

DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA MOLECOLARE

Anno 2004

Relazione annuale del Dott. **Gianluca Baldanzi** I anno, XIX ciclo

PROGETTO DI RICERCA

“MECCANISMI DI ATTIVAZIONE E FUNZIONE DI α DGK”

Introduzione

Focus del mio laboratorio è la caratterizzazione del ruolo svolto da α Diacilglicerolo cinasi (α Dgk) nella trasduzione del segnale dei fattori di crescita e degli oncogeni.

Le diacilglicerolo cinasi (Dgk) sono una famiglia di enzimi che fosforilano il diacilglicerolo (DAG) per dare acido fosfatidico (PA). Sono note nove isoforme di Dgk che condividono un dominio catalitico conservato preceduto da due domini ricchi in cisteine (CRD). Strutturalmente le nove isoforme e le numerose varianti di splicing note possono essere suddivise in cinque classi:

- classe I: comprende le isoforme α , β e γ , questa classe è caratterizzata da due EF-hand che legano il calcio all'estremo N-terminale.
- classe II: comprende le isoforme δ e η , contenenti un dominio PH all'N-terminale e per l'isoforma δ -Dgk un dominio EPH.
- classe III: comprendente la sola ϵ -Dgk. ϵ -Dgk non ha domini caratteristici ma è specifica per l'Sn-1-Stearoil-2-arachidonoilglicerolo; contribuisce alla modulazione dei segnali neuronali legati all'attività sinaptica e alla plasticità neuronale (Rodriguez de Turco et al., 2000).
- classe IV: comprende le isoforme ζ e ι , è caratterizzata da quattro domini tipo anchirina in tandem al C-terminale e da un sito analogo al sito di fosforilazione delle proteine MARCKs che ne regola la traslocazione nel nucleo.
- classe V: comprende l'isoforma θ -Dgk che presenta tre domini CRD, un dominio PH e un dominio ricco in glicina e prolina.

Le Dgk sono fondamentali nel controllo delle attività cellulari in quanto regolano il livello di due importanti secondi messaggeri intracellulari consumando DAG per sintetizzare PA. PA viene prodotto oltre che da Dgk anche dalla fosfolipasi D (Blitterswijk et al., 1994; Hodgkin et al., 1998) ed è un regolatore di molte proteine coinvolte nella trasduzione del segnale tra cui: Raf chinasi (Ghosh et al., 1996), fosfatidilinositolo-4-fosfato-5 cinasi (Moritz et al., 1992; Honda et al., 1999), le isoforme ζ e α di PKC (Limatola et al., 1994). Il DAG viene generato a partire da fosfatidilinositolo 4,5-bifosfato (PIP_2) ad opera della $PLC\gamma$, dalla defosforilazione del PA ad opera della PA-fosfoidrolasi e mediante attività glicerolo- e monoacilglicerolo-aciltransferasi. Nel reticolo endoplasmatico il DAG è un intermedio nella sintesi di fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) (Carman et al., 1996) e trigliceridi. Inoltre il DAG generato nelle membrane plasmatiche mediante idrolisi di fosfolipidi, è un potente attivatore delle PKC, una famiglia di serine cinasi coinvolte nella trasduzione dei segnali differenziativi e proliferativi (Hodgkin et al., 1998). I livelli cellulari di DAG sono strettamente regolati ed un suo aumento incontrollato, come nel caso di cellule che sovraesprimono $PLC\gamma$, è causa di un fenotipo tumorale (Chang J. et al., 1997).

L'isoforma α , oggetto di questo progetto di ricerca, è espressa ad alti livelli nel timo, nella milza, nei linfociti circolanti e nel cervello (Shaap e al., 1990). Minori livelli di espressione sono stati osservati anche in cellule epiteliali, endoteliali, epatiche e gastriche (Cutrupi e al. 2000, Baldanzi e al. 2004). α Dgk è una proteina di 86 kDa abbondantemente presente nel citosol e in grado di associare reversibilmente alle membrane in maniera calcio e PIP3 regolato (Sakane et al., 1991; Sakane et al., 1996; Jiang et al., 2000; Ames et al., 1997; Ciprés et al., 2003). I domini EF-hand regolati dal calcio agiscono come regolatori negativi dell'attività enzimatica e mediano l'associazione alle membrane in presenza di Ca^{++} ; la delezione delle regioni EF-hand fa sì che l'enzima sia costitutivamente attivo e localizzato in membrana in assenza di stimolazione (Sakane et al., 1991; Sakane et al., 1996; Jiang et al., 2000; Ames et al., 1997).

