

DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE 'A. AVOGADRO'
XVI CICLO – DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA MOLECOLARE

Dottoranda: DANIELA GIOIA
relazione del quarto anno

**Caratterizzazione dei geni Interferon-Inducibili appartenenti
alla famiglia IFI200: un modello sperimentale per lo studio dell'attività di controllo della
crescita cellulare indotta dagli Interferoni.**

Tutore: Prof.ssa M.GARIGLIO

INTRODUZIONE

Gli Interferoni sono citochine che in seguito al legame con specifici recettori di membrana sono in grado di modulare diverse attività cellulari (antivirale, immunomodulatoria e di controllo della proliferazione e del differenziamento cellulare) inducendo specificamente l'espressione o l'attivazione di diverse proteine endogene. Il sistema mediante il quale le cellule rispondono ai diversi tipi di Interferoni è unico ed è il risultato di una catena di eventi che portano alla generazione di vie di trasduzione del segnale, responsabili dell'attivazione di specifici geni cellulari. Le proteine coinvolte in queste fasi appartengono alla famiglia JAK (*Janus kinases*), alla famiglia STAT (*signal transducer and activator of transcription*) e IRF (*Interferon regulatory factor*), la cui funzione principale è quella di amplificare il segnale fino al nucleo, inducendo l'attivazione trascrizionale dei geni interferon-inducibili. Agendo come fattori di trascrizione, si legano a particolari sequenze nucleari, al 5' della regione fiancheggiante il gene inducibile, dette ISRE (*Interferon stimulatable responsive element*: per l'IFN α/β e per l'IFN γ) e GAS (*Gamma activated factor*: solo per l'IFN γ), determinando l'espressione di numerose proteine effettrici che mediano le due principali funzioni degli Interferoni: l'attività antivirale e l'attività antiproliferativa. Tra i geni indotti dagli Interferoni, i membri della famiglia murina Ifi200 (Ifi202, Ifi203, Ifi204 e D3) (Landolfo S., et al., 1998; Gribaudo G., et al., 1997; Gariglio M., et al., 1998;) e della controparte umana HIN200 (IFI16, MNDA e AIM-2), sono oggetto di studio nel laboratorio in cui ho svolto il Dottorato di ricerca. In particolare la nostra attenzione è rivolta, ormai da anni, verso la proteina umana IFI16.

Il gene IFI16

Il gene IFI16 è stato identificato nella ricerca di proteine antigeniche specifiche delle linee linfoidi umane (Dawson et al., 1995). Il suo gene è di 10 esoni e 9 introni. Il prodotto genico contiene due segmenti aminoacidici altamente conservati, uno di tipo *a* e uno di tipo *b*. A differenza di p202 e p204 murine, in cui i domini sono contigui, in IFI16 essi sono separati da una sequenza di 136 aa (Trapani et al., 1992). L'esone 1 non è tradotto ma comprende sequenze che conferiscono inducibilità da parte degli INF- α e $-\gamma$.

In esperimenti di western blotting condotti su cellule mieloidi con anticorpi anti-IFI16 si individuano tre specie proteiche con peso molecolare compreso tra 80 e 90 kDa, corrispondenti a tre isoforme (IFI16a, IFI16b, IFI16c) (figura 1), le quali differiscono nella regione spaziatrice tra i domini a e b. Esse derivano dallo splicing alternativo dell'mRNA che può contenere rispettivamente una, due o tre copie di un dominio altamente conservato di 56 aa (S/T/P costituito dalla ripetizione Serina/Treonina/Prolina) (Johnstone e Trapani, 1998).

