

# DIPARTIMENTO DI RICERCA TRASLAZIONALE ONCOLOGICA

Direttore: Prof. Giorgio Corte

## IMMUNOLOGIA *struttura complessa*

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

Dirigenti: Barbara Carnemolla, 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 e attività didattica oncologica 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 fattori solubili immunosoppressivi e ruolo stroma tumorale nei linfomi e melanomi
- 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 tetrameri.
- 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<sup>+</sup>
- Microscopio confocale FV 500
- Microscopio Axiovert 100 corredato di sistema Attofluor per analisi in singola cellula della concentrazione di ioni calcio, magnesio, H<sup>+</sup>
- Spettrofluorimetro LS50B per la valutazione della concentrazione di ioni intracellulari
- Fluorescence Activated Cell Sorter (FACSsort) per la separazione di sottopopolazioni cellulari
- FACSsan 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 CO<sub>2</sub>
- Congelatori -80°C e contenitori azoto liquido

## Progetti finalizzati in corso nel 2009

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

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

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 - *Broncopneumopatia cronica ostruttiva: approccio integrato multidisciplinare allo studio della eterogeneità patogenetica, fenotipica ed evolutiva della malattia*

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

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

### **Convenzioni e disciplinari di incarico**

DIMES, Università degli Studi di Genova – *Protocollo di intesa per lo svolgimento di comuni programmi di ricerca nel campo dello studio della risposta immunitaria nei confronti delle cellule staminali tumorali*

### **Pubblicazioni**

Balsamo M.-Scordamaglia F.-Pietra G.-Manzini C.-Cantoni C.-Boitano M.-Queirolo P.-Vermi W.-Facchetti F.-Moretta A.-Moretta L.-Mingari M.C.-Vitale M.  
*Melanoma associated fibroblasts modulate NK cell phenotype and antitumor cytotoxicity.*  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106:20847/20852, 2009

Balsamo M.-Zambello R.-Teramo A.-Pedrazzi M.-Sparatore B.- Scordamaglia F.-Pende D.-Mingari M.C.-Moretta L.-Moretta A.- Semenzato G.-Vitale M.  
*Analysis of NK cell/DC interaction in NK type lymphoproliferative disease of granular lymphocytes (LDGL): role of DNAM/1 and NKp30.*  
Exp. Hematol. 37:1167/1175, 2009

Balza E.-Carnemolla B.-Mortara L.-Castellani P.-Soncini D.-Accolla R.-Borsi L.  
*Therapy induced antitumor vaccination in neuroblastomas by the combined targeting of IL/2 and TNFalpha.*  
Int. J. Cancer Epub Oct 29, 2009

Balza E.-Sassi F.-Ventura E.-Parodi A.-Fossati S.-Blalock W.- Carnemolla B.-Castellani P.-Zardi L.-Borsi L.  
*A novel human fibronectin cryptic sequence unmasked by the insertion of the angiogenesis associated extra type III domain B.*  
Int. J. Cancer 125:751/758, 2009

Carrega P.-Pezzino G.-Queirolo P.-Bonaccorsi I.-Falco M.-Vita G.- Pende D.-Misefari A.-Moretta A.-Mingari M.C.-Moretta L.-Ferlazzo G.  
*Susceptibility of human melanoma cells to autologous natural killer (NK) cell killing: HLA related effector mechanisms and role of unlicensed NK cells.*  
PLoS One 4:e8132;1/e8132;10, 2009

Della Chiesa M.-Falco M.-Parolini S.-Bellora F.-Petretto A.-Romeo E.-Balsamo M.-Gambarotti M.-Scordamaglia F.-Tabellini G.-Facchetti F.-Vermi W.-Bottino C.-Moretta A.-Vitale M.

*GPR56 as a novel marker identifying the CD56dull CD16(+) NK cell subset both in blood stream and in inflamed peripheral tissues.*

Int. Immunol. Epub Dec 14, 2009

De Maria A.-Ugolotti E.-Rutjens E.-Mazza S.-Radic L.-Faravelli A.-Koopman G.-Di Marco E.-Costa P.-Ensoli B.-Cafaro A.-Mingari M.C.-Moretta L.-Heeney J.-Biassoni R.

*NKp44 expression, phylogenesis and function in non human primate NK cells.*

Int. Immunol. 21:245/255, 2009

Ghio M.-Contini P.-Negrini S.-Boero S.-Musso A.-Poggi A.

*Soluble HLA/I mediated secretion of TGF/beta1 by human NK cells and consequent downregulation of antitumor cytolytic activity.*

Eur. J. Immunol. 39:3459/3468, 2009

Locatelli F.-Pende D.-Maccario R.-Mingari M.C.-Moretta A.-Moretta L.

*Haploidentical hemopoietic stem cell transplantation for the treatment of high risk leukemias: how NK cells make the difference.*

Clin. Immunol. 133:171/178, 2009

Morandi B.-Mortara L.-Carrega P.-Cantoni C.-Costa G.-Accolla R.-Mingari M.C.-Ferrini S.-Moretta L.-Ferlazzo G.

*NK cells provide helper signal for CD8+ T cells by inducing the expression of membrane bound IL/15 on DCs.*

Int. Immunol. 21:599/606, 2009

Moretta L.-Locatelli F.-Pende D.-Mingari M.C.-Moretta A.

*Natural killer alloeffector responses in haploidentical hemopoietic stem cell transplantation to treat high risk leukemias.*

Tissue Antigens Epub Dec 9, 2009

Pietra G.-Manzini C.-Vitale M.-Balsamo M.-Ognio E.-Boitano M.-Queirolo P.-Moretta L.-Mingari M.C.

*Natural killer cells kill human melanoma cells with characteristics of cancer stem cells.*

Int. Immunol. 21:793/801, 2009

Pietra G.-Romagnani C.-Moretta L.-Mingari M.C.

*HLA/E and HLA/E/bound peptides: recognition by subsets of NK and T cells.*

Curr. Pharm. Des. 15:3336/3344, 2009

Sensi M.-Pietra G.-Molla A.-Nicolini G.-Vegetti C.-Bersani I.-Millo E.-Weiss E.-Moretta L.-Mingari M.C.-Anichini A.

*Peptides with dual binding specificity for HLA/A2 and HLA/E are encoded by alternatively spliced isoforms of the antioxidant enzyme peroxiredoxin 5.*

Int. Immunol. 21:257/268, 2009

Ventura E.-Sassi F.-Fossati S.-Parodi A.-Blalock W.-Balza E.-Castellani P.-Borsi L.-Carnemolla B.-Zardi L.

