malignancies*

Ministero della Salute - *Microambiente tumorale: ruolo nella progressione neoplastica ed effetti sulle difese dell'ospite. Identificazione di nuovi bersagli per lo sviluppo di terapie innovative*

Ministero della Salute - *Targeting tumor-related immunosuppression for new combined approaches of immunotherapy*

Ministero della Salute - *Terapia antiangiogenetica dei tumori. Nuove prospettive di impiego della chemioterapia metronomica in associazione con inibitori endogeni e bersaglio mirati dell'angiogenesi*

Pubblicazioni

Bianco R.-Rosa R.-Damiano V.-Daniele G.-Gelardi T.-Garofalo S.- Tarallo V.-De Falco S.-Melisi D.-Benelli R.-Albini A.-Ryan A.- Ciardiello F.-Tortora G.
Vascular endothelial growth factor receptor/1 contributes to resistance to anti epidermal growth factor receptor drugs in human cancer cells.
Clin. Cancer Res. 14:5069/5080, 2008

Manduca P.-Castagnino A.-Lombardini D.-Marchisio S.-Soldano S.- Ulivi V.-Zanotti S.-Garbi C.-Ferrari N.- Palmieri D.
Role of MT1/MMP in the osteogenic differentiation.
Bone Epub Nov 5, 2008

Monteghirfo S.-Tosetti F.-Ambrosini C.-Stigliani S.-Pozzi S.- Frassoni F.-Fassina G.-Soverini S.-Albini A.-Ferrari N.

Antileukemia effects of xanthohumol in Bcr/Abl transformed cells involve nuclear factor/(kappa)B and p53 modulation.

Mol. Cancer Ther. 7:2692/2702, 2008

Palmieri D.-Astigiano S.-Barbieri O.-Ferrari N.-Marchisio S.-Ulivi V.-Volta C.-Manduca P.

Procollagen I COOH terminal fragment induces VEGF/A and CXCR4 expression in breast carcinoma cells.

Exp. Cell Res. 314:2289/2298, 2008

Vene' R.-Larghero P.-Arena G.-Sporn M.-Albini A.-Tosetti F.

Glycogen synthase kinase 3beta regulates cell death induced by synthetic triterpenoids.

Cancer Res. 68:6987/6996, 2008

Capacità di attrarre e formare ricercatori

Contrattisti: Roberto Benelli (gennaio-marzo e luglio-dicembre 2008), Stefano Monteghirfo, Roberta Vené (gennaio-maggio 2008)

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torre C, piano 4.

EMBRIOGENESI E TUMORIGENESI SU MODELLI ANIMALI

struttura semplice

Responsabile: *vacante*

Dirigenti: Simonetta Artigiano, Ottavia Barbieri (*universitario convenzionato*)

La struttura semplice Embriogenesi e Tumorigenesi su Modelli Animali afferisce alla struttura complessa Immunologia.

L'attività principale della struttura è quella di produrre, caratterizzare e studiare modelli transgenici di tumori umani. La struttura svolge le sue attività di ricerca collaborando principalmente con altre strutture dell'Istituto, con strutture Universitarie, con l'Istituto G. Gaslini, e con laboratori esterni nazionali ed internazionali. In particolare la caratterizzazione dei modelli murini prodotti viene effettuata tramite analisi istopatologiche, di immunoistochimica ed ibridazione in situ. Le principali attività del laboratorio riguardano:

- relazione tra embriogenesi e tumorigenesi
- elaborazione di modelli di terapia genica prenatale
- studi sulle "cancer stem cells" in modelli animali.

La struttura fornisce inoltre il servizio di produzione di topi transgenici, di genotipizzazione, di fenotipizzazione e di embryo transfer.

Metodiche

- Generazione di animali transgenici mediante microiniezione nel pronucleo di uova fecondate
- Microiniezione di cellule, virus o sostanze chimiche in embrioni murini postimpianto
- Tecniche di base di biologia molecolare e biochimica
- Immunoistochimica e ibridazione in situ su tessuti e in whole mount
- Colorazioni con X-gal su embrioni e tessuti per l'analisi dell'espressione genica
- Colorazioni di scheletri con alcian blu e alizarina e whole mount di ghiandole mammarie murine
- Colture di cellule staminali embrionali murine

Attrezzature

- Due stazioni di microiniezione, una con microscopio rovesciato, apparato di micromanipolazione e pompa Eppendorf, una con stereomicroscopio operatorio e micromanipolatori
- Stereomicroscopi, pipet puller e microforge
- Sistemi per elettroforesi (apparecchiature per gel di agarosio e di acrilammide, apparecchio per elettroblotting, elettroeluitore, ecc.)
- Apparecchiatura per dot blot
- Attrezzature per PCR
- Incubatore per batteri
- Cappa biohazard
- Cappe chimiche
- Attrezzatura completa per colture cellulari
- Congelatore -80°C
- Contenitore azoto liquido

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Compagnia San Paolo - *Approccio integrato al miglioramento di diagnosi, prognosi e terapia del carcinoma prostatico*

Pubblicazioni

Cocola C.-Sanzone S.-Astigiano S.-Pelucchi P.-Piscitelli E.- Vilardo L.-Barbieri O.-Bertoli G.-Reinbold R.-Zucchi I.

A rat mammary gland cancer cell with stem cell properties of self renewal and multi lineage differentiation.
Cytotechnology 58:25/32, 2008

Palmieri D.-Astigiano S.-Barbieri O.-Ferrari N.-Marchisio S.-Ulivi V.-Volta C.-Manduca P.

Procollagen I COOH terminal fragment induces VEGF/A and CXCR4 expression in breast carcinoma cells.
Exp. Cell Res. 314:2289/2298, 2008

Rotondo R.-Mastracci L.-Piazza T.-Barisione G.-Fabbi M.-Cassanello M.-Costa R.-Morandi B.-Astigiano S.-Cesario A.-Sormani M.-Ferlazzo G.-Grossi F.-Ratto G.B.-Ferrini S.-Frumento G.

Arginase 2 is expressed by human lung cancer, but it neither induces immune suppression, nor affects disease progression.

Int. J. Cancer 123:1108/1116, 2008

Suzuki K.-Haraguchi R.-Ogata T.-Barbieri O.-Alegria O.-Vieux M.-Nakagata N.-Ito M.-Mills A.-Kurita T.-Levi G.-Yamada G.

Abnormal urethra formation in mouse models of split hand/split foot malformation type 1 and type 4.
Eur. J. Hum. Genet. 16:36/44, 2008

Tasso R.-Augello A.-Carida' M.-Postiglione F.-Tibiletti M.- Bernasconi B.-Astigiano S.-Fais F.-Truini M.-Cancedda R.-Pennesi G.

Development of sarcomas in mice implanted with mesenchymal stem cells seeded onto bioscaffolds.
Carcinogenesis Epub Oct 9, 2008

Zucchi I.-Astigiano S.-Bertalot G.-Sanzone S.-Cocola C.-Pelucchi P.-Bertoli G.-Stehling M.-Barbieri O.-Albertini A.-Scholer H.-Neel B.-Reinbold R.-Dulbecco R.