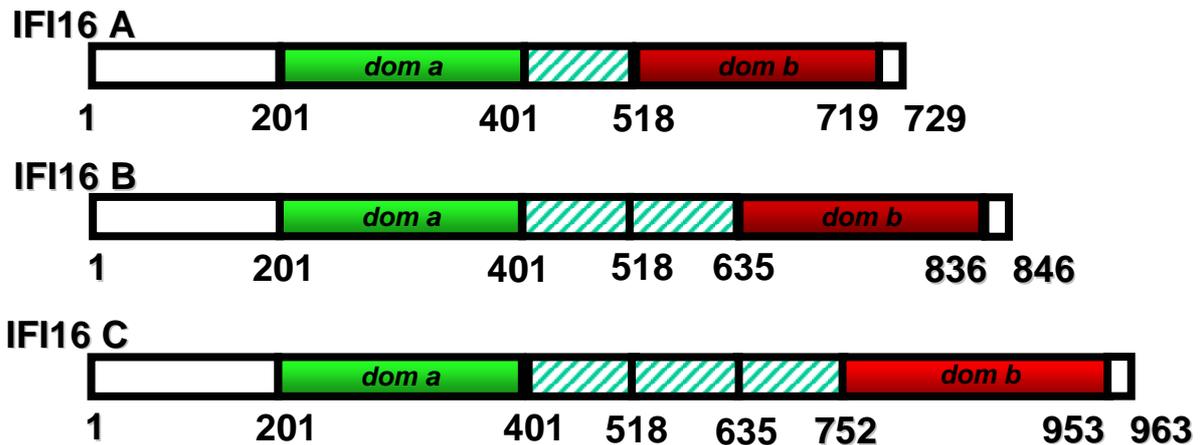


Fig. 1: Rappresentazione schematica delle tre isoforme della proteina Interferon-inducibile umana IFI16

La proteina IFI16 presenta all'estremità N-terminale una sequenza di consenso nucleare CcN. Questa sequenza può essere fosforilata in serina, regolando la traslocazione nucleare della proteina. Inoltre IFI16 contiene un dominio N-terminale in grado di legare il DNA, la cui presenza indica una possibile attività come fattore trascrizionale. Tale sequenza è stata sperimentalmente fusa con il dominio legante il DNA GAL4 ed è stata così identificata la funzione di repressore trascrizionale (Johnstone e Trapani, 1999).

Analisi in immunofluorescenza hanno evidenziato una localizzazione della proteina nel nucleo dei monociti e linfociti di sangue periferico normale. La presenza di IFI16 nei nucleoli e nel nucleoplasma delle cellule mononucleate e non nei granulociti, suggerisce una funzione ristretta a cellule aventi nucleo, cioè non terminalmente differenziate.

Analisi immunoistochimiche condotte per valutare l'espressione di IFI16 in vivo su sezioni paraffinate di tessuti umani normali utilizzando anticorpi policlonali diretti contro la porzione C-terminale di IFI16, hanno evidenziato la sua localizzazione a livello degli epitelii squamosi pluristratificati nei compartimenti in proliferazione delle cellule basali e parabasali con graduale diminuzione negli strati soprabasali differenziati (Fig. 2). Questo pattern di espressione è stato riscontrato soprattutto in sezioni provenienti dall'epidermide, dai tratti respiratorio e genitale, in particolare nelle mucose delle corde vocali e nell'epitelio dell'esocervice uterina. L'immunocolorazione è prevalentemente nucleare e nucleolare, quindi, solamente cellule trascrizionalmente attive esprimono IFI16. Fibroblasti reattivi e miofibroblasti provenienti da tessuti infiammati esprimono fortemente IFI16. Un'espressione prominente è stata osservata in linfociti e monociti; in contrasto, solo alcuni macrofagi esprimono la proteina, mentre i granulociti sono del tutto negativi. Tutte le cellule dell'endotelio vascolarizzato, sia i vasi ematici che quelli linfatici, esprimono massivamente la proteina. (Tabella 1)

Soprattutto negli epitelii pavimentosi stratificati, come laringe, cervice, e cute l'espressione di IFI16 è elevata nello strato basale proliferante, con una graduale riduzione che si accompagna al processo di differenziamento cellulare (Gariglio M., et al., 2002). Questi dati suggeriscono una stretta correlazione tra espressione di IFI16 ed il controllo dei processi di proliferazione e differenziamento in vivo. Infatti, con il processo di differenziamento e l'uscita definitiva dal ciclo cellulare di una cellula normale, l'espressione di questa proteina viene progressivamente inibita.