*Use of uteroglobin for the engineering of polyvalent, polyspecific fusion proteins.*

J. Biol. Chem. 284:26646/26654, 2009

## **Capacità di attrarre e formare ricercatori – anno 2009**

*Contrattisti:* Silvia Boero, Paolo Canevali, Silvia Catellani

## **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 (M.C. Mingari)
- Corso di Laurea in Scienze Infermieristiche - insegnamenti Immunologia e Immunopatologia (M.C. Mingari)
- Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie - insegnamenti Immunologia e Immunopatologia (M.C. Mingari)
- Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica - insegnamenti Immunologia, Immunopatologia, Immunoematologia, Tecniche Immunologiche e Immunoematologiche (M.C. Mingari)
- Scuola di Specializzazione in Oncologia - insegnamento Immunologia (M.C. Mingari)
- Scuola di Specializzazione in Microbiologia e Virologia - insegnamento Immunologia (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
- studenti del Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Genova nell'ambito de: "Il laboratorio del Medico in formazione".

#### **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 degranolazione 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 2009**

Ministero della Salute - *Innovative therapeutic models fo 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**

Balsamo M.-Zambello R.-Teramo A.-Pedrazzi M.-Sparatore B.- Scordamaglia F.-Pende D.-Mingari M.C.-Moretta L.-Moretta A.- Semenzato G.-Vitale M.

*Analysis of NK cell/DC interaction in NK type lymphoproliferative disease of granular lymphocytes (LDGL): role of DNAM/1 and NKp30.*

Exp. Hematol. 37:1167/1175, 2009

Carrega P.-Pezzino G.-Queirolo P.-Bonaccorsi I.-Falco M.-Vita G.- Pende D.-Misefari A.-Moretta A.-Mingari M.C.-Moretta L.-Ferlazzo G.

*Susceptibility of human melanoma cells to autologous natural killer (NK) cell killing: HLA related effector mechanisms and role of unlicensed NK cells.*

PLoS One 4:e8132;1/e8132;10, 2009

Lakshmikanth T.-Burke S.-Ali T.-Kimpfler S.-Ursini F.-Ruggeri L.- Capanni M.-Umansky V.-Paschen A.-Sucker A.-Pende D.-Groh V.- Biassoni R.-Hoglund P.-Kato M.-Shibuya K.-Schadendorf D.-Anichini A.-Ferrone S.-Velardi A.-Karre K.-Shibuya A.-Carbone E.-Colucci F.

*NCRs and DNAM/1 mediate NK cell recognition and lysis of human and mouse melanoma cell lines in vitro and in vivo.*

J. Clin. Invest. 119:1251/1263, 2009

Locatelli F.-Pende D.-Maccario R.-Mingari M.C.-Moretta A.-Moretta L.

*Haploidentical hemopoietic stem cell transplantation for the treatment of high risk leukemias: how NK cells make the difference.*

Clin. Immunol. 133:171/178, 2009

Marcenaro E.-Cantoni C.-Pesce S.-Prato C.-Pende D.-Agaugue' S.- Moretta L.-Moretta A.

*Uptake of CCR7 and acquisition of migratory properties by human KIR+ NK cells interacting with monocyte derived DC or EBV cell lines: regulation by KIR/HLA class I interaction.*

Blood 114:4108/4116, 2009

Moretta A.-Pende D.-Locatelli F.-Moretta L.

*Activating and inhibitory killer immunoglobulin like receptors (KIR) in haploidentical haemopoietic stem cell transplantation to cure high risk leukaemias.*

Clin. Exp. Immunol. 157:325/331, 2009

Moretta L.-Locatelli F.-Pende D.-Mingari M.C.-Moretta A.

*Natural killer alloeffector responses in haploidentical hemopoietic stem cell transplantation to treat high risk leukemias.*

Tissue Antigens Epub Dec 9, 2009

### **Dati di struttura**

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

## **ONCOLOGIA MOLECOLARE E ANGIOGENESI**

*struttura semplice*

---

Responsabile: Alessandro Poggi

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
- studio dei meccanismi molecolari e regolazione farmacologica della immunoevasione dei tumori
- caratterizzazione delle vie biochimiche responsabili della apoptosi indotta dal bersaglio 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).
- Produzione e caratterizzazione di anticorpi monoclonali murini diretti contro strutture di superficie di cellule natural killer (NK), linfociti TCR $\alpha\beta$ +, TCR $\gamma\delta$ +, NKT, iNKT e di cellule tumorali.
- Tecniche di clonazione di linfociti T TCR $\alpha\beta$ +, TCR $\gamma\delta$ +, NKT, iNKT e NK e analisi funzionali: valutazione dell'attività citotossica e della produzione di citochine.

- Coltura e saggi funzionali su cellule mesenchimali stromali isolate da timo, linfonodi, midollo osseo, biopsie cutanee e d'organo e colture di cellule tumorali provenienti da tumori solidi.
- Valutazione apoptosi mediante sonde fluorescenti e DNA laddering.
- Valutazione potenziale mitocondriale con sonde fluorescenti.
- Valutazione molecole solubili mediante ELISA.
- Tecniche avanzate di citofluorimetria.
- Tecniche di microscopia confocale.
- Tecniche di valutazione della concentrazione di ioni (Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>) intracellulari in singola cellula.

### **Attrezzature**

- Microscopio per analisi immagine IX70 corredato di microincubatore a CO<sub>2</sub> e CellR e sistema di deconvoluzione per la valutazione in singola cellula della concentrazione endocellulare di ioni
- Citofluorimetro Cyan ADP 7 colori, 9 parametri (2 fisici 7 fluorescenze) per analisi multiparametriche
- 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 CO<sub>2</sub>
- Congelatori -80°C.
- Contenitori azoto liquido

### **Progetti finalizzati in corso nel 2009**

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Role of tumour stromal cells and soluble factors in lymphoma-mediated immune suppression*

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 - *Fattori solubili e stroma dei linfomi coinvolti nella immunosoppressione*

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

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

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 - *Innovative therapeutic models for the treatment of hematological malignancies*

## **Publicazioni**

Barboro P.-Repaci E.-Rubagotti A.-Salvi S.-Boccardo S.-Spina B.- Truini M.-Introini C.-Puppo P.-Ferrari N.-Carmignani G.-Boccardo F.-Balbi C.

*Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K: altered pattern of expression associated with diagnosis and prognosis of prostate cancer.*

Br. J. Cancer 100:1608/1616, 2009

Benelli R.-Ferrari N.

*Angiogenesis inhibition: state of art, forgotten strategies and new perspectives in cancer therapy.*

Curr. Cancer Ther. Rev. 5:203/216, 2009

Benelli R.-Monteghirfo S.-Balbi C.-Barboro P.-Ferrari N.

*Novel antivasculare efficacy of metronomic docetaxel therapy in prostate cancer: hnRNP K as a player.*

Int. J. Cancer 124:2989/2996, 2009

Bruzzone S.-Fruscione F.-Morando S.-Ferrando T.-Poggi A.-Garuti A.- D'urso A.-Selmo M.-Benvenuto F.-Cea M.-Zoppoli G.-Moran E.-Soncini D.-Ballestrero A.-Sordat B.-Patrone F.-Mostoslavsky R.-Uccelli A.- Nencioni A.

*Catastrophic NAD<sup>+</sup> depletion in activated T lymphocytes through nampt inhibition reduces demyelination and disability in EAE.*

PLoS One 4:e7897;1/e7897;14, 2009

Fenoglio D.-Poggi A.-Catellani S.-Battaglia F.-Ferrera A.-Setti M.- Murdaca G.-Zocchi M.

*Vdelta1 T lymphocytes producing IFN/gamma and IL/17 are expanded in HIV/1 infected patients and respond to Candida albicans.*

Blood 113:6611/6618, 2009

Foresta M.-Ropolo M.-Degan P.-Pettinati I.-Kow Y.-Damonte G.-Poggi A.-Frosina G.

*Defective repair of 5/hydroxy/2'/deoxycytidine in Cockayne syndrome cells and its complementation by Escherichia coli formamidopyrimidine DNA glycosylase and endonuclease III.*

Free Radic. Biol. Med. Epub Dec 21, 2009

Ghio M.-Contini P.-Negrini S.-Boero S.-Musso A.-Poggi A.

*Soluble HLA/I mediated secretion of TGF/beta1 by human NK cells and consequent downregulation of antitumor cytolytic activity.*

Eur. J. Immunol. 39:3459/3468, 2009

Griffero F.-Daga A.-Marubbi D.-Capra M.C.-Melotti A.-Pattarozzi A.- Gatti M.-Bajetto A.-Porcile C.-Barbieri F.-Favoni R.E.-Lo Casto M.- Zona G.-Spaziante R.-Florio T.-Corte G.

*Different response of human glioma tumor initiating cells to epidermal growth factor receptor kinase inhibitors.*

J. Biol. Chem. 284:7138/7148, 2009

Palmieri D.-Valli M.-Viglio S.-Ferrari N.-Ledda B.-Volta C.- Manduca P.

*Osteoblasts extracellular matrix induces vessel like structures through glycosylated collagen I.*

Exp. Cell Res. Epub Dec 16, 2009

Poggi A.-Catellani S.-Garuti A.-Pierri I.-Gobbi M.-Zocchi M.  
*Effective in vivo induction of NKG2D ligands in acute myeloid leukaemias by all trans retinoic acid or sodium valproate.*  
Leukemia 23:641/648, 2009

Poggi A.-Catellani S.-Musso A.-Zocchi M.  
*Gammadelta T lymphocytes producing IFNgamma and IL/17 in response to Candida Albicans or mycobacterial antigens: possible implications for acute and chronic inflammation.*  
Curr. Med. Chem. 16:4743/4749, 2009

Ropolo M.-Daga A.-Griffero F.-Foresta M.-Casartelli G.-Zunino A.- Poggi A.-Cappelli E.-Zona G.-Spaziante R.-Corte G.-Frosina G.  
*Comparative analysis of DNA repair in stem and nonstem glioma cell cultures.*  
Mol. Cancer Res. 7:383/392, 2009

Sogno I.-Vene' R.-Ferrari N.-De Censi A.-Imperatori A.-Noonan D.- Tosetti F.-Albini A.  
*Angioprevention with fenretinide: targeting angiogenesis in prevention and therapeutic strategies.*  
Crit. Rev. Oncol. Hematol. Epub Dec 22, 2009

Sogno I.-Vene' R.-Sapienza C.-Ferrari N.-Tosetti F.-Albini A.  
*Anti angiogenic properties of chemopreventive drugs: fenretinide as a prototype.*  
Recent Results Cancer Res. 181:71/76, 2009

Vinciguerra M.-Carrozzino F.-Peyrou M.-Carlone S.-Montesano R.- Benelli R.-Foti M.  
*Unsaturated fatty acids promote hepatoma proliferation and progression through downregulation of the tumor suppressor PTEN.*  
J. Hepatol. 50:1132/1141, 2009

### **Capacità di attrarre e formare ricercatori – anno 2009**

*Contrattisti:* Roberto Benelli, Stefano Monteghirfo, Roberta Vené (febbraio-aprile)

### **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 embryotransfer.

### **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 2009**

Association for International Cancer Research - AICR (UK) - *Arginase 1 in cancer progression and tumor immune escape*

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

### **Pubblicazioni**

Cocola C.-Anastasi P.-Astigiano S.-Piscitelli E.-Pelucchi P.- Vilaro L.-Bertoli G.-Beccaglia M.-Veronesi M.-Sanzone S.-Barbieri O.-Reinbold R.-Luvoni G.-Zucchi I.  
*Isolation of canine mammary cells with stem cell properties and tumour initiating potential.*  
Reprod. Domest. Anim. 44(suppl 2):214/217, 2009

Rotondo R.-Barisione G.-Mastracci L.-Grossi F.-Orengo A.M.-Costa R.-Truini M.-Fabbi M.-Ferrini S.-Barbieri O.  
*IL/8 induces exocytosis of arginase 1 by neutrophil polymorphonuclears in nonsmall cell lung cancer.*  
Int. J. Cancer 125:887/893, 2009

Visigalli D.-Palmieri D.-Strangio A.-Astigiano S.-Barbieri O.- Casartelli G.-Zicca A.-Manduca P.  
*The carboxyl terminal trimer of procollagen I induces pro metastatic changes and vascularization in breast cancer cells xenografts.*  
BMC Cancer 9:59;1/59;10, 2009

### **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 (O. Barbieri)
- Facoltà di Scienze MFN, Corso di Laurea in Scienze Biologiche - insegnamento Organismi transgenici (O. Barbieri)
- Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie - insegnamento Trasferimento genico (O. Barbieri)
- Scuola di Specializzazione in Oncologia - insegnamento Oncologia molecolare (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 Corso Interfacoltà in Biotecnologie, Università degli Studi di Genova
- dottorandi in Medicina Interna Generale e Specialistica - indirizzo Oncologia, 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 Pellicchia

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 immunistochimica.