Distinct populations of tumor initiating cells derived from a tumor generated by rat mammary cancer stem cells.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:16940/16945, 2008

Attività didattica universitaria e training

I dirigenti della struttura svolgono attività didattica per l'Università degli Studi di Genova nell'ambito di:

- Facoltà di Medicina e Chirurgia, Corso di Laurea in Educazione Professionale e Corso di Laurea in Tecniche di Neurofisiopatologia (insegnamento: Patologia generale), nonché Corso di Laurea in Igiene Dentale (insegnamento: Patologia clinica), Prof.ssa O. Barbieri

- Facoltà di Scienze MFN, Corso di Laurea in Scienze Biologiche (insegnamento: Organismi transgenici), Prof.ssa O. Barbieri
- Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie (insegnamento: Trasferimento genico), Prof.ssa O. Barbieri
- Scuola di Specializzazione in Oncologia (insegnamento: Oncologia molecolare), Prof.ssa O. Barbieri

Completano il proprio percorso formativo presso la struttura:

- tirocinanti pre-laurea della Facoltà di Scienze MFN, Corso di Laurea in Scienze Biologiche e del Corso Interfacoltà in Biotecnologie dell'Università degli Studi di Genova
- dottorandi in Medicina Interna Generale e Specialistica (indirizzo Oncologia) dell'Università degli Studi di Genova
- borsisti e assegnisti dell'Università degli Studi di Genova

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torre B, piano 0.

BIOLOGIA CELLULARE *struttura complessa*

Direttore: Dott.ssa Anna Rubartelli

Dirigenti: Enrica Balza, Laura Borsi, Patrizia Castellani, Francesca Tosetti
CPS tecnici sanitari di laboratorio: Massimo Ardy, Laura Delfino, Caterina Pellecchia

La struttura complessa Biologia Cellulare svolge attività di ricerca di base e preclinica in immunologia e biologia cellulare. Il gruppo ha competenze specifiche nello studio dei meccanismi di secrezione classica e non classica delle proteine, nello studio delle interazioni tra immunità innata e acquisita, nella caratterizzazione di anticorpi monoclonali e ricombinanti mediante immunoistochimica.

Obiettivo principale del laboratorio è capire come le interazioni cellulari e la secrezione regolata di citochine modulino la risposta immuno-infiammatoria in corso di neoplasia. Inoltre, il gruppo si prefigge di identificare citochine/danger factors sovraespressi in tumori umani primari e di caratterizzarne il ruolo nella progressione neoplastica.

L'attività di ricerca della struttura si articola nei seguenti progetti:

- studio del ruolo della secrezione regolata di citochine senza sequenza segnale ("leaderless") nella risposta immuno-infiammatoria
- studio dei meccanismi che regolano l'attivazione e secrezione di citochine "leaderless" e sviluppo di terapie di controllo della secrezione
- studio di espressione, localizzazione tissutale e subcellulare di citochine "leaderless"/danger factors in tumori umani primari
- studio del ruolo del potenziale redox extracellulare nella progressione neoplastica e nella risposta immune antitumore
- ricerca e caratterizzazione di nuovi antigeni associati alla matrice extracellulare dei tumori da utilizzare come target a scopo diagnostico e terapeutico

Inoltre, la struttura ha acquisito la strumentazione e l'expertise necessari per l'analisi proteomica (2D Gel Elettroforesi, Cromatografia Bidimensionale in fase liquida, Spettrometria di Massa).

Metodiche

- Estrazione e separazione delle proteine utilizzando varie tecniche cromatografiche
- 1D e 2D SDS-PAGE
- Colorazioni specifiche (visibile e fluorescenza) per acquisizione dei 2D-gel e analisi di immagine mediante software dedicati
- Preparazione dei campioni per analisi in spettrometria di massa: spot picking, digestione enzimatica

- Immunoblotting
- ELISA
- Immunoistochimica
- Immunofluorescenza, "imaging", analisi confocale
- Caratterizzazione di anticorpi monoclonali murini e ricombinanti umani mediante immunoistochimica e studi di affinità di legame fra molecole (antigene-anticorpo, BIACORE)
- Colture cellulari
- Purificazione di sottopopolazioni cellulari mediante centrifugazione su gradienti di densità, FACS, immunodeplezione
- Frazionamenti subcellulari e purificazione di organelli mediante ultracentrifugazione su gradienti di densità o FACS

Attrezzature

- Apparecchi elettroforetici di vario tipo per acidi nucleici e proteine (1D e 2D-gel-elettroforesi, Western Blot)
- Apparecchio PCR
- Attrezzatura completa per colture cellulari
- Attrezzatura per cromatografia (affinità, gel filtrazione/FPLC, scambio ionico)
- BIACORE
- Cappe chimiche e biohazard
- Centrifughe, ultracentrifuga da banco
- Contenitori azoto liquido
- Criostato
- Gamma-counter
- Incubatori e cappa sterile per batteriologia
- Lettore ELISA
- Light scattering
- Scanner, software per l'analisi di immagine di 2D-gel
- Spettrofotometro

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Alleanza Contro il Cancro - - Programma 3 - Trasferimento delle conoscenze allo sviluppo di interventi volti a prevenire, diagnosticare e trattare il cancro (triali nazionali in terapie innovative e in prevenzione, e in terapie non d'interesse industriale in collaborazione con AIFA) - *Sviluppo di nuove terapie nei sarcomi muscoloscheletrici: immunoterapia e target terapia a confronto*

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Cross-talk among immune cells: role of short range cytokine secretion in the generation of anti tumor immunità*

Compagnia San Paolo - *Il microambiente tumorale come bersaglio di terapie antineoplastiche innovative: identificazione dei fattori favorevoli la progressione neoplastica e sviluppo di nuovi approcci terapeutici*

Istituto Superiore di Sanità - Programma Italia/USA "Farmacogenomica Oncologica" - *Analisi del fosfoproteoma in carcinomi del polmone e della mammella mediante 2D HPLC-MS*

Istituto Superiore di Sanità - Programma Italia/USA "Malattie Rare" - *Cytokine/based immunotherapy and subversion of tumor/related immunosuppression in preclinical models of cutaneous and ocular melanoma*

Istituto Superiore di Sanità - Programma Italia/USA "Malattie Rare" - *Tumor angiogenesis and inflammation as therapeutic targets of retinoblastoma*

Ministero della Salute - *"Danger Factors" e redox extracellulare nella progressione neoplastica: possibili targets per lo sviluppo di terapie innovative*

Ministero della Salute - *Innovative therapeutic models for the treatment of hematological malignancies*

Ministero della Salute - *Microambiente tumorale: ruolo nella progressione neoplastica ed effetti sulle difese dell'ospite. Identificazione di nuovi bersagli per lo sviluppo di terapie innovative*

Ministero della Salute - *Targeting tumor-related immunosuppression for new combined approaches of immunotherapy*

Telethon - *Tumor-necrosis factor receptor associated periodic syndrome (TRAPS): new insights into pathogenesis of the disease and response to anti-IL-1 treatment in childhood*

Studi clinici con arruolamento in corso nel 2008

"Danger Factors" e redox del microambiente tumorale: ruolo nella progressione neoplastica, identificazione di targets per lo sviluppo di terapie innovative [rif. 10154]

Pubblicazioni

Berndt An.-Muller J.-Borsi L.-Kosmehl H.-Methner U.-Berndt A.
Reorganisation of the caecal extracellular matrix upon Salmonella infection. Relation between bacterial invasiveness and expression of virulence genes.
Vet. Microbiol. Epub Jul 4, 2008

Castellani P.-Angelini G.-Delfino L.-Matucci A.-Rubartelli A.
The thiol redox state of lymphoid organs is modified by immunization: role of different immune cell populations.
Eur. J. Immunol. 38:2419/2425, 2008

Ceccarelli J.-Delfino L.-Zappia E.-Castellani P.-Borghi M.-Ferrini S.-Tosetti F.-Rubartelli A.
The redox state of the lung cancer microenvironment depends on the levels of thioredoxin expressed by tumor cells and affects tumor progression and response to prooxidants.
Int. J. Cancer 123:1770/1778, 2008