L'analisi in immunohistochimica di carcinomi squamosi del distretto capo-collo (HNSCC) ha permesso di dimostrare che l'espressione di IFI16 è presente soltanto nei carcinomi ben differenziati, mentre le lesioni con minor grado di differenziazione risultano negative. Analizzando l'indice di proliferazione di questi tumori, mediante positività per il marcatore Ki-67, abbiamo osservato che l'espressione di IFI16 è inversamente proporzionale all'indice di proliferazione (Azzimonti B., et al. in corso di pubblicazione). Sulla base dei risultati ottenuti dall'analisi in immunohistochimica eseguita su sezioni di tessuti umani normali e su sezioni di carcinomi squamosi che suggeriscono un ruolo potenziale di IFI16 nel controllo della proliferazione dei cheratinociti, abbiamo indirizzato i nostri studi su un modello in vitro che permettesse di chiarire a livello

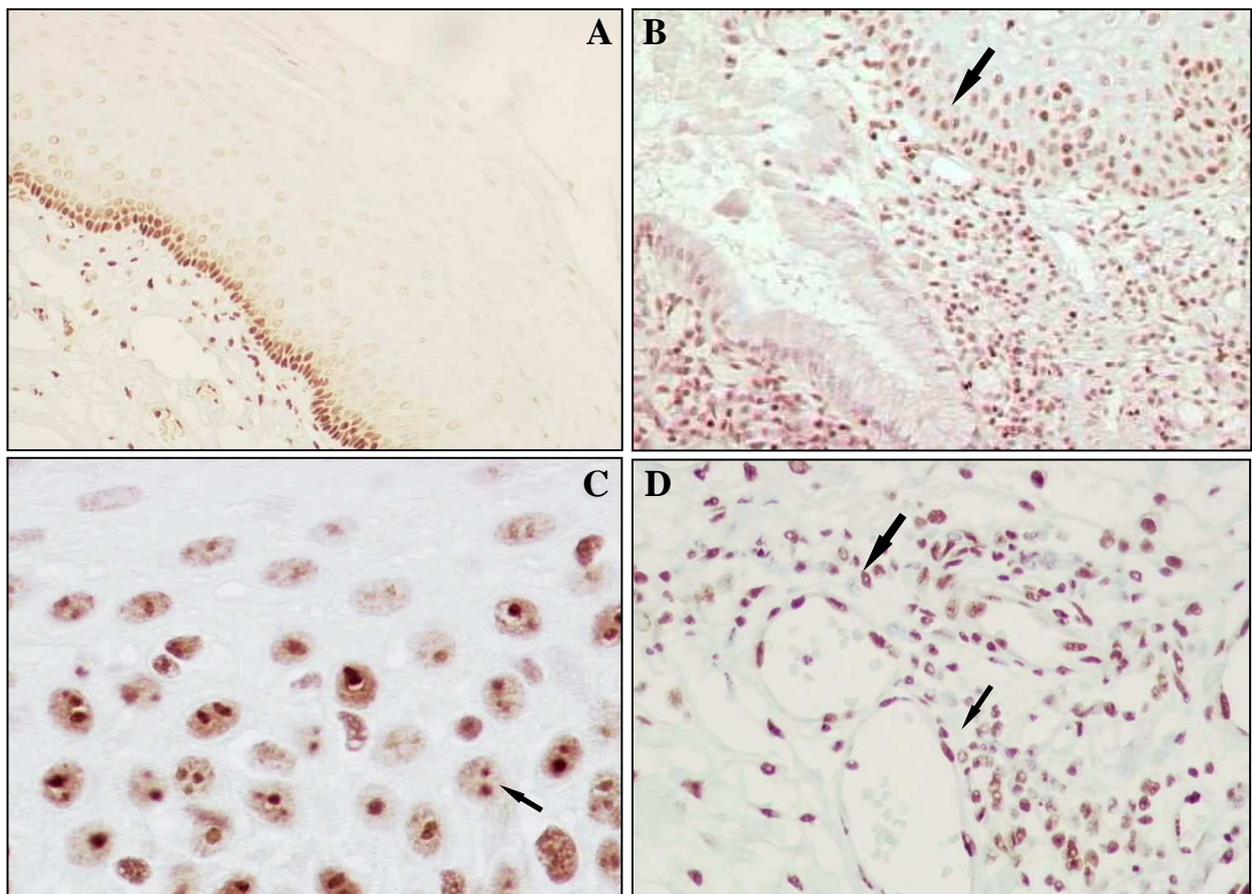


Figura 2. Analisi immunohistochimica dell'espressione della proteina IFI16 in tessuti umani normali. (A) Esocervice. (B) congiunzione Eso- endocervice. Le cellule epiteliali che delineano l'esocervice sono positive, quelle che delineano l'endocervice sono negative. (C) Epitelio delle corde vocali. (D) Pelle.

molecolare l'attività antiproliferativa di IFI16 nello stesso tipo cellulare in cui viene fisiologicamente espresso.

Tabella 1

Livello di espressione di IFI16 in tessuti umani normali: dati da analisi immunohistochimiche

Cellule epiteliali:			Cellule non epiteliali:	
Tessuto	Tipo cellulare	Espressione	Tipo cellulare	Espressione
Cute	Epidermide	+++	Fibroblasti	+/-
Mucosa orale Orofaringe	Epitelio di rivestimento	+++	Miociti	-
	Epitelio ghiandolare	+	Linfociti	+++
	Epitelio duttale	++		
Laringe	Epitelio delle corde vocali	+++	Monoliti	+++
	Epitelio respiratorio	++	Macrofagi	+/-
Polmoni	Epitelio respiratorio	-	Granulociti	-
	Epitelio ghiandolare	+		
Esofago	Epitelio di rivestimento	+++	Cellule endoteliali	+++
	Ghiandole della sottomucosa	+		
Rene	Epitelio dei tubuli	+		
	Urotelio	-		
Vescica	Urotelio	-		
Esocervice	Epitelio di rivestimento	+++		
Endocervice	Epitelio di rivestimento	-		
	Epitelio ghiandolare	-		
Endometrio	Epitelio ghiandolare	-		
Fegato	Epatociti	-		

Risultati e prospettive.