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 antitumorale
- 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 2009**

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)

- *Sviluppo di nuove terapie nei sarcomi muscoloscheletrici: immunoterapia e target terapia a confronto*

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 Sanita' - 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 Sanita' - Programma Italia/USA "Malattie Rare" - *Tumor angiogenesis and inflammation as therapeutic targets of retinoblastoma*

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

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 - *Innovative therapeutic models fo the treatment of hematological malignancies*

Telethon - *Effects of CIAS-1 mutations in the pathogenesis of cryopyrin associated periodic syndromes (CAPS). Search for new genes and novel therapeutic strategies*

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*

## **Pubblicazioni**

Balza E.-Carnemolla B.-Mortara L.-Castellani P.-Soncini D.-Accolla R.-Borsi L.  
*Therapy induced antitumor vaccination in neuroblastomas by the combined targeting of IL/2 and TNFalpha.*  
Int. J. Cancer Epub Oct 29, 2009

Balza E.-Sassi F.-Ventura E.-Parodi A.-Fossati S.-Blalock W.- Carnemolla B.-Castellani P.-Zardi L.-Borsi L.  
*A novel human fibronectin cryptic sequence unmasked by the insertion of the angiogenesis associated extra type III domain B.*  
Int. J. Cancer 125:751/758, 2009

Carta S.-Castellani P.-Delfino L.-Tassi S.-Vene' R.-Rubartelli A.  
*DAMPs and inflammatory processes: the role of redox in the different outcomes.*  
J. Leukoc. Biol. 86:549/555, 2009

Giliberto L.-Borghi R.-Piccini A.-Mangerini R.-Sorbi S.-Cirmena G.- Garuti A.-Ghetti B.- Tagliavini F.-Mughal M.-Mattson M.-Zhu X.-Wang X.-Guglielmotto M.-Tamagno E.-Tabaton M.  
*Mutant presenilin 1 increases the expression and activity of BACE1.*  
J. Biol. Chem. 284:9027/9038, 2009

Lotfi R.-Herzog G.-Demarco R.-Beer Stolz D.-Lee J.-Rubartelli A.- Schrezenmeier H.-Lotze M.  
*Eosinophils oxidize damage associated molecular pattern molecules derived from stressed cells.*  
J. Immunol. 183:5023/5031, 2009

Morbelli S.-Piccardo A.-Villavecchia G.-Dessi B.-Brugnolo A.- Piccini A.-Caroli A.-Frisoni G.- Rodriguez G.-Nobili F.  
*Mapping brain morphological and functional conversion patterns in amnesic MCI: a voxel based MRI and FDG/PET study.*  
Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging Epub Aug 7, 2009

Mortara L.-Frangione V.-Castellani P.-De Lerma Barbaro A.-Accolla R.  
*Irradiated CIITA positive mammary adenocarcinoma cells act as a potent anti tumor preventive vaccine by inducing tumor specific CD4+ T cell priming and CD8+ T cell effector functions.*

Int. Immunol. 21:655/665, 2009

Richter P.-Tost M.-Franz M.-Altendorf Hofmann A.-Junker K.-Borsi L.-Neri D.-Kosmehl H.-Wunderlich H.-Berndt A.

*B and C domain containing tenascin C: urinary markers for invasiveness of urothelial carcinoma of the urinary bladder?*

J. Cancer Res. Clin. Oncol. 135:1351/1358, 2009

Rubartelli A.-Sitia R.

*Chemo metabolic regulation of immune responses by Tregs.*

Nat. Chem. Biol. 5:709/710, 2009

Sogno I.-Vene' R.-Ferrari N.-De Censi A.-Imperatori A.-Noonan D.- Tosetti F.-Albini A.

*Angioprevention with fenretinide: targeting angiogenesis in prevention and therapeutic strategies.*

Crit. Rev. Oncol. Hematol. Epub Dec 22, 2009

Sogno I.-Vene' R.-Sapienza C.-Ferrari N.-Tosetti F.-Albini A.

*Anti angiogenic properties of chemopreventive drugs: fenretinide as a prototype.*

Recent Results Cancer Res. 181:71/76, 2009

Tassi S.-Carta S.-Vene' R.-Delfino L.-Ciriolo M.-Rubartelli A.

*Pathogen induced interleukin/1beta processing and secretion is regulated by a biphasic redox response.*

J. Immunol. 183:1456/1462, 2009

Tosetti F.-Noonan D.-Albini A.

*Metabolic regulation and redox activity as mechanisms for angioprevention by dietary phytochemicals.*

Int. J. Cancer 125:1997/2003, 2009

Ventura E.-Sassi F.-Fossati S.-Parodi A.-Blalock W.-Balza E.- Castellani P.-Borsi L.-Carnemolla B.-Zardi L.

*Use of uteroglobin for the engineering of polyvalent, polyspecific fusion proteins.*

J. Biol. Chem. 284:26646/26654, 2009

## **Capacità di attrarre e formare ricercatori – anno 2009**

*Borsisti:* Ilaria Pettinati

*Contrattisti:* Sonia Carta, Alessandra Piccini, Sara Tassi, Roberta Vené (maggio-dicembre)

## **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 Toter, Roberto Favoni, Roberto Gherzi (*da 01/12/09 Responsabile S.S. Regolazione Espressione Genica*), Paolo Malatesta (*universitario convenzionato*)

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

Personale amministrativo e tecnico: Patrizia Mazzini, 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
- studio di interazioni fra cellule mesenchimali e cellule leucemiche in neoplasie ematologiche.