Nei linfociti α Dgk risulta attivata da IL-2 in modo calcio indipendente attraverso PI3K e Src. *In vitro* PIP3 prodotto da PI3K è sufficiente per attivare α Dgk e rilocalizzarla in membrana (Ciprés et al., 2003). Nei linfociti T l'attivazione di α Dgk da IL-2 è richiesta per il passaggio dalla fase G₁ alla fase S del ciclo cellulare (Flores et al., 1996), inoltre α Dgk è necessaria per la maturazione dei linfociti (Ciprés et al., 2003).

Il mio laboratorio ha contribuito allo studio di α Dgk con due articoli:

1. Nel primo (Cutrupi et al., 2000) abbiamo studiato l'attivazione di α Dgk in cellule stimulate con HGF dimostrando che :
 - α Dgk è attivata da HGF in cellule epiteliali ed endoteliali,
 - un mutante cataliticamente inattivo di α Dgk agisce da dominante negativo impedendo l'attivazione dell'enzima endogeno,
 - l'inibizione di α Dgk ottenuta tramite l'inibitore R59949 o tramite il dominante negativo blocca l'effetto chemiotattico di HGF in cellule endoteliali,
 - HGF promuove la formazione di un complesso tra α Dgk e la tirosina cinasi citoplasmatica Src la cui attività catalitica è richiesta per l'attivazione di α Dgk in seguito a stimolazione con HGF
 - Src può attivare α Dgk in vitro e α Dgk può essere fosforilata in cellule intatte trattate con pervanadato
2. Nel secondo (Baldanzi et al. 2004) abbiamo studiato il ruolo di α Dgk nell'angiogenesi, dimostrando che:

- nella linea endoteliale PAE-KDR, VEGF-A₁₆₅ attiva α Dgk e promuove la formazione di un complesso Src - α Dgk;
- in cellule endoteliali primarie HUVEC, VEGF-A₁₆₅ attiva un'attività Dgk solo in parte sensibile a R59949 suggerendo che in queste cellule anche altre isoforme, insensibili a R59949, siano attivate;
- in entrambi i tipi cellulari l'attivazione di Dgk richiede l'attività catalitica di Src
- l'inibizione di α Dgk ottenuta tramite l'inibitore R59949, il mutante dominante negativo o tramite specifici RNA interferenti era in grado di bloccare chemiotassi, proliferazione e angiogenesi in vitro indotte da VEGF-A₁₆₅.

Ricerche che il candidato intende svolgere durante il dottorato di ricerca

I dati presentati sono alla base di una serie di filoni di ricerca complementari che saranno perseguiti in parallelo nel laboratorio di biochimica sotto la supervisione del Prof. A. Graziani.

Meccanismi di attivazione di α Dgk

Abbiamo dimostrato che l'attivazione di α Dgk richiede l'attività della tirosina cinasi citoplasmatica Src con cui α Dgk forma un complesso.

Si vogliono innanzitutto identificare i siti di α Dgk fosforilati da Src, a questo scopo verranno individuati i possibili siti consenso per la fosforilazione di α Dgk. Di questi siti saranno realizzati una serie di mutanti tirosina > fenilalanina per verificare quali non siano fosforilati nel saggio di cotrasfezione con Src utilizzato in Cutrupi et al. 2000. Per verificare se la fosforilazione di α Dgk sia necessaria per l'attivazione dell'enzima si verificherà se eventuali mutanti non fosforilabili da Src siano anche non attivabili da fattori di crescita quali HGF.

Inoltre utilizzando una serie di mutanti di α Dgk ed i numerosi mutanti di Src già disponibili intendo individuare i determinanti molecolari dell'interazione tra Src e α Dgk. In particolare una sequenza ricca in proline presente nel dominio C-terminale di α Dgk rappresenta un potenziale sito di associazione al dominio SH3 di Src.

Attivazione di α Dgk in cellule trasformate con vSrc

Dato che α Dgk può essere attivata in vitro ed in vivo da Src possiamo ipotizzare che sia un substrato anche per l'oncogene vSrc.

Valuteremo quindi se α Dgk sia fosforilata ed attivata da vSrc e se la sua inibizione, farmacologica o tramite dominante negativo, sia in grado di revertire almeno in parte il fenotipo trasformato indotto da vSrc in cellule epiteliali.