Per studiare in modo più approfondito il ruolo di IFI16 nella crescita delle cellule epiteliali, abbiamo analizzato i suoi livelli basali ed interferon-indotti in una serie di linee cellulari derivate da diversi HNSCC. Ogni linea, derivata direttamente da frammenti tumorali espianati e caratterizzata da morfologia epitelioide, era in grado di crescere in modo aderente fino ad un massimo di 50-80 passaggi. Da analisi in western blotting IFI16 è presente, seppure in quantità variabile, nella maggior parte delle linee testate; solo in una, denominata HNO136, la proteina non è osservabile neppure in seguito a trattamento con interferone per 24 ore. Al contrario, tale trattamento induce l'espressione di IFI16 in tutte le altre linee.

Studi precedenti hanno dimostrato che IFI16 interagisce con la proteina p53 regolandone l'attività trascrizionale. Inoltre, IFI16 è coinvolta nella trasmissione del segnale apoptotico mediato da p53 in condizioni di danno genotossico. In base a questi dati, tutte le linee sono state sottoposte ad analisi genomica per la rivelazione di mutazioni sugli esoni 4 e 9 della proteina p53. Si è così scelto di utilizzare la linea HNO150, paragonabile alla HNO136 in quanto a tasso proliferativo, ma recante una p53 wt (Tabella 2).

L'aumento dell'espressione di IFI16, sia in cellule primarie che trasformate, è associata con l'inibizione della proliferazione cellulare, evento controllato dallo stato di p53 e pRb. Per esaminare il ruolo di IFI16 nella citotossicità indotta da farmaci, si è scelto di studiare gli effetti della doxorubicina nelle linee HNO136 e HNO150, come paradigmi di cellule recanti IFI16 endogeno silenziato e wild type rispettivamente. Tramite l'utilizzo di vettori retrovirali esprimenti l'isoforma B di IFI16 o il gene per la β -galattosidasi, cotrasdotti con il gene per la resistenza alla neomicina, sono state generate delle linee stabili, denominate HNO136IFI16, HNO150IFI16, HNO136LacZ e HNO150LacZ. La sovraespressione di IFI16 nelle linee HNO è stata confermata attraverso metodiche di immunoblotting ed esperimenti di immunofluorescenza che hanno permesso di valutare anche la localizzazione nucleare della proteina stessa. Queste linee mostrano inoltre un indice proliferativo più basso rispetto alle linee parentali come si può osservare dal grafico in figura 3.