## 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

- *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 nei saggi di Chromatin Immunoprecipitation (ChIP), applicandola alla immunoprecipitazione di complessi proteina-mRNA che abbiamo precedentemente descritto (Chen C., Gherzi R. et al. *Genes Dev.* 14:1236/1248, 2000). In particolare la tecnica consente lavaggi degli immunocomplessi in condizioni di estrema astringenza che minimizza 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 CO<sub>2</sub>
- 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 2009**

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Role of stemness genes in glioblastoma tumor initiating cells*

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

Compagnia San Paolo - *Molecular and cellular basis of glioma: identification of diagnostic markers and therapeutic targets in glioma stem cells*

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

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

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

### **Pubblicazioni**

Bagnara D.-Ibatici A.-Corselli M.-Sessarego N.-Tenca C.-De Santanna A.-Mazzarello A.-Daga A.-Corvo' R.-De Rossi G.-Frassoni F.-Ciccione E.-Fais F.  
*Adoptive immunotherapy mediated by ex vivo expanded natural killer T cells against CD1d expressing lymphoid neoplasms.*

Haematologica 94:967/974, 2009

Baio G.-Fabbi M.-Salvi S.-De Toterò D.-Truini M.-Ferrini S.- Neumaier C.E.  
*Two step in vivo tumor targeting by biotin conjugated antibodies and superparamagnetic nanoparticles assessed by magnetic resonance imaging at 1.5 T.*  
Mol. Imaging Biol. Epub Oct 6, 2009

Calzolari F.-Malatesta P.  
*Recent insights into PDGF induced gliomagenesis.*  
Brain Pathol. Epub Sep 25, 2009

Castriconi R.-Daga A.-Donderò A.-Zona G.-Poliani P.-Melotti A.- Griffero F.-Marubbi D.-  
Spaziante R.-Bellora F.-Moretta L.-Moretta A.-Corte G.-Bottino C.  
*NK cells recognize and kill human glioblastoma cells with stem cell like properties.*  
J. Immunol. 182:3530/3539, 2009

Diaz Moreno I.-Hollingworth D.-Frenkiel T.-Kelly G.-Martin S.- Howell S.-Garcia Mayoral M.-  
Gherzi R.-Briata P.-Ramos A.  
*Phosphorylation mediated unfolding of a KH domain regulates KSRP localization via 14/3/3 binding.*  
Nat. Struct. Mol. Biol. 16:238/246, 2009

Gherzi R.-Trabucchi M.-Ponassi M.-Gallouzi I.-Rosenfeld M.-Briata P.  
*Akt2 mediated phosphorylation of Pitx2 controls Ccnd1 mRNA decay during muscle cell differentiation.*  
Cell Death Differ. Epub Dec 18, 2009

Giannoni P.-Narcisi R.-De Toterò D.-Romussi G.-Quarto R.-Bisio A.  
*The administration of demethyl fruticulic acid from Salvia corrugata to mammalian cells lines induces anoikis, a special form of apoptosis.*  
Phytomedicine Epub Aug 12, 2009

Giannoni P.-Scaglione S.-Daga A.-Ilengo C.-Cilli M.-Quarto R.  
*Short time survival and engraftment of bone marrow stromal cells in an ectopic model of bone regeneration.*  
Tissue Eng. Part A Epub Aug 28, 2009

Griffero F.-Daga A.-Marubbi D.-Capra M.C.-Melotti A.-Pattarozzi A.- Gatti M.-Bajetto A.-Porcile C.-  
Barbieri F.-Favoni R.E.-Lo Casto M.- Zona G.-Spaziante R.-Florio T.-Corte G.  
*Different response of human glioma tumor initiating cells to epidermal growth factor receptor kinase inhibitors.*  
J. Biol. Chem. 284:7138/7148, 2009

Matis S.-Mariani M.R.-Cutrona G.-Cilli M.-Piccardi F.-Daga A.- Damonte G.-Millo E.-Moroni M.-  
Roncella S.-Fedeli F.-Boffa L.C.- Ferrarini M.  
*PNAEmu can significantly reduce Burkitt's lymphoma tumor burden in a SCID mice model: cells dissemination similar to the human disease.*  
Cancer Gene Ther. 16:786/793, 2009

Monticone M.-Biollo E.-Fabiano A.-Fabbi M.-Daga A.-Romeo F.-Maffei M.-Melotti A.-Giaretti W.-  
Corte G.-Castagnola P.  
*z/leucinyll/leucinyll/norleucinal induces apoptosis of human glioblastoma tumor initiating cells by proteasome inhibition and mitotic arrest response.*  
Mol. Cancer Res. 7:1822/1834, 2009

Nechama M.-Peng Y.-Bell O.-Briata P.-Gherzi R.-Schoenberg D.-Naveh Many T.  
*KSRP/PMR1/exosome association determines parathyroid hormone mRNA levels and stability in transfected cells.*

BMC Cell Biol. 10:70;1/70;12, 2009

Pereira R.-Scaranari M.-Castagnola P.-Grandizio M.-Azevedo H.-Reis R.-Cancedda R.-Gentili C.  
*Novel injectable gel (system) as a vehicle for human articular chondrocytes in cartilage tissue regeneration.*

J. Tissue Eng. Regen. Med. 3:97/106, 2009

Ropolo M.-Daga A.-Griffero F.-Foresta M.-Casartelli G.-Zunino A.- Poggi A.-Cappelli E.-Zona G.-Spaziante R.-Corte G.-Frosina G.

*Comparative analysis of DNA repair in stem and nonstem glioma cell cultures.*

Mol. Cancer Res. 7:383/392, 2009

Ruggiero T.-Trabucchi M.-De Santa F.-Zupo S.-Harfe B.-Mcmanus M.- Rosenfeld M.-Briata P.-Gherzi R.

*LPS induces KH type splicing regulatory protein dependent processing of microRNA/155 precursors in macrophages.*

FASEB J. 23:2898/2908, 2009

Trabucchi M.-Briata P.-Filipowicz W.-Rosenfeld M.-Ramos A.-Gherzi R.

*How to control miRNA maturation? Co/activators and co/repressors take the stage.*

RNA Biol. 6:536/540, 2009

Trabucchi M.-Briata P.-Garcia Mayoral M.-Haase A.-Filipowicz W.- Ramos A.-Gherzi R.-Rosenfeld M.

*The RNA binding protein KSRP promotes the biogenesis of a subset of microRNAs. Letter.*

Nature 459:1010/1014, 2009

Viale M.-Cordazzo C.-De Toter D.-Budriesi R.-Rosano C.-Leoni A.- Ioan P.-Aiello C.-Croce M.-Andreani A.-Rambaldi M.-Russo P.- Chiarini A.-Spinelli D.