Importanza di α Dgk nella transizione epitelio-mesenchima

Il tipico effetto biologico di HGF in cellule epiteliali è la transizione epitelio mesenchima ricapitolata in colture bidimensionali dal tipico effetto scatter (le cellule epiteliali crescono in colonie ma se trattate con HGF si dissociano ed iniziano a migrare) ed in colture tridimensionali dalla capacità di invadere la matrice (come cellule singole o come strutture tubulari organizzate secondo le condizioni ed il tipo cellulare).

Intendo quindi utilizzare i reagenti per l'inibizione di α Dgk presenti nel mio laboratorio (inibitore R59949, mutante cataliticamente inattivo che fa da dominante negativo, RNA interferenti specifici) per valutare il coinvolgimento di α Dgk nella transizione epitelio mesenchima indotta da HGF ma anche da trasformazione con oncogeni quali vSrc.

Ricerca di effettori di α Dgk

L'inibizione di α Dgk ha effetti drammatici sulla trasduzione del segnale, bloccando o riducendo gli effetti biologici di fattori di crescita quali IL2, HGF e VEGF (Cutrupi et al. 2000, Baldanzi et al. 2004, Flores et al., 1996). Non è noto di quale via di traduzione del segnale α Dgk fa parte e quali siano i suoi effettori. In molti sistemi di trasduzione del segnale l'attivazione di Dgk- α contribuisce a terminare il segnale mediato dal DAG e la sua inibizione risulta in un accumulo di DAG che promuove l'attività degli enzimi DAG dipendenti (Diaz-Flores et al., 2003). Questo non sembra spiegare gli effetti dell'inibizione di Dgk- α da noi osservati in quanto un accumulo di DAG dovrebbe incrementare l'attività di PKC- α e accrescere piuttosto che inibire la risposta angiogenica indotta da VEGF-A₁₆₅ (Matsumoto e Claesson-Welsh., 2001; Wellner et al., 1999; Wang et al., 2002).

Alternativamente il ruolo dell'attivazione di Dgk- α potrebbe consistere nella generazione di un segnale mediato da PA. *In vitro* PA è un regolatore di molte proteine coinvolte nella trasduzione del segnale, alcune delle quali coinvolte nella trasduzione del segnale di VEGF-A e HGF (Topham e Prescott., 1999; Gomez-Cambronero e Keire., 1998; English., 1996). Tra le proteine attivate da PA e coinvolte nella trasduzione del segnale dei fattori di crescita ricordiamo: PKC ζ , che è regolata positivamente da PA e da fosforilazione da parte di Src (Seibenhener et al., 1999; Limatola et al., 1994); Raf, che è regolata da PA *in vitro* (Andresen et al., 2002); Rho-GDI e PI(4)P 5 cinasi che rispettivamente mediano l'attivazione di Rac (Del Pozo et al., 2002; Zeng et al., 2002) e partecipando al reclutamento di proteine delle adesioni focali richieste per il movimento cellulare (Jenkins et al., 1994; Di Paolo et al., 2002). In più PA regola anche l'attivazione di mTor, una serina cinasi coinvolta nella trasduzione di fattori di crescita che stimolano il segnale proliferativo (Fang et al., 2001).

Per studiare quale di questi possibili effettori rappresenti un bersaglio in vivo di α Dgk intendiamo adottare una strategia proteomica ad ampio spettro.

Ipotizziamo che dato che il PA prodotto da α Dgk sia un pool localizzato in un distinto dominio di membrana e quindi supponiamo che come per altri sistemi di segnalazione (es. c-AMP/PKA/AKAP/substrati di PKA) α Dgk faccia parte di un complesso di trasduzione del segnale

comprendente anche i suoi effettori. In collaborazione con il laboratorio di proteomica diretto dal Prof. Piero Pucci cercheremo di caratterizzare tramite MALDI/TOF proteine che copurificano con α Dgk in cellule stimulate con fattori di crescita o trasformate con mutanti attivati di Src. Come esca verranno realizzati costrutti quali GST- α Dgk o TRAP- α Dgk adatti alle preparazioni su larga scala necessarie per l'analisi proteomica.