Le cellule sono state quindi incubate con doxorubicina ed analizzate per la distribuzione del ciclo cellulare tramite analisi citofluorimetrica. Essendo nota la dipendenza degli effetti della doxorubicina dal tipo cellulare, in parallelo sono stati analizzati dei cheratinociti umani primari (NHEK): in questo caso però, probabilmente a causa della elevata attività inibitoria, non si sono potute ottenere delle cellule trasdotte in modo stabile con IFI16. Come evidenziato in figura 3, il trattamento dei NHEK con doxorubicina, causa un precoce e lieve accumulo delle cellule con un contenuto in DNA 4N, ed una perdita di vitalità con distacco dalle piastre entro le 48h. Le linee

HNO parentali e di controllo mostrano invece un notevole arresto in G2 a 24h, che persiste ancora alle 48h, seppure in modo meno pronunciato rispetto a quello osservabile nelle HNO stabilmente trasdotte con IFI16. Come atteso, a 72h sia le cellule di controllo che le IFI16-trasdotte vanno incontro a perdita di vitalità molto pronunciata. Questi risultati mostrano che l'espressione di IFI16 aumentano l'entità e la durata dell'arresto in G2 indotto da doxorubicina nelle cellule epiteliali.

Tabella 2.

Caratterizzazione delle linee epiteliali derivate da carcinomi squamosi del distretto capo-collo (HNO)

Cell line	Stato	p53 gene	p53 levels	pRb levels	IFI16 levels
HNO 41 (tonsilla)	/	WT	nd	+++	+
HNO 89 (laringe)	/	ND	++	ND	++
HNO 91 (cavità orale)	/	WT	nd	ND	?
HNO 97 (cavità orale)	/	180 E→K 248 R→W	nd	+++	++
HNO 124 (cavità orale)	Poco proliferanti	WT	++	ND	+++
HNO 136 (seno paranasale)	Molto proliferanti	WT	+++	+	-
HNO 147 (ipofaringe)	/	ND	nd	ND	+++
HNO 150 (laringe)	mediamente proliferanti	WT	+++	+	+/-
HNO 160 (cavità orale)	/	WT	nd	+++	-
HNO 180 (ipofaringe)	/	220 Y→C	nd	+++	++
HNO 199 (cavità orale)	Poco proliferanti	135 C→F		+++	++
HNO 206 (tonsilla)	/	134 F→S		++	+/-
HNO 210 (laringe)	/	ND	++	+++	+/-

Studi precedenti effettuati nel nostro ed in altri laboratori hanno dimostrato il legame diretto tra IFI16 e la regione C-terminale di p53, con conseguente aumento dell'attività trascrizionale di

quest'ultima. Per verificare che l'accumulo in G2 precedentemente descritto, conseguente alla sovraespressione di IFI16, fosse accompagnato da una più pronunciata attività di p53, abbiamo