Ferwerda G.-Kramer M.-De Jong D.-Piccini A.-Joosten L.-Devesaginer I.-Girardin S.-Adema G.-Van Der Meer J.-Kullberg B.-Rubartelli A.-Netea M.
Engagement of NOD2 has a dual effect on proIL1beta mRNA transcription and secretion of bioactive IL1beta.
Eur. J. Immunol. 38:184/191, 2008

Gattorno M.-Piccini A.-Lasiglie' D.-Tassi S.-Brisca G.-Carta S.- Delfino L.-Ferlito F.-Pelagatti M.-Caroli F.-Buoncompagni A.-Viola S.-Loy A.-Sironi M.-Vecchi A.-Ravelli A.-Martini A.-Rubartelli A.
The pattern of response to anti/interleukin/1 treatment distinguishes two subsets of patients with systemic onset juvenile idiopathic arthritis.
Arthritis Rheum. 58:1505/1515, 2008

Leipner C.-Grun K.-Muller A.-Buchdunger E.-Borsi L.-Kosmehl H.- Berndt A.-Janik T.-Uecker A.-Kiehntopf M.-Bohmer F.
Imatinib mesylate attenuates fibrosis in coxsackievirus B3 induced chronic myocarditis.
Cardiovasc. Res. 79:118/126, 2008

Monteghirfo S.-Tosetti F.-Ambrosini C.-Stigliani S.-Pozzi S.- Frassoni F.-Fassina G.-Soverini S.-Albini A.-Ferrari N.
Antileukemia effects of xanthohumol in Bcr/Abl transformed cells involve nuclear factor/(kappa)B and p53 modulation.
Mol. Cancer Ther. 7:2692/2702, 2008

Netea M.-Nold Petry C.-Nold M.-Joosten L.-Opitz B.-Van Der Meer J.- Van De Veerdonk F.-Ferwerda G.-Heinhuis B.-Devesa I.-Funk C.-Mason R.-Kullberg B.-Rubartelli A.-Van Der Meer J.-Dinarello C.
Differential requirement for the activation of the inflammasome for processing and release of IL1(beta) in monocytes and macrophages.
Blood Epub Dec 22, 2008

Piccini A.-Carta S.-Tassi S.-Lasiglie' D.-Fossati G.-Rubartelli A.
ATP is released by monocytes stimulated with pathogen sensing receptor ligands and induces IL1beta and IL18 secretion in an autocrine way.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:8067/8072, 2008

Rubartelli A.-Sitia R.

Stress as an intercellular signal: the emergence of stress associated molecular patterns (SAMP).

Antioxid. Redox Signal. Epub Dec 29, 2008

Vene' R.-Larghero P.-Arena G.-Sporn M.-Albini A.-Tosetti F.

Glycogen synthase kinase 3beta regulates cell death induced by synthetic triterpenoids.

Cancer Res. 68:6987/6996, 2008

Villa A.-Trachsel E.-Kaspar M.-Schliemann C.-Sommavilla R.-Rybak J.-Rosli C.-Borsi L.-Neri D.

A high affinity human monoclonal antibody specific to the alternatively spliced EDA domain of fibronectin efficiently targets tumor neo vasculature in vivo.

Int. J. Cancer 122:2405/2413, 2008

Capacità di attrarre e formare ricercatori

Contrattisti: Roberto Benelli (aprile-giugno 2008), Sonia Carta, Alessandra Piccini, Sara Tassi, Roberta Vené (maggio-dicembre 2008)

Attività didattica universitaria e training

Completano il proprio percorso formativo presso la struttura:

- tirocinanti pre-laurea del Corso di Laurea in Scienze Biologiche dell'Università degli Studi di Genova
- laureandi del Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie dell'Università degli Studi di Genova
- dottorandi in Medicina Interna Generale e Specialistica (indirizzo: Oncologia) dell'Università degli Studi di Genova
- borsisti

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torri A e C, piano 2.

TRASFERIMENTO GENICO

struttura complessa

Direttore: Prof. Giorgio Corte (*universitario convenzionato*)

Dirigenti: Paola Briata, Patrizio Castagnola, Antonio Daga, Daniela De Totero, Roberto Favoni, Roberto Gherzi, Paolo Malatesta (*universitario convenzionato*)

CPS tecnici sanitari di laboratorio: Maria Cristina Capra, Arrigo Massa, Marco Ponassi

Personale amministrativo e tecnico: Renata Scarzello, Daniela Marubbi (*universitario convenzionato*)

La struttura complessa Trasferimento Genico studia il ruolo delle cellule staminali tumorali e delle alterazioni dell'espressione genica coinvolte nelle neoplasie, in particolare del sistema nervoso e del mesotelioma, allo scopo di identificare nuovi marcatori diagnostici e prognostici e nuovi bersagli terapeutici.

Le attività di ricerca riguardano in particolare:

- studio dei geni che regolano differenziamento e proliferazione delle cellule staminali, in particolare neurali
- caratterizzazione delle cellule staminali tumorali di neoplasie del sistema nervoso, in particolare del glioblastoma
- identificazione di geni coinvolti nella progressione neoplastica del glioblastoma
- caratterizzazione delle cellule staminali tumorali del mesotelioma
- identificazione di geni coinvolti nella progressione neoplastica del mesotelioma
- stimolazione della risposta immunitaria verso bersagli specifici espressi dal mesotelioma
- stimolazione della risposta immunitaria verso bersagli specifici espressi dai glioblastomi
- studio dei meccanismi che regolano l'espressione genica a livello dell'mRNA e delle loro alterazioni nelle neoplasie

Metodiche

- *TAP (Tandem Affinity Purification) Method*. Metodo messo a punto per la purificazione di fattori di splicing in lievito e recentemente adattato alle cellule di mammifero, consente la purificazione di complessi multiproteici in forma nativa sfruttando un doppio "tag" fuso alla proteina di interesse che viene espressa in seguito a transfezione stabile. La successiva identificazione delle proteine isolate, presenti anche in quantità minime in bande tagliate da SDS-PAGE, può essere effettuata mediante spettrometria di massa.
- *RDA (Representational Difference Analysis)*. Metodo che consente di paragonare due popolazioni di cDNA che differiscono solo per l'espressione di alcuni geni. L'uso di successivi cicli di PCR consente di utilizzare quantità minime di RNA messaggero (ad esempio estratto da tessuti embrionali di topo).
- *ChIP (Chromatin Immunoprecipitation)*. Tecnica che consente di studiare i fattori di trascrizione che si legano a un determinato promotore e ne regolano l'attività in diverse condizioni sperimentali, avvalendosi dell'uso di anticorpi diretti contro tali fattori di trascrizione e di una reazione di immunoprecipitazione della cromatina seguita da una reazione di PCR che utilizza specifici primer.
- *In vitro degradation assay*. Consiste nel determinare la velocità di degradazione di mRNA sintetizzati in vitro da parte di estratti cellulari S100. Riproduce fedelmente i fenomeni biologici che portano alla completa degradazione dell'RNA messaggero. La tecnica descritta originalmente da J. Wilusz e collaboratori è stata perfezionata per consentire di duplicare in vitro la regolazione del turn-over di mRNA instabili da parte delle vie di trasmissione del segnale quali JNK, MAPK p38 ecc. (Chen C., Gherzi R. et al. *Genes Dev.* 14:1236/1248, 2000).
- *RIP (Ribonucleoprotein immunoprecipitation)*. Consiste nell'immunoprecipitare complessi proteina-mRNA quali si formano in cellule viventi sottoposte a svariati tipi di trattamento. Vengono individuati mediante RT/PCR i trascritti con cui una determinata proteina (o un complesso multiproteico) interagisce al momento della fissazione delle cellule. La metodica consente di sfruttare i vantaggi della fissazione con formaldeide, estensivamente sperimentata negli saggi di Chromatin Immunoprecipitation (ChIP), applicandola alla immunoprecipitazione di complessi proteina-mRNA precedentemente descritti (Chen C., Gherzi R. et al. *Genes Dev.* 14:1236/1248, 2000). In particolare la tecnica consente lavaggi degli immunocomplessi in condizioni di estrema stringenza, minimizzando la possibilità di ottenere prodotti non specifici in seguito a RT/PCR.