Una seconda strategia parte dall'osservazione che l'inibizione di α Dgk blocca la trasduzione del segnale di recettori tirosina cinasi quali quelli di HGF e VEGF e da dati preliminari che indicano che una riduzione della fosforilazione in tirosina di alcune proteine in cellule trattate con R59949. Possiamo ipotizzare che alcune proteine fosforilate in tirosina dai recettori attivati richiedano l'attività enzimatica di α Dgk per essere correttamente reclutati e fosforilati. Intendiamo quindi immunoprecipitare le proteine fosforilate in tirosina da cellule stimulate in presenza od in assenza di inibitori di α Dgk, separare le proteine tramite cromatografia bidimensionale ed eventualmente identificare tramite MALDI/TOF quelle che richiedono α Dgk per essere fosforilate.

Bibliografia

- Ames J. B., Ishima R., Tanaka T., Gordon J. I., Stryer L. e Ikura M. (1997) *Nature* 389, 198-202
- Andresen B. T., Rizzo M. A., Shome K. e Romero G. (2002) *FEBS Lett.* 531, 65-68
- Baldanzi G., Mitola S., Cutrupi S., Filigheddu N., Blitterswijk WJ, Sinigaglia F., Bussolino F, Graziani A. (2004) *Oncogene*. 23:4828-4838
- Blitterswijk W. J., Schaap D. e van der Bend R. (1994) *Curr. Top Membr.* 40, 413-437
- Carman G. M. e Zeimetz G. M. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 13293-13296
- Chang J. S., Noh D. Y., Park I. A., Kim M. J., Song H., Ryu S. H. e Suh P. G. (1997) *Cancer Res.* 57, 5465-5468
- Ciprés A., Carrasco S., Merino E., Díaz E., Murali Krishna U., Falck J. R., Martínez-A C. e Mérida I. (2003) *J. Biol. Chem.* 278, 35629-35635
- Cutrupi S., Baldanzi G., Gramaglia D., Maffè A., Schaap D., Giraudo E., van Blitterswijk W. J., Bussolino F., Comoglio P. M. e Graziani A. (2000) *The Embo Journal* 19, 4614-4622
- Del Pozo M. A., Kiosses W. B., Alderson N. B., Meller N., Hahn K. M. e Schwartz M. A. (2002) *Nat. Cell. Biol.* 4, 232-239
- Di Paolo G, Pellegrini L, Letinic K, Cestra G, Zoncu R, Voronov S, Chang S, Guo J, Wenk MR, De Camilli P. (2002) *Nature*. 420:85-89.
- Diaz-Flores E., Siliceo M., Martinez-A C. e Merida I. (2003) *J. Biol. Chem.* 278, 29208-29215
- English D., Cui Y. e Siddiqui R. A. (1996) *Chem. Phys. Lipids* 80, 117-132
- Fang Y., Vilella-Bach M., Bachmann R., Flanigan A. e Chen J. (2001) *Science* 294, 1942-1945
- Flores I., Casaseca T., Martinez-A C., Kanoh H. e Merida I. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 10334-10340
- Gosh S., Strum JC., Sciorra VA, Daniel L. e Bell RM. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 8472-8480

- Gomez-Cambronero J. e Keire P. (1998) *Cell Signal* 10, 387-397
- Hodgkin M., Pettitt T., Martin A., Michell R., Pemberton A. e Wakelam M. (1998) *Trends Biochem. Sci.* 23, 200-204
- Honda A., Nogami m., Yokozeki T., Yamazaki M., Nakamura H., Watanabe H., Kawamoto K., Nakayama K., Morris a. J., Frohman M. A. e Kanaho Y. (1999) *Cell* 99, 521-532
- Jenkins G. H., Fiset P. L. e Anderson R. A. (1994) *J. Biol. Chem.* 269, 11547-11554
- Jiang Y., Sakane F., Kanoh H. e Walsh J. P. (2000) *Biochem. Pharmacol.* 59, 763-772
- Limatola C., Schaap D., Moolenaar W. H. e van Blitterswijk W. J. (1994) *Biochem. J.* 304, 1001-1008
- Matsumoto T. e Claesson-Welsh (2001) *Science's STKE* 112, RE21
- Moritz A., De Graan P. N. E., Gispen W. H. e Wirtz K. W. A. (1992) *J. Biol. Chem.* 267, 7207-7210
- Rodriguez de Turco E. B., Tang W., Topham M. K., Sakane F., Marcheselli V. L., Chen C., Taketomi A., Prescott S. M. e Bazan N. G. (2000) *PNAS* 98, 4740-4745
- Sakane F., Yamada K., Imai S. e Kanoh H. (1991) *J. Biol. Chem.* 266, 7096-7100
- Commun.* 181, 1015-1021
- Sakane F., Kai M., Wada I., Imai S. e Kanoh H. (1996) *Biochem. J.* 318, 583-590
- Seibenhener M. L., Roehm J., White W. O., Neidigh K. B., Vandenplas M. L. e Wooten M. W. (1999) *Mol. Cell Biol. Res. Commun.* 2, 28-31
- Schaap D., de Widt J., van der Wal J., Vandekerckhove J., van Damme J., Gussow D., Ploegh H. L., van Blitterswijk W. J. e van der Bend R. L. (1990) *FEBS Lett.* 275, 151-158
- Tophan M. e Prescott S. (1999) *J. Biol. Chem.* 274, 11447-11450
- Wang A., Nomura M., Patan S. e Ware J. A. (2002) *Circ. Res.* 90, 609-616