*Inhibition of MDR1 activity and induction of apoptosis by analogues of nifedipine and diltiazem: an in vitro analysis.*

Invest. New Drugs Epub Oct 30, 2009

### **Attività didattica universitaria e training**

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

- Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia - Insegnamento Biologia Molecolare (G. Corte)
- Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie - Insegnamento Biologia Molecolare I e II (G. Corte, P. Malatesta)
- Corso di Laurea Interfacoltà in Biotecnologie - Insegnamento Tecnologie Ricombinanti e Insegnamento Terapia Genica (A. Daga)
- Corso di Laurea in Odontoiatria - Insegnamento Biologia Molecolare (P. Malatesta)
- Facoltà di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali - Insegnamento Differenziamento Cellulare (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 Orenco, 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, a studi "clinico-traslazionali" e a 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
- messa a punto di metodiche di preparazione di vaccini cellulari utilizzando procedure GMP (good manufacturing practice)
- 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 nuovi inibitori dei trasportatori di membrana responsabili della resistenza pleiotropica MDR e analisi del loro effetto sull'immunosoppressione neoplastica
- studio di anticorpi monoclonali convenzionali e ricombinanti nell'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
- caratterizzazione delle cellule staminali tumorali di neoplasie polmonari e oculari.

## Metodiche

- Produzione di anticorpi monoclonali murini
- Selezione di anticorpi ricombinanti da librerie fagiche
- Tecniche di base di biologia molecolare (preparazione di plasmidi, Real Time 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
- Test di farmacocinetica preclinica
- Dosaggio farmaci antitumorali Pt-derivati

### **Attrezzature**

- Attrezzatura standard per colture cellulari, biologia molecolare e colture batteriche
- Citofluorimetro FACScan
- Spettrofluorimetro accessorato 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 2009**

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 - *Regulation of neoplastic B cell survival by cytokines: signaling pathways and targets for therapy*

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

Alleanza contro il cancro - Programma 3 - Trasferimento delle conoscenze allo sviluppo di interventi volti a prevenire, diagnosticare e trattare il cancro (trial 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*

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

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*

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*

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

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

Ministero della Salute - *Effetto dell'approccio multidisciplinare associato a training fisico sui parametri metabolico/funzionali di popolazioni particolari di pazienti ad aumentato rischio cardiovascolare con o senza disfunzione ventricolare sinistra*

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*

## **Pubblicazioni**

Airoldi I.-Di Carlo E.-Cocco C.-Caci E.-Cilli M.-Sorrentino C.- Sozzi G.-Ferrini S.-Rosini S.- Bertolini G.-Truini M.-Grossi F.- Galietta L.-Ribatti D.-Pistoia V.  
*IL/12 can target human lung adenocarcinoma cells and normal bronchial epithelial cells surrounding tumor lesions.*  
PLoS One 4:e6119;1/e6119;11, 2009

Baio G.-Fabbi M.-Salvi S.-De Totero D.-Truini M.-Ferrini S.- Neumaier C.E.  
*Two step in vivo tumor targeting by biotin conjugated antibodies and superparamagnetic nanoparticles assessed by magnetic resonance imaging at 1.5 T.*  
Mol. Imaging Biol. Epub Oct 6, 2009

Barbieri F.-Pattarozzi A.-Gatti M.-Aiello C.-Quintero A.-Lunardi G.-Bajetto A.-Ferrari A.-Culler M.-Florio T.  
*Differential efficacy of SSTR1, 2, and 5 agonists in the inhibition of C6 glioma growth in nude mice.*  
Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 297:E1078/E1088, 2009

Cafaggi S.-Russo E.-Stefani R.-Parodi Br.-Caviglioli G.-Sillo G.- Bisio A.-Aiello C.-Viale M.  
*Preparation, characterisation and preliminary antitumour activity evaluation of a novel nanoparticulate system based on a cisplatin hyaluronate complex and N/trimethyl chitosan.*  
Invest. New Drugs Epub Dec 29, 2009

Croce M.-Corrias M.-Orengo A.M.-Brizzolara A.-Carlini B.-Borghini M.- Rigo V.-Pistoia V.-Ferrini S.  
*Transient depletion of CD4(+) T cells augments IL/21 based immunotherapy of disseminated neuroblastoma in syngeneic mice.*  
Int. J. Cancer Epub Dec 28, 2009

De Giovanni C.-Nicoletti G.-Palladini A.-Crocchi S.-Landuzzi L.- Antognoli A.-Murgo A.-Astolfi A.- Ferrini S.-Fabbi M.-Orengo A.M.- Amici A.-Penichet M.-Auricchio L.-Iezzi M.-Musiani P.-Nanni P.- Lollini P.  
*A multi DNA preventive vaccine for p53/Neu driven cancer syndrome.*  
Hum. Gene Ther. 20:453/464, 2009

Gangemi R.-Paleari L.-Orengo A.M.-Cesario A.-Chessa L.-Ferrini S.- Russo P.  
*Cancer stem cells: a new paradigm for understanding tumor growth and progression and drug resistance.*  
Curr. Med. Chem. 16:1688/1703, 2009

Khawam K.-Giron Michel J.-Gu Y.-Perier A.-Giuliani M.-Caignard A.- Devocelle A.-Ferrini S.- Fabbi M.-Charpentier B.-Ludwig A.-Chouaib S.-Azzarone B.-Eid P.  
*Human renal cancer cells express a novel membrane bound interleukin/15 that induces, in response to the soluble interleukin/15 receptor alpha chain, epithelial to mesenchymal transition.*  
Cancer Res. 69:1561/1569, 2009

Maio M.-Nicolay H.-Ascierto P.-Belardelli F.-Camerini R.-Colombo Ma.-Queirolo P.-Ridolfi R.-Russo V.-Fonsatti E.-Parmiani G.-Nibit- Ferrini S.  
*Sixth annual meeting of the Italian network for tumor biotherapy (NIBIT), Siena, 16/18 October 2008.*

Cancer Immunol. Immunother. Epub Mar 28, 2009

Monticone M.-Biollo E.-Fabiano A.-Fabbi M.-Daga A.-Romeo F.-Maffei M.-Melotti A.-Giaretti W.-Corte G.-Castagnola P.

*z/leucinyl/leucinyl/norleucinal induces apoptosis of human glioblastoma tumor initiating cells by proteasome inhibition and mitotic arrest response.*

Mol. Cancer Res. 7:1822/1834, 2009

Morabito F.-Cutrona G.-Gentile M.-Fabbi M.-Matis S.-Colombo M.- Reverberi D.-Megna M.-Spriano M.-Callea V.-Vigna E.-Rossi E.-Lucia E.-Festini G.-Zupo S.-Molica S.-Neri A.-Ferrarini M.