Attrezzature

- FPLC
- PCR
- Microscopi da ricerca in campo chiaro e a fluorescenza
- Micromanipolatori per microiniezione
- Cappe a flusso laminare
- Incubatori a CO₂
- Incubatori per batteri
- Incubatori per la produzione di Baculovirus
- Sistemi elettroforetici per proteine e acidi nucleici
- Apparecchio per iniezione in stereotassi
- Sonicatore
- Centrifughe
- Congelatori a -80° C e ad azoto liquido

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *mRNA turnover and cancer*

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro / NUSUG - *In vivo screening for genes implicated in glioma formation and development of new animal model of glial tumors*

Compagnia San Paolo - *Diagnostica precoce dei tumori del colon retto: dalla comprensione dei meccanismi di instabilità cromosomica all'applicazione clinica*

Fondazione Buzzi/Unicum - *Isolation, characterization and therapeutic implication of mesothelioma stem cell*

Istituto Superiore di Sanità - Programma Italia/USA "Malattie Rare" - *Molecular targets of Pitx2 in the pathogenesis of Azenfelk Rieger syndrome*

Istituto Superiore di Sanità - Programma Italia/USA "Farmacogenomica Oncologica" - *MicroRNA e loro geni target nella genesi di linfomi e neoplasie colo-rettali*

Ministero della Salute - *Innovative therapeutic models fo the treatment of hematological malignancies*

Pubblicazioni

Aluigi M.-Angelini C.-Corte G.-Falugi C.

The sea urchin, Paracentrotus lividus, embryo as a bioethical model for neurodevelopmental toxicity testing. Effects of diazinon on the intracellular distribution of OTX2 like proteins.

Cell Biol. Toxicol. 24:587/601, 2008

Appolloni I.-Calzolari F.-Tutucci E.-Caviglia S.-Terrile M.-Corte G.-Malatesta P.

PDGF/B induces a homogeneous class of oligodendrogliomas from embryonic neural progenitors.

Int. J. Cancer Epub Dec 4, 2008

Bertino P.-Piccardi F.-Porta C.-Favoni R.-Cilli M.-Mutti L.-Gaudino G.

Imatinib mesylate enhances therapeutic effects of gemcitabine in human malignant mesothelioma xenografts.

Clin. Cancer Res. 14:541/548, 2008

Calzolari F.-Appolloni I.-Tutucci E.-Caviglia S.-Terrile M.-Corte G.-Malatesta P.

Tumor progression and oncogene addiction in a PDGF/B induced model of gliomagenesis.

Neoplasia 10:1373/1382, 2008

Gangemi R.M.-Griffero F.-Marubbi D.-Perera M.-Capra M.C.-Malatesta P.-Ravetti G.-Zona G.-Daga A.-Corte G.

SOX2 silencing in glioblastoma tumor initiating cells causes stop of proliferation and loss of tumorigenicity.

Stem Cells Epub Oct 23, 2008

Monticone M.-Biollo E.-Maffei M.-Donadini A.-Romeo F.-Storlazzi C.- Giaretti W.-Castagnola P.

Gene expression deregulation by KRAS G12D and G12V in a BRAF V600E context.

Mol. Cancer 7:92;1/92;12, 2008

Neumaier C.-Baio G.-Ferrini S.-Corte G.-Daga A.

MR and iron magnetic nanoparticles. Imaging opportunities in preclinical and translational research.

Tumori 94:226/233, 2008

Marcoli M.-Candiani S.-Tonachini L.-Monticone M.-Mastrogiacomo M.- Ottonello A.-Cervetto C.-Paluzzi P.-Maura G.-Pestarino M.-Cancedda R.-Castagnola P.

In vitro modulation of gamma amino butyric acid (GABA) receptor expression by bone marrow stromal cells.

Pharmacol. Res. 57:374/382, 2008

Muraglia A.-Perera M.-Verardo S.-Liu Y.-Cancedda R.-Quarto R.- Corte G.

DLX5 overexpression impairs osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells.

Eur. J. Cell Biol. 87:751/761, 2008

Nechama M.-Ben Dov I.-Briata P.-Gherzi R.-Naveh Many T.

The mRNA decay promoting factor K/homology splicing regulator protein post transcriptionally determines parathyroid hormone mRNA levels.

FASEB J. 22:3458/3468, 2008

Pastorino F.-Di Paolo D.-Piccardi F.-Nico B.-Ribatti D.-Daga A.- Baio G.-Neumaier C.-Brignole C.-Loi M.-Marimpietri D.-Pagnan G.- Cilli M.-Lepekhin E.-Garde S.-Longhi R.-Corti A.-Allen T.-Wu J.- Ponzoni M.

Enhanced antitumor efficacy of clinical grade vasculature targeted liposomal doxorubicin.

Clin. Cancer Res. 14:7320/7329, 2008

Pattarozzi A.-Gatti M.-Barbieri F.-Wurth R.-Porcile C.-Lunardi G.-Ratto A.-Favoni R.-Bajetto A.-Ferrari A.-Florio T.

17beta/estradiol promotes breast cancer cell proliferation inducing stromal cell derived factor/1 mediated epidermal growth factor receptor transactivation: reversal by gefitinib pretreatment.

Mol. Pharmacol. 73:191/202, 2008

Pinto L.-Mader M.-Irmeler M.-Gentilini M.-Santoni F.-Drechsel D.- Blum R.-Stahl R.-Bulfone A.-Malatesta P.-Beckers J.-Gotz M.

Prospective isolation of functionally distinct radial glial subtypes. Lineage and transcriptome analysis.

Mol. Cell. Neurosci. 38:15/42, 2008

Ponassi R.-Biasotti B.-Tomati V.-Bruno S.-Poggi A.-Malacarne D.- Cimoli G.-Salis A.-Pozzi S.-Miglino M.-Damonte G.-Cozzini P.- Spyraiki F.-Campanini B.-Bagnasco L.-Castagnino N.-Tortolina L.- Mumot A.-Frassoni F.-Daga A.-Cilli M.-Piccardi F.-Monfardini I.- Perugini M.-Zoppoli G.-D'arrigo C.-Pesenti R.-Parodi S.

A novel Bim/BH3 derived Bcl/X(L) inhibitor. Biochemical characterization, in vitro, in vivo and ex vivo anti leukemic activity.

Cell Cycle 7:3211/3224, 2008

Viale M.-Cordazzo C.-Cosimelli B.-De Toter D.-Castagnola P.- Aiello C.-Severi E.-Petrillo G.-Cianfriglia M.-Spinelli D.

Inhibition of MDR1 activity in vitro by a novel class of diltiazem analogues: toward new candidates.

J. Med. Chem. Epub Dec 18, 2008

Viale M.-Petrillo G.-Maccagno M.-Castagnola P.-Aiello C.-Cordazzo C.-Mariggio' M.-Jadhav S.-Bianchi L.-Leto G.-Rizzato E.-Poggi A.- Spinelli D.

Sensitivity of different resistant tumour cell lines to the two novel compounds (2Z,4E)/2/methylsulfanyl/5/(1/naphthyl)/4/nitro/2,4 /pentadienoate and (1E,3E)/1,4/bis(2/naphthyl)/2,3/dinitro/1,3/buta diene.