Wellner M., Maasch C., Kupprion C., Lindschau C., Luft F. C. e Haller H. (1999) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 19, 178-185

Zeng H., Zhao D. e Mukhopadhyay D. (2002) *J. Biol. Chem.* 277, 46791-46798

Novara, 30/09/04

Dr. Gianluca Baldanzi

DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA MOLECOLARE

Anno 2004

Attività svolte dal Dott. **Gianluca Baldanzi** I anno, XIX ciclo

Seminari frequentati:

1. Lunedì 27 Settembre 2004, ore 15:30 “Traffico intra- ed extra-cellulare di nucleotidi-segnale attivi nella regolazione del calcio cellulare” Prof. Antonio De Flora
2. 23 Settembre 2004, Relazione annuale dottorati
3. 16 Settembre 2004, Relazione annuale dottorati
4. 7 Luglio 2004, "Ethanol metabolism and Toxicity in Pregnancy" Prof. Martin Ronis
5. 5 Luglio 2004, “From the bench to the bedside: Galectin-3 immunodetection for improving the preoperative diagnosis of the follicular thyroid lesions” Prof. Armando Bartolazzi,
6. 29 giugno 2004, “PI 3-kinase controls cardiac contractility and hypertrophy through kinase-dependent and independent functions” Prof. Emilio Hirsch
7. 11 giugno 2004, “Virus e malattie autoimmuni” Antonio PUCCETTI
8. 20 maggio 2004, “Le artriti croniche del bambino” Alberto MARTINI
9. maggio 2004, “Genetic bases of the Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS)” Frédéric RIEUX-LAUCAT

Congressi frequentati:

- Ho esposto i risultati delle mie ricerche al 1st Italian RNA interference Symposium, tenutosi il giorno 8 Giugno 2004 a Milano presso IFOM – Istituto FIRC di Oncologia Molecolare.
- Ho esposto i risultati delle mie ricerche all'edizione 2004 della riunione della sezione Liguria-Lombardia-Piemonte della SIB, tenutasi a NOVARA il 14 Maggio 2004.
- Ho partecipato al FEBS Lecture Course on Cellular Signaling & 4° Dubrovnik Signaling Conference, tenutosi a Dubrovnik, Croatia, 21-27 Maggio 2004.

Pubblicazioni:

- Gianluca Baldanzi, Stefania Mitola, Santina Cutrupi, Nicoletta Filigheddu, Wim J van Blitterswijk, Fabiola Sinigaglia, Federico Bussolino, Andrea Graziani
Activation of diacylglycerol kinase α is required for VEGF-induced angiogenic signaling in vitro
Oncogene. 2004 Jun 17;23(28):4828-38 *IF* 5,979
- Rita Carini, Maria Grazia De Cesaris, Roberta Splendore, Gianluca Baldanzi, Maria Paola Nitti, Elisa Alchera, Nicoletta Filigheddu, Cinzia Domenicotti, Maria Adelaide Pronzato, Andrea Graziani and Emanuele Albano
Role of phosphatidylinositol 3-kinase in the development of hepatocyte preconditioning
Accepted for publication on Gastroenterology *IF* 12,75

Altri abstracts e posters presentati a congressi e meetings:

- ANBI 2004 - Villa Gualino, Torino:
DIACILGLICEROLO CINASI- α (α DGK) E FOSFATIDILINOSITOLO-4-FOSFATO 5-CINASI (PI4P-5K): PROGETTO PER LO STUDIO DI UN POSSIBILE CROSSTALK.
F. Chianale, S. Cutrupi, **G. Baldanzi**, P. Mirabelli, F. Maccarini, F. Pontiroli, A. Graziani.
- ANBI 2004 - Villa Gualino, Torino
STUDIO DEL COINVOLGIMENTO DI GRELINA NEL DIFFERENZIAMENTO MUSCOLARE.
V. Gnocchi, N. Filigheddu, **G. Baldanzi**, S. Cutrupi, F. Chianale, M. Prat e A. Graziani
- FISV 2004 - Palacongressi, Riva del Garda
DIACYLGLICEROL KINASE-ALPHA IS INVOLVED IN REGULATION OF CELL ADHESION TO EXTRACELLULAR MATRIX
F. Chianale, S. Cutrupi, **G. Baldanzi**, G. Brignoli, L. Moro and A. Graziani
- FISV 2004 - Palacongressi, Riva del Garda
PROTEOMIC ANALYSIS OF α -DIACYLGLYCEROL KINASE ASSOCIATED PROTEINS AND EFFECTORS
Brignoli G, **Baldanzi G**, Cutrupi S, Chianale F, Filigheddu N, Gnocchi V, Sinigaglia F. and Graziani A.

- SIC "XLVI Congresso Nazionale della Società Italiana di Cancerologia" - Pisa 2004
 DIACYLGLYCEROL KINASE- ALPHA IS INVOLVED IN HGF-INDUCED INVASION OF MAMMARY CELLS
 Santina Cutrupi, Viola Gnocchi, Fortina Elisabetta, Piantanida Paola, **Gianluca Baldanzi**, Federica Chianale, Nicoletta Filigheddu, Nicola Surico, Andrea Graziani
- Lussemburgo, gennaio 2004
 DIACYLGLYCEROL KINASE- α IS A POTENTIAL TARGET FOR ANGIOGENESIS AND METASTASIS CONTROL
Gianluca Baldanzi, Stefania Mitola, Santina Cutrupi, Nicoletta Filigheddu, Federica Chianale, Federica Pontiroli, Federica Maccarini, Wim J van Blitterswijk, Fabiola Sinigaglia, Federico Bussolino, Andrea Graziani
- 1st italian RNA interference symposium - Milano, 2004
 NEW TOOLS FOR α DGK INHIBITION.
 G. Baldanzi, S. Mitola, S. Cutrupi, N. Filigheddu, F. Chianale, V. Gnocchi, A. Graziani.
- FEBS Lecture Course on Cellular Signaling & 4th Dubrovnik Signaling Conference - Cavtat (Croatia) 2004
 HGF- AND V-SRC-INDUCED ACTIVATION OF α DIACYLGLYCEROL KINASE ARE REQUIRED FOR EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION
 S. Cutrupi, F. Chianale, P. Mirabelli, **G. Baldanzi**, N. Filigheddu, V. Gnocchi, A. Graziani..
- Workshop Molecular advances in DAG signaling - Madrid (Spain) 2004
 MECHANISM OF ACTIVATION AND ROLE OF ALPHA-DIACYLGLYCEROL KINASE IN HGF SIGNALING IN EPITHELIAL CELLS.
 Cutrupi, **Baldanzi**, Chianale, Filigheddu, Gnocchi and Graziani
- BioScience2004, from molecules to organisms - Glasgow (Scozia) 2004
 α DIACYLGLYCEROL KINASE IS A POTENTIAL TARGET FOR ANGIOGENESIS AND METASTASIS CONTROL
Baldanzi GL., Mitola S., Cutrupi S., Chianale F., van Blitterswijk W, Bussolino F., Graziani A.
- EMBO workshop Lymphocyte antigen receptor and coreceptor signaling - Certosa di Pontignano, Siena 2004
 α -DIACYLGLYCEROL KINASE IS ACTIVATED BY SRC AND GROWTH FACTORS THROUGH TYROSINE PHOSPHORYLATION.
Gianluca Baldanzi, Santina Cutrupi, Federica Chianale, Paola Mirabelli, Federica Pontiroli, Federica Maccarini, Andrea Graziani.
- ABCD 2004, Hotel Farnese, Roma:
 HGF- AND V-SRC-INDUCED ACTIVATION OF DIACYLGLYCEROL KINASE- α ARE REQUIRED FOR EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION.
 Santina Cutrupi, Federica Chianale, Paola Mirabelli, **Gianluca Baldanzi**, Nicoletta Filigheddu, Viola Gnocchi, Andrea Graziani

Novara, 30/09/04

Dr. Gianluca Baldanzi