*Prognostic relevance of in vitro response to cell stimulation via surface IgD in binet stage a CLL. Letter.*

Br. J. Haematol. Epub Dec 8, 2009

Morandi B.-Mortara L.-Carrega P.-Cantoni C.-Costa G.-Accolla R.- Mingari M.C.-Ferrini S.-Moretta L.-Ferlazzo G.

*NK cells provide helper signal for CD8+ T cells by inducing the expression of membrane bound IL/15 on DCs.*

Int. Immunol. 21:599/606, 2009

Rotondo R.-Barisione G.-Mastracci L.-Grossi F.-Orengo A.M.-Costa R.-Truini M.-Fabbi M.-Ferrini S.-Barbieri O.

*IL/8 induces exocytosis of arginase 1 by neutrophil polymorphonuclears in nonsmall cell lung cancer.*

Int. J. Cancer 125:887/893, 2009

Viale M.-Cordazzo C.-De Toter D.-Budriesi R.-Rosano C.-Leoni A.- Ioan P.-Aiello C.-Croce M.-Andreani A.-Rambaldi M.-Russo P.- Chiarini A.-Spinelli D.

*Inhibition of MDR1 activity and induction of apoptosis by analogues of nifedipine and diltiazem: an in vitro analysis.*

Invest. New Drugs Epub Oct 30, 2009

## **Capacità di attrarre e formare ricercatori – anno 2009**

*Borsisti:* Gaia Barisione (novembre-dicembre)

*Contrattisti:* Gaia Barisione(gennaio-ottobre), Antonella Brizzolara, Matteo Capaia

## **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 (S. Ferrini)
- Corso di Laurea Specialistica in Biotecnologie (M. Fabbi, A.M. Orengo, S. Ferrini, R. Gangemi)

Completano il proprio percorso formativo presso la struttura ricercatori titolari 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*

---

Direttore: *vacante*

Dirigenti: Domenico Bordo, Camillo Rosano

Si tratta di una struttura complessa prevista nell'ambito dello sviluppo delle attività in convenzione con l'Università degli Studi di Genova.

Con le attuali dotazioni, si occupa di "Drug Design and Delivery" e dello studio delle interazioni tra proteine e farmaci, sfruttando l'esperienza acquisita negli anni nel campo della biologia e della bioinformatica strutturale, dimostrata dalla produzione scientifica e dalle numerose strutture tridimensionali di proteine già depositate presso la 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 e delle interazioni molecolari tra farmaco e proteina target, 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 per scopi cristallografici
- Refolding di proteine insolubili
- 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
- 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

## Attrezzature

- Attrezzatura standard per biologia molecolare e colture batteriche
- Apparato per cromatografia a bassa pressione "GRADIFRAC"
- Colonne per cromatografia
- SDS-Page
- Microscopi ottici
- Incubatori per crescita cellule procariotiche
- Centrifughe da banco refrigerate, supercentrifuga
- Camera fredda (cablata)
- Apparat 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 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

### **Progetti finalizzati in corso nel 2009**

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*

### **Pubblicazioni**

Brookes E.-Demeler B.-Rosano C.-Rocco M.

*The implementation of SOMO (SOLUTION MOdeller) in the UltraScan analytical ultracentrifugation data analysis suite: enhanced capabilities allow the reliable hydrodynamic modeling of virtually any kind of biomacromolecule.*

Eur. Biophys. J. Epub Feb 21, 2009

Fancello T.-Dardis A.-Rosano C.-Tarugi P.-Tappino B.-Zampieri S.- Pinotti E.-Corsolini F.-Fecarotta S.-D'amico A.-Di Rocco M.-Uziel G.-Calandra S.-Bembi B.-Filocamo M.

*Molecular analysis of NPC1 and NPC2 gene in 34 Niemann Pick C Italian patients: identification and structural modeling of novel mutations.*

Neurogenetics 10:229/239, 2009

Lanciotti M.-Caridi G.-Rosano C.-Pigullo S.-Lanza T.-Dufour C.

*Severe congenital neutropenia: a negative synergistic effect of multiple mutations of ELANE (ELA2) gene. Letter.*

Br. J. Haematol. 146:578/580, 2009

Lappano R.-Rosano C.-Madedo A.-Albanito L.-Plastina P.-Gabriele B.- Forti L.-Stivala L.-Iacopetta D.-Dolce V.-Ando' S.-Pezzi V.- Maggiolini M.

*Structure activity relationships of resveratrol and derivatives in breast cancer cells.*

Mol. Nutr. Food Res. 53:845/858, 2009

Persichetti E.-Chuzhanova N.-Dardis A.-Tappino B.-Pohl S.-Thomas N.-Rosano C.-Balducci C.-Paciotti S.-Dominissini S.-Montalvo A.- Sibilio M.-Parini R.-Rigoldi M.-Di Rocco M.-Parenti G.-Orlacchio A.-Bembi B.-Cooper D.-Filocamo M.-Beccari T.

*Identification and molecular characterization of six novel mutations in the UDP/N-acetylglucosamine/1-phosphotransferase gamma subunit (GNPTG) gene in patients with mucopolipidosis III gamma.*

Hum. Mutat. 30:978/984, 2009

Tappino B.-Chuzhanova N.-Regis S.-Dardis A.-Corsolini F.- Stroppiano M.-Tonoli E.-Beccari T.-Rosano C.-Mucha J.-Blanco M.- Szlago M.-Di Rocco M.-Cooper D.-Filocamo M.

*Molecular characterization of 22 novel UDP/N-acetylglucosamine/1-phosphate transferase alpha and beta subunit (GNPTAB) gene mutations causing mucopolipidosis types IIalpha/beta and IIIalpha/beta in 46 patients.*

Hum. Mutat. 30:E956/E973, 2009

Viale M.-Cordazzo C.-De Toter D.-Budriesi R.-Rosano C.-Leoni A.- Ioan P.-Aiello C.-Croce M.-  
Andreani A.-Rambaldi M.-Russo P.- Chiarini A.-Spinelli D.

*Inhibition of MDR1 activity and induction of apoptosis by analogues of nifedipine and diltiazem:  
an in vitro analysis.*

Invest. New Drugs Epub Oct 30, 2009

Zanetti A.-Ferraresi E.-Picci L.-Filocamo M.-Parini R.-Rosano C.- Tomanin R.-Scarpa M.