Eur. J. Pharmacol. 588:47/51, 2008

Libri e capitoli di libro

De Toter D.-Ferrini S.

Chronic lymphocytic leukemia: receptors and cytokines modulating apoptosis and survival.

In Chronic lymphocytic leukemia: new research. Ed. Ines B Moreau, pp.191-219

Nova Science Publishers, 2008

Capacità di attrarre e formare ricercatori

Contrattisti: Fabrizio Griffero

Attività didattica universitaria e training

I dirigenti della struttura svolgono attività didattica per l'Università di Genova, nell'ambito di:

- Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia (Insegnamento Biologia Molecolare), Prof. G. Corte
- Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie (Insegnamento Biologia Molecolare I° e II°), Prof. G. Corte, Prof. P. Malatesta
- Facoltà di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali (Insegnamento Differenziamento Cellulare), Dott. P. Castagnola

Nell'ambito della collaborazione con l'Università degli Studi di Genova, presso la struttura completano il proprio percorso formativo:

- tirocinanti pre laurea della Facoltà di Scienze MFN, Corso di Laurea in Scienze Biologiche
- laureandi del Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie
- dottorandi in Medicina Interna Generale e Specialistica (indirizzo: Oncologia)
- dottorandi in Biologia e Medicina Sperimentale, Molecolare e Clinica (indirizzo: Biotecnologie)
- dottorandi in Medicina Rigenerativa e Ingegneria dei Tessuti

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torri A e B, piano 3.

TERAPIA IMMUNOLOGICA

struttura complessa

Direttore: Dott. Silvano Ferrini

Dirigenti: Marina Fabbi, Rosaria Maria Gangemi, Anna Maria Orengo, Maurizio Viale
CPS tecnico sanitario di laboratorio: Cinzia Aiello

La struttura complessa Terapia Immunologica svolge ricerche nel settore dell'immunologia dei tumori, con particolare riferimento a studi pre-clinici di nuove forme di immunoterapia e a studi "clinico-traslazionali" e studi clinici, sviluppati in collaborazione con strutture cliniche dell'IST.

In particolare si occupa di:

- studio di vaccini cellulari o molecolarmente definiti e di nuovi adiuvanti nell'immunoterapia in modelli sperimentali murini
- studio dei meccanismi di immunosoppressione e di "fuga" del tumore dal controllo del sistema immunitario
- studio di nuove molecole citotossiche ad attività anti-tumorale e loro effetto sull'immunosoppressione neoplastica
- studio di anticorpi monoclonali convenzionali e ricombinanti nella immunoterapia e immunodiagnosi dei tumori
- studio di molecole solubili (in particolare interleuchine) in grado di stimolare risposte del sistema immunitario: loro ruolo nell'immunoterapia dei tumori e nella eziopatogenesi delle neoplasie linfoidi, anche in relazione al loro effetto sulla componente staminale
- partecipazione allo sviluppo di nuovi protocolli clinici di immunoterapia dei tumori e studio di parametri immunologici in pazienti sottoposti a terapia
- ruolo di molecole di adesione e di citochine nella eziopatogenesi del carcinoma ovarico e studio del loro possibile impiego come marcatori o target per terapia

Metodiche

- Produzione di anticorpi monoclonali murini
- Selezione di anticorpi ricombinanti da librerie fagiche
- Tecniche di base di biologia molecolare (preparazione di plasmidi, RT-PCR, Southern e northern blot, produzione di proteine ricombinanti in eucarioti o procarioti e loro purificazione mediante cromatografia di affinità, test di funzionalità di promotori mediante CAT-ELISA o luciferasi)
- Generazione di costrutti chimerici scFv/citochina
- Mutagenesi sito specifica
- Assemblaggio e produzione di vettori plasmidici di espressione per trasfezione o vaccini a DNA
- Studio di fattori trascrizionali mediante EMSA o affinità su DNA immobilizzato
- Tecniche biochimiche convenzionali (western blot, immunoprecipitazione, immunoprecipitazione preparativa per spettrometria di massa, purificazione mediante cromatografia etc.) e elettroforesi bidimensionale
- Microscopia a fluorescenza e confocale
- Analisi citofluorimetrica di marcatori di membrana e apoptosi
- Tecniche di base in colture cellulari (linee continue e colture primarie)
- Separazione immunomagnetica di cellule e di acidi nucleici
- Tecniche immunologiche di base (clonaggio di linfociti T, test di funzionalità linfocitaria: proliferazione, produzione di citochine mediante test biologici, ELISA o elispot, test CTL)
- Test di tumorigenicità e modelli preclinici di tumori trapiantabili nell'animale
- Vaccinazione a DNA mediante elettroporazione in vivo
- Test tossicologici in vivo

Attrezzature

- Attrezzatura standard per colture cellulari, biologia molecolare e colture batteriche
- Citofluorimetro FACScan
- Spettrofluorimetro accessoriatato per analisi di flussi Ca⁺⁺ in cellule
- Spettrofotometro
- Lettore ELISA multiscan
- Gamma-counter
- Elettroporatore standard e a onda quadra per elettroporazione in vivo
- Microscopio ottico e a fluorescenza
- Super e ultracentrifuga
- Spettrometria di assorbimento atomico

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Alleanza contro il cancro - - Programma 3 - Trasferimento delle conoscenze allo sviluppo di interventi volti a prevenire, diagnosticare e trattare il cancro (trials nazionali in terapie innovative e in prevenzione, e in terapie non d'interesse industriale in collaborazione con AIFA) - *Terapie biologiche combinate e personalizzate nei tumori solidi: studi di fase I-II*

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Novel cytokines and their combinations in tumor immunotherapy: mechanistic studies and targeted delivery*

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Regulation of neoplastic B cell survival by cytokines: signaling pathways and targets for therapy*

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Role of Ig-CAM and ADAM17/TACE in epithelial ovarian cancer peritoneal dissemination*

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Role of Schwann stromal cells in growth and dissemination of malignant neuroblasts of neuroblastic tumors*

Compagnia San Paolo - *Approccio integrato al miglioramento di diagnosi, prognosi e terapia del carcinoma prostatico*

Compagnia San Paolo - *Il microambiente tumorale come bersaglio di terapie antineoplastiche innovative: identificazione dei fattori favorevoli la progressione neoplastica e sviluppo di nuovi approcci terapeutici*

Compagnia San Paolo - *Realizzazione di un modello in vitro ed in vivo per lo studio di cellule staminali tumorali di carcinoma polmonare (NSCLC) al fine di sviluppare nuovi approcci terapeutici*

Fondazione CARIGE - *Realizzazione di un modello predittivo basato sull'individuazione di marcatori biologici che consentano di selezionare, in una popolazione di pazienti operati per tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC) in stadio precoce, coloro che potrebbero maggiormente beneficiare di un trattamento chemioterapico adiuvante*

Fondazione Neuroblastoma - *Inibitori delle Deacetilasi nella terapia del neuroblastoma chemioresistente*

Istituto Superiore di Sanita' - Programma Italia/USA Malattie Rare - *Cytokine/based immunotherapy and subversion of tumor/related immunosuppression in preclinical models of cutaneous and ocular melanoma*

Ministero dell'Istruzione, Università e Ricerca - Progetti PRIN 2007 - *Progettazione, sintesi e attività biologica di inibitori di metalloenzimi coinvolti nelle patologie neurodegenerative, infiammatorie e tumorali*

Ministero della Salute - *Approccio integrato al miglioramento della terapia del carcinoma prostatico*

Ministero della Salute - *"Danger Factors" e redox extracellulare nella progressione neoplastica: possibili targets per lo sviluppo di terapie innovative*