*Segregation analysis in a family at risk for the Maroteaux Lamy syndrome conclusively reveals  
c.1151G>A (p.S384N) as to be a polymorphism.*

Eur. J. Hum. Genet. 17:1160/1164, 2009

## **Capacità di attrarre e formare ricercatori – anno 2009**

*Contrattisti:* Paola Bisignano

## **Attività didattica universitaria e training**

I dirigenti della struttura svolgono attività didattica presso l'Università degli Studi di Genova, nell'ambito dei Corsi di Laurea in Biotecnologie e in Scienze Fisiche.

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

## **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/agggregazione
- 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 CO<sub>2</sub>
- Congelatori -80°C
- Contenitori azoto liquido

### **Progetti finalizzati in corso nel 2009**

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro - *Neuroblastoma cell differentiation and malignancy inhibition by 29A, a novel pol III-transcribed cogene*

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 e disciplinari di incarico**

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

### **Pubblicazioni**

Belicchi M.-Cancedda R.-Cedola A.-Fiori F.-Gavina M.-Giuliani A.- Komlev V.-Lagomarsino S.-Mastrogiacomo M.-Renghini C.-Rustichelli F.-Sykova' E.-Torrente Y.

*Some applications of nanotechnologies in stem cells research.*

Mater. Sci. Eng. B Solid State Mater. Adv. Technol. 165:139/147, 2009

Castelnuovo M.-Monticone M.-Massone S.-Vassallo I.-Tortelli F.- Cancedda R.-Pagano A.

*Rolly Protein (ROLP)/Epb4.1/3: a potential protein/protein interaction relevant for the maintenance of cell adhesion.*

Int. J. Mol. Sci. 10:2054/2065, 2009

Gentili C.-Cancedda R.

*Cartilage and bone extracellular matrix.*

Curr. Pharm. Des. 15:1334/1348, 2009

Giannoni P.-Muraglia A.-Giordano C.-Narcisi R.-Cancedda R.-Quarto R.-Chiesa R.

*Osteogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells on surface modified titanium alloys for orthopedic and dental implants.*

Int. J. Artif. Organs 32:811/820, 2009

Guagliardi A.-Giannini C.-Cedola A.-Mastrogiacomo M.-Ladisa M.- Cancedda R.

*Toward the X ray microdiffraction imaging of bone and tissue engineered bone.*

Tissue Eng. Part B Rev. 15:423/442, 2009

Komlev V.-Mastrogiacomo M.-Peyrin F.-Cancedda R.-Rustichelli F.

*X-ray synchrotron radiation pseudo holotomography as a new imaging technique to investigate angio and microvasculogenesis with no usage of contrast agents.*

Tissue Eng. Part C Methods 15:425/430, 2009

Lenti M.-Gentili C.-Pianezzi A.-Marcolongo G.-Lalli A.-Cancedda R.- Descalzi F.

*Monogalactosyldiacylglycerol anti inflammatory activity on adult articular cartilage.*

Nat. Prod. Res. 23:754/762, 2009

Pereira R.-Scaranari M.-Castagnola P.-Grandizio M.-Azevedo H.-Reis R.-Cancedda R.-Gentili C.

*Novel injectable gel (system) as a vehicle for human articular chondrocytes in cartilage tissue regeneration.*

J. Tissue Eng. Regen. Med. 3:97/106, 2009

Santo V.-Frias A.-Carida M.-Cancedda R.-Gomes M.-Mano J.-Reis R.

*Carrageenan based hydrogels for the controlled delivery of PDGF/BB in bone tissue engineering applications.*

Biomacromolecules 10:1392/1401, 2009

Tasso R.-Augello A.-Boccardo S.-Salvi S.-Carida' M.-Postiglione F.- Fais F.-Truini M.-Cancedda R.-Pennesi G.

*Recruitment of a host's osteoprogenitor cells using exogenous mesenchymal stem cells seeded on porous ceramic.*

Tissue Eng. Part A 15:2203/2212, 2009

Tasso R.-Fais F.-Reverberi D.-Tortelli F.-Cancedda R.

*The recruitment of two consecutive and different waves of host stem/progenitor cells during the development of tissue engineered bone in a murine model.*

Biomaterials Epub Dec 21, 2009

Tavella S.-Bobola N.

*Expressing Hoxa2 across the entire endochondral skeleton alters the shape of the skeletal template in a spatially restricted fashion.*

Differentiation Epub Dec 22, 2009

Tortelli F.-Cancedda R.

*Three dimensional cultures of osteogenic and chondrogenic cells: a tissue engineering approach to mimic bone and cartilage in vitro.*

Eur. Cell. Mater. 17:1/14, 2009

Tortelli F.-Pujic N.-Liu Y.-Laroche N.-Vico L.-Cancedda R.

*Osteoblast and osteoclast differentiation in an in vitro three dimensional model of bone.*

Tissue Eng. Part A 15:2373/2383, 2009

Tortelli F.-Tasso R.-Loiacono F.-Cancedda R.

*The development of tissue engineered bone of different origin through endochondral and intramembranous ossification following the implantation of mesenchymal stem cells and osteoblasts in a murine model.*

Biomaterials Epub Sep 29, 2009

Zaky S.-Cancedda R.

*Engineering craniofacial structures: facing the challenge.*

J. Dent. Res. 88:1077/1091, 2009

### **Capacità di attrarre e formare ricercatori – anno 2009**

*Contrattisti:* Roberta Biticchi, Manuela Lenti, Valentina Ulivi

### **Attività didattica universitaria e training**

Il personale universitario convenzionato 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 (R. Cancedda, S. Tavella)
- Corso di Laurea Interfacoltà di Biotecnologie - Insegnamenti Biologia Cellulare II + Lab. Medicina Rigenerativa incluso biomateriali e terapia cellulare (R. Cancedda)
- Corso di Laurea Interfacoltà di Biotecnologie - Insegnamenti Biologia I, Tecnologie Ricombinanti (A. Pagano)
- Corso di Studi Scienze Infermieristiche - Insegnamenti Biologia (A. Pagano)
- Corso di Studi Fisioterapia - Insegnamenti Biologia (A. Pagano)

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 Medicina Rigenerativa ed Ingegneria dei Tessuti

### **Dati di struttura**

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