Ministero della Salute - *Microambiente tumorale: ruolo nella progressione neoplastica ed effetti sulle difese dell'ospite. Identificazione di nuovi bersagli per lo sviluppo di terapie innovative*

Ministero della Salute - *Progetto oncologico di medicina molecolare: i tumori femminili*

Ministero della Salute - *Targeting tumor-related immunosuppression for new combined approaches of immunotherapy*

Studi clinici con arruolamento in corso nel 2008

Studio dell'immunogenicità di melanomi umani e di fattibilità di vaccini cellulari autologhi [rif. 10240]

Pubblicazioni

Alama A.-Viale M.-Cilli M.-Bruzzo C.-Novelli F.-Tasso B.-Sparatore F.
In vitro cytotoxic activity of tri/n-butyltin(IV)lupinylsulfide hydrogen fumarate (IST/FS 35) and preliminary antitumor activity in vivo.
Invest. New Drugs Epub Jun 19, 2008

Arina A.-Murillo O.-Dubrot J.-Azpilikueta A.-Gabari I.-Perez J.-Alfaro C.-Berasain C.-Prieto J.-Ferrini S.-Hervas S.-Melero I.
Interleukin/15 liver gene transfer increases the number and function of IKDCs and NK cells.
Gene Ther. 15:473/483, 2008

Ceccarelli J.-Delfino L.-Zappia E.-Castellani P.-Borghi M.-Ferrini S.-Tosetti F.-Rubartelli A.
The redox state of the lung cancer microenvironment depends on the levels of thioredoxin expressed by tumor cells and affects tumor progression and response to prooxidants.
Int. J. Cancer 123:1770/1778, 2008

Croce M.-Meazza R.-Orengo A.-Fabbi M.-Borghi M.-Ribatti D.-Nico B.- Carlini B.-Pistoia V.-Corrias M.-Ferrini S.
Immunotherapy of neuroblastoma by an interleukin/21 secreting cell vaccine involves survivin as antigen.
Cancer Immunol. Immunother. 57:1625/1634, 2008

Cutrona G.-Colombo M.-Matis S.-Fabbi M.-Spriano M.-Callea V.-Vigna E.-Gentile M.-Zupo S.-Chiorazzi N.-Morabito F.-Ferrarini M.
Clonal heterogeneity in chronic lymphocytic leukemia cells: superior response to surface IgM cross linking in CD38, ZAP/70 positive cells.
Haematologica 93:413/422, 2008

De Lerma Barbaro A.-De Ambrosis A.-Banelli B.-Li Pira G.-Aresu O.- Romani M.-Ferrini S.-Accolla R.
Methylation of CIITA promoter IV causes loss of HLA/II inducibility by IFN(gamma) in promyelocytic cells.
Int. Immunol. 20:1457/1466, 2008

Fenoglio C.-Grosso A.-Petrillo G.-Boncompagni E.-Aiello C.- Cordazzo C.-Spinelli D.-Ognio E.-Mariggio' M.-Cassano A.-Viale M.
A histochemical approach to the evaluation of the in vivo cytotoxicity of the nitrobutadienes (1E,3E)/1,4/bis(1/naphthyl)/2,3/dinitro/1,3/butadiene and methyl (2Z,4E)/2/methylsulfanyl/5/(1/naphthyl)/4/nitro/2,4/pentadienoate in mice liver and kidney.
Anticancer Res. 28:813/823, 2008

Gangemi R.M.-Griffero F.-Marubbi D.-Perera M.-Capra M.C.-Malatesta P.-Ravetti G.-Zona G.-Daga A.-Corte G.
SOX2 silencing in glioblastoma tumor initiating cells causes stop of proliferation and loss of tumorigenicity.
Stem Cells Epub Oct 23, 2008

Giuliani M.-Giron Michel J.-Negrini S.-Vacca P.-Durali D.-Caignard A.-Le Bousse C.-Chouaib S.-Devocelle A.-Bahri R.-Durrbach A.- Taoufik Y.-Ferrini S.-Croce M.-Mingari M.C.-Moretta L.-Azzarone B.
Generation of a novel regulatory NK cell subset from peripheral blood CD34+ progenitors promoted by membrane bound IL/15.
PLoS ONE 3:e2241;1/e2241;16, 2008

Mezzanzanica D.-Fabbi M.-Bagnoli M.-Staurengo S.-Losa M.-Balladore E.-Alberti P.-Lusa L.-Ditto A.-Ferrini S.-Pierotti M.-Barbareschi M.-Pilotti S.-Canevari S.

Subcellular localization of activated leukocyte cell adhesion molecule is a molecular predictor of survival in ovarian carcinoma patients.

Clin. Cancer Res. 14:1726/1733, 2008

Neumaier C.-Baio G.-Ferrini S.-Corte G.-Daga A.

MR and iron magnetic nanoparticles. Imaging opportunities in preclinical and translational research.

Tumori 94:226/233, 2008

Rotondo R.-Mastracci L.-Piazza T.-Barisione G.-Fabbi M.-Cassanello M.-Costa R.-Morandi B.-Astigiano S.-Cesario A.-Sormani M.-Ferlazzo G.-Grossi F.-Ratto G.B.-Ferrini S.-Frumento G.

Arginase 2 is expressed by human lung cancer, but it neither induces immune suppression, nor affects disease progression.

Int. J. Cancer 123:1108/1116, 2008

Viale M.-Cordazzo C.-Cosimelli B.-De Toter D.-Castagnola P.- Aiello C.-Severi E.-Petrillo G.-Cianfriglia M.-Spinelli D.

Inhibition of MDR1 activity in vitro by a novel class of diltiazem analogues: toward new candidates.

J. Med. Chem. Epub Dec 18, 2008

Viale M.-Petrillo G.-Maccagno M.-Castagnola P.-Aiello C.-Cordazzo C.-Mariggio' M.-Jadhav S.-Bianchi L.-Leto G.-Rizzato E.-Poggi A.- Spinelli D.

Sensitivity of different resistant tumour cell lines to the two novel compounds (2Z,4E)/2/methylsulfanyl/5/(1/naphthyl)/4/nitro/2,4 /pentadienoate and (1E,3E)/1,4/bis(2/naphthyl)/2,3/dinitro/1,3/buta diene.

Eur. J. Pharmacol. 588:47/51, 2008

Libri e capitoli di libro

De Toter D.-Ferrini S.

Chronic lymphocytic leukemia: receptors and cytokines modulating apoptosis and survival.

In Chronic lymphocytic leukemia: new research. Ed. Ines B Moreau, pp.191-219

Nova Science Publishers, 2008

Capacità di attrarre e formare ricercatori

Borsisti: Matteo Capaia (gennaio-aprile 2008)

Contrattisti: Gaia Barisione, Martina Borghi, Antonella Brizzolara, Matteo Capaia (maggio-dicembre 2008), Rita Rotondo

Attività didattica universitaria e training

I dirigenti della struttura svolgono attività didattica per la Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Genova, nell'ambito di:

- Scuola di Specializzazione in Allergologia e Immunologia Clinica, Dott. S. Ferrini
- Corso di Laurea Specialistica in Biotecnologie, Dott. ssa M. Fabbi, Dott.ssa Anna Maria Orengo, Dott. S. Ferrini

Completa il proprio percorso formativo presso la struttura personale in possesso di borsa di studio.

Nell'ambito della collaborazione con l'Università degli Studi di Genova, presso la struttura si svolge attività tutoriale per la stesura di tesi sperimentali per:

- studenti del Corso di Laurea in Scienze Biologiche e del Corso di Laurea in Biotecnologie
- specializzandi della Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica.

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torre C, piano 2.

NANOBIOTECNOLOGIE

struttura complessa da attivare in convenzione IST-Università di Genova

Direttore: vacante

Dirigenti: Domenico Bordo, Camillo Rosano

Si tratta di una struttura complessa che il funzionigramma in vigore prevede come sviluppo delle attività in convenzione con l'Università degli Studi di Genova.

Con le attuali dotazioni, si occupa prevalentemente di "Drug Design and Delivery", sfruttando la notevole esperienza acquisita negli anni nel campo biostrutturale, dimostrata dalla produzione scientifica e dalle numerose strutture tridimensionali di proteine già depositate presso RCSB Protein Data Bank.

Il disegno razionale di farmaci basato sulle informazioni che derivano dalla conoscenza della struttura tridimensionale del bersaglio proteico che si intende colpire, ha portato negli ultimi anni alla messa in commercio di numerosi farmaci "biologici" dalla notevole efficacia. Con l'avanzare delle conoscenze nel settore delle nanotecnologie si può ora ipotizzare di incorporare i farmaci in opportuni "vettori" al fine di massimizzarne l'effetto laddove questo è necessario (cellule tumorali), eliminando così i possibili effetti collaterali dei chemioterapici. L'incorporazione in vettori consente inoltre l'uso di tutte quelle molecole promettenti che non sono mai entrate in commercio per le loro caratteristiche di elevata idrofobicità o lipofilicità.

Metodiche

- Tecniche di base di biologia molecolare (preparazione di plasmidi, PCR, produzione di proteine ricombinanti in procarioti e loro purificazione tramite cromatografia, SDS-PAGE etc.)
- Espressione proteica di seleniometil-proteine
- Refolding di proteine insolubili
- Mutagenesi sito specifica
- Purificazione di proteine per esperimenti di cristallizzazione (purezza >95%)
- Screening delle condizioni chimico-fisiche per la cristallizzazione di proteine
- Analisi di omogeneità di popolazioni proteiche mediante dynamic light scattering (DLS)
- Analisi dei dati di diffrazione di raggi X da cristalli di macromolecole biologiche
- Determinazione della struttura tridimensionale di proteine mediante le tecniche di Molecular Replacement, SIRAS/MIRAS, SAD/MAD, *Ab-initio* methods
- Raffinamento cristallografico e validazione delle strutture tridimensionali proteiche
- Modelling per omologia di strutture proteiche
- Disegno razionale di farmaci (piccole molecole) basato sulle informazioni strutturali (Structure-based drug design)
- Simulazioni di docking molecolare
- Bioinformatica Strutturale
- Analisi bioinformatica di dati di microarray

Attrezzature

- Attrezzatura standard per biologia molecolare e colture batteriche
- Spettrofotometro
- Apparato per cromatografia a bassa pressione "GRADIFRAC"
- Colonne per cromatografia
- SDS-Page
- Microscopio ottico
- Incubatori per crescita cellule procariotiche
- Centrifughe da banco refrigerate, supercentrifuga
- Armadio termostato a basse vibrazioni per crescita cristalli
- Camera fredda (cablata)
- Apparati per sterilizzazione a secco e umido
- Dynamic Light Scattering (DLS)
- Generatore di raggi X 18KW
- Area Detector per raccolta di dati diffrazione di raggi X da cristalli di proteine
- Server quadriprocessore per simulazioni di docking/dinamica molecolare

- Server biprocessore "Silico Graphics" per il calcolo biocristallografico
- Rete di Workstation grafiche "Silicon Graphics" per la visualizzazione di strutture tridimensionali di proteine e per il model building.
- Cluster di PC per calcolo bioinformatico
- Rete di PC condivisi, bridge, hubs e tecnologie informatiche
- Software dedicati alla biocristallografia, al drug design ed alla bioinformatica strutturale

Attività didattica universitaria e training

I dirigenti della struttura svolgono attività didattica per l'Università di Genova, nell'ambito dei Corsi di Laurea in Biotecnologie e in Scienze Fisiche (Dott. D. Bordo)

In collaborazione con l'Università degli Studi di Genova, presso la struttura completano il proprio percorso formativo:

- laureandi della Facoltà di Scienze MFN, Corso di Laurea in Scienze Biologiche
- tirocinanti pre laurea del Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Alleanza Contro il Cancro - Programma 2 - *Integrazione delle attività di ricerca attraverso la costruzione di strutture e reti di collaborazione interistituzionali - Rete Nazionale di Bioinformatica Oncologica (RNBIO)*

Ministero della Salute/Regione Liguria - *Identification of tumor biomarkers through a biology-driven integrated approach*

Publicazioni

Bocciardi R.-Bordo D.-Di Duca M.-Di Rocco M.-Ravazzolo R.

Mutational analysis of the ACVR1 gene in italian patients affected with fibrodysplasia ossificans progressiva: confirmations and advancements.

Eur. J. Hum. Genet. Epub Oct 1, 2008

Cesarini S.-Spallarossa A.-Ranise A.-Schenone S.-Rosano C.-La Colla P.-Sanna G.-Busonera B.-Loddo R.

N/acylated and N,N'/diacylated imidazolidine/2/thione derivatives and N,N'/diacylated tetrahydropyrimidine/2(1H)/thione analogues: synthesis and antiproliferative activity.

Eur. J. Med. Chem. Epub Jun 24, 2008

Grossi S.-Regis S.-Rosano C.-Corsolini F.-Uziel G.-Sessa M.-Di Rocco M.-Parenti G.-Deodato F.-Leuzzi V.-Biancheri R.-Filocamo M.

Molecular analysis of ARSA and PSAP genes in twenty one italian patients with metachromatic leukodystrophy: identification and functional characterization of 11 novel ARSA alleles.

Hum. Mutat. 29:E220/E230, 2008

Mukhopadhyay R.-Bisacchi D.-Zhou Y.-Armirotti A.-Bordo D.

Structural characterization of the As/Sb reductase LmACR2 from Leishmania major.

J. Mol. Biol. Epub Jul 29, 2008

Pierotti M.-Lombardo C.-Rosano C.

Nanotechnology: going small for a giant leap in cancer diagnostics and therapeutics.

Tumori 94:191/196, 2008

Pittis M.-Donnarumma M.-Montalvo A.-Dominissini S.-Kroos M.-Rosano C.-Stroppiano M.-Bianco M.-Donati M.-Parenti G.-D'amico A.-Ciana G.-Di Rocco M.-Reuser A.-Bembi B.-Filocamo M.

Molecular and functional characterization of eight novel GAA mutations in italian infants with Pompe disease.

Hum. Mutat. 29:E27/E36, 2008

Rocco M.-Rosano C.-Weisel J.-Horita D.-Hantgan R.

Integrin conformational regulation: uncoupling extension/tail separation from changes in the head region by a multiresolution approach.

Structure 16:954/964, 2008

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torre B, piano 2.

MEDICINA RIGENERATIVA

struttura complessa

Direttore: Prof. Ranieri Cancedda (*universitario convenzionato*)

Dirigenti: Aldo Pagano (*universitario convenzionato*), Sara Tavella (*universitario convenzionato*)

CPS tecnici sanitari di laboratorio: Paolo Pirani

La struttura complessa di Medicina Rigenerativa sviluppa ricerche sul ruolo delle cellule staminali/progenitrici nello sviluppo, rigenerazione/riparo e trasformazione neoplastica dei diversi tessuti, con particolare riferimento ai tessuti scheletrici (cartilagine ed osso), sulla risposta infiammatoria nella morfogenesi e nella tumorigenesi, sulla rigenerazione e riparazione dei diversi tessuti danneggiati da traumi, malformazioni congenite, patologie degenerative e neoplasie, con particolare riferimento ai tessuti scheletrici.

Studia le cellule staminali dei tumori, con il fine di una loro caratterizzazione a livello cellulare e molecolare per l'individuazione di nuovi bersagli terapeutici per lo sviluppo di nuove terapie antineoplastiche.

In particolare si occupa di:

- isolamento e caratterizzazione di cellule mesenchimali staminali e progenitrici da tessuti normali e dai corrispondenti tessuti tumorali
- definizione ed ottimizzazione delle condizioni di coltura per l'espansione in vitro delle cellule staminali/progenitrici
- identificazione e caratterizzazione dei geni coinvolti nel controllo dell'espressione genica nella proliferazione, differenziamento e trasformazione neoplastica anche al fine di identificare possibili nuovi bersagli terapeutici
- identificazione e caratterizzazione di sequenze di RNA non codificanti e coinvolte nel controllo dell'espressione genica nella proliferazione, differenziamento e trasformazione neoplastica
- studio delle proprietà immunomodulatorie delle cellule staminali/progenitrici mesenchimali
- ruolo delle lipocaline e delle altre proteine di fase acuta espresse durante il differenziamento da cellule progenitrici a cellule mature
- sviluppo di modelli sperimentali (animali transgenici e colture in vitro tridimensionali) per lo studio della risposta delle cellule a stimoli meccanici ed ormonali
- studio del turnover della massa ossea in soggetti normali o affetti da patologie (osteoporosi, tumori ossei, etc.)
- terapia cellulare ed ingegneria dei tessuti per la rigenerazione di tessuto osseo e cartilagine articolare in patologie traumatiche ed esiti di trattamento chirurgico di tumori
- sperimentazione preclinica in animali di piccola e di grande taglia, studi clinici pilota.

Metodiche

- "Imaging" nelle tre dimensioni spaziali e in quella temporale di cellule e strutture subcellulari per lo studio della morfologia cellulare e per la localizzazione, funzione ed interazione delle proteine
- Analisi dell'espressione genica mediante Real Time PCR
- Generazione di animali transgenici mediante microiniezione del transgene nel pronucleo di ovuli fecondati
- Elaborazione di sistemi per la coltura e il differenziamento di cellule staminali da tessuti adulti
- Ibridizzazione in situ per l'analisi dell'espressione genica in tessuti
- Tecniche per la caratterizzazione di proteine in soluzione tramite misure di coefficiente di diffusione e raggio di girazione, e per lo studio di reazioni di polimerizzazione/aggregazione
- Sistema per la generazione di modelli a media risoluzione di proteine e complessi proteici a partire da dati sia ad alta che a bassa risoluzione

Attrezzature

- Stazione di microiniezione basata su microscopio rovesciato, apparato di micromanipolazione e pompa Eppendorf
- Sistema per l'esecuzione di Real Time PCR
- Stazione di microscopia avanzata basata sul Microscopio Axiovert 200M equipaggiato con dispositivo Apotome e software Axiovision
- Sistema computerizzato per l'acquisizione digitale di autoradiografie, mediante schermi al fosforo
- Sistema di acquisizione di immagini digitali di gel Gel Doc 1000
- Apparecchiatura per esecuzione di cromatografia liquida ad alta pressione
- Ultracentrifuga preparativa
- Cappe biohazard
- Cappe chimiche
- Incubatori CO2
- Congelatori -80°C
- Contenitori azoto liquido

Progetti finalizzati in corso nel 2008

Commissione Europea - *Angiogenesis-inducing bioactive and bioresponsive scaffolds in tissue engineering (AngioScaff)*

European Space Agency - *ERISTO-3D multicell models mimicking bone marrow environment*

Ministero della Salute - *Microambiente tumorale: ruolo nella progressione neoplastica ed effetti sulle difese dell'ospite. Identificazione di nuovi bersagli per lo sviluppo di terapie innovative*

Convenzioni per prestazioni scientifiche

Centro Studi Termali Veneto Pietro D'Abano, Abano Terme (PD) – *Contratto per la ricerca "Effetto di estratti di fanghi termali sul metabolismo del tessuto osseo"*

Geistlich Pharma AG – *Collaborazione scientifica riguardante l'impiego di materiali ceramici in associazione alle cellule staminali per la riparazione tessutale*

Studi clinici con arruolamento in corso nel 2008

Protocollo di trattamento delle perdite di tessuto osseo a livello mandibolare mediante impianto di ceramica porosa di idrossiapatite associato a concentrato piastrinico autologo e/o a cellule mesenchimali staminali del midollo osseo autologhe espanse "ex vivo". [rif. 10084]

Pubblicazioni

Giannoni P.-Mastrogiacomo M.-Alini M.-Pearce S.-Corsi A.-Santolini F.-Muraglia A.-Bianco P.-Cancedda R.
Regeneration of large bone defects in sheep using bone marrow stromal cells.
J. Tissue Eng. Regen. Med. 2:253/262, 2008

Marcoli M.-Candiani S.-Tonachini L.-Monticone M.-Mastrogiacomo M.- Ottonello A.-Cervetto C.-Paluzzi P.-Maura G.-Pestarino M.-Cancedda R.-Castagnola P.
In vitro modulation of gamma amino butyric acid (GABA) receptor expression by bone marrow stromal cells.
Pharmacol. Res. 57:374/382, 2008

Muraglia A.-Perera M.-Verardo S.-Liu Y.-Cancedda R.-Quarto R.- Corte G.
DLX5 overexpression impairs osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells.
Eur. J. Cell Biol. 87:751/761, 2008

Tasso R.-Augello A.-Carida' M.-Postiglione F.-Tibiletti M.- Bernasconi B.-Astigiano S.-Fais F.-Truini M.-Cancedda R.-Pennesi G.

Development of sarcomas in mice implanted with mesenchymal stem cells seeded onto bioscaffolds.

Carcinogenesis Epub Oct 9, 2008

Ulivi V.-Cancedda R.-Descalzi F.

15/deoxy/delta 12,14/prostaglandin J(2) inhibits the synthesis of the acute phase protein SIP24 in cartilage: involvement of COX/2 in resolution of inflammation.

J. Cell. Physiol. 217:433/441, 2008

Ulivi V.-Giannoni P.-Gentili C.-Cancedda R.-Descalzi F.

p38/NF/kB dependent expression of COX/2 during differentiation and inflammatory response of chondrocytes.

J. Cell. Biochem. 104:1393/1406, 2008

Zaky S.-Otonello A.-Strada P.-Cancedda R.-Mastrogiacomo M.

Platelet lysate favours in vitro expansion of human bone marrow stromal cells for bone and cartilage engineering.

J. Tissue Eng. Regen. Med. 2:472/481, 2008

Capacità di attrarre e formare ricercatori

Contrattisti: Monica Scaranari

Attività didattica universitaria e training

Il personale universitario convenzionato (Prof. R. Cancedda) svolge attività didattica per la Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università di Genova nell'ambito di:

- Corsi di Laurea in Medicina e Chirurgia, Odontoiatria e Protesi Dentaria, Scienze Motorie e Professioni Sanitarie (insegnamenti: Biologia Applicata, Biologia e Genetica, Genetica Generale e Molecolare)
- Corso di Laurea Interfacoltà di Biotecnologie (insegnamento Biologia Cellulare I e II).

Nell'ambito della collaborazione con l'Università degli Studi di Genova, presso la struttura completano il proprio percorso formativo:

- laureandi del Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie e del Corso di Laurea in Odontoiatria e Protesi Dentarie della Facoltà di Medicina e Chirurgia
- dottorandi di ricerca in Scienze Chimiche

Dati di struttura

La struttura è situata presso l'edificio IST-CBA, torre C piano 3.