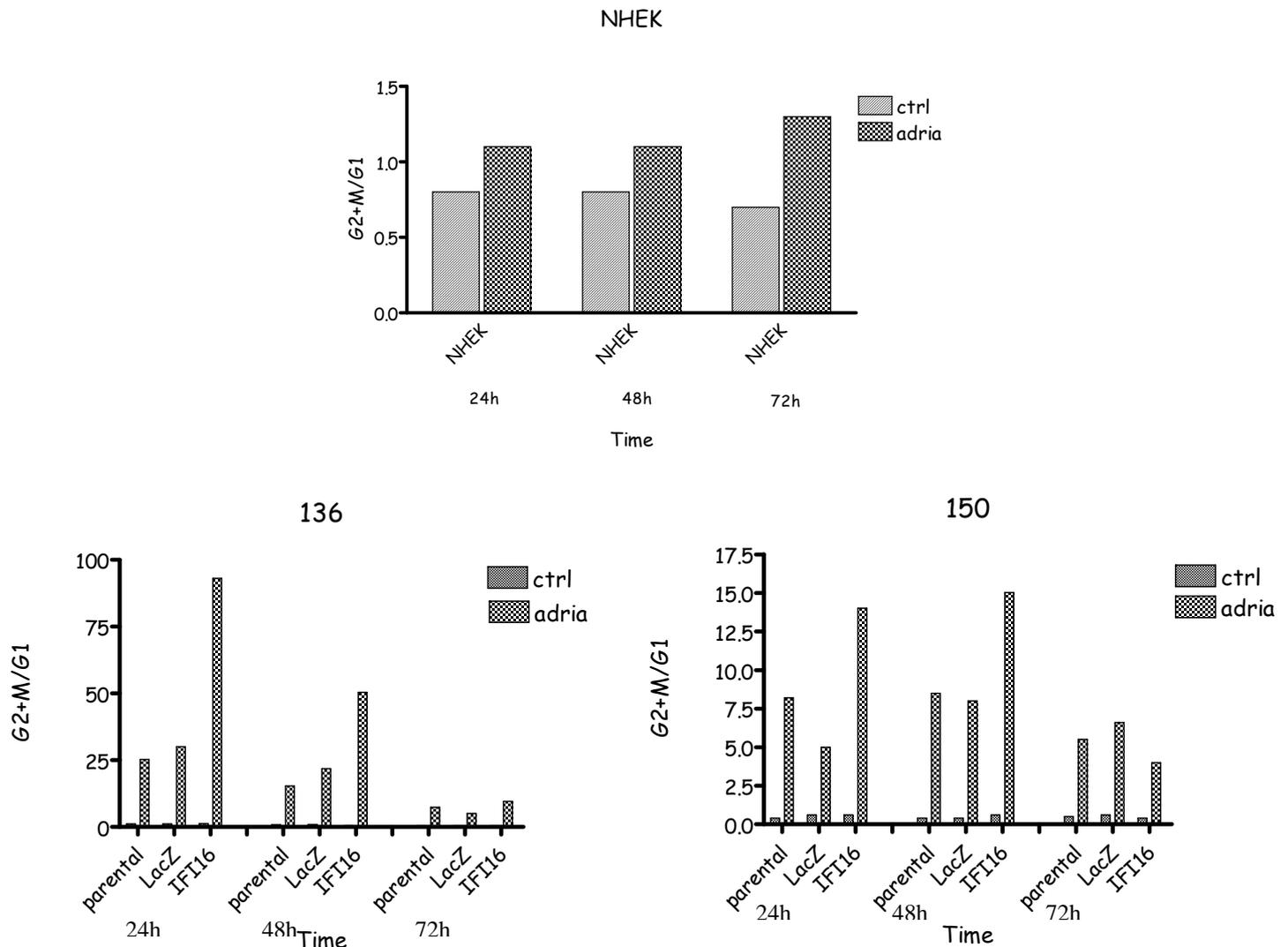


Figura 3: Rappresentazione schematica dell' arresto in G2 delle diverse linee studiate a 24h, 48h e 72h dal trattamento con la doxorubicina (0,3 μ M)

eseguito esperimenti di coimmunoprecipitazione. Gli estratti nucleari di cellule trasdotte con IFI16 sono stati immunoprecipitati con anticorpi diretti sia contro IFI16 sia contro p53, e rivelati con anticorpi anti-p53 ed anti-IFI16 rispettivamente: i risultati hanno mostrato presenza di segnale in entrambi i casi, e la sua assenza nelle cellule di controllo. Inoltre, la positività di segnale è presente anche in immunoprecipitati con anticorpi anti-IFI16 e decorati con anti-Ser15-p53, suggerendo un contributo di IFI16 nella stabilizzazione di p53.

Per confermare l'associazione osservata in vivo, è stato utilizzato un saggio in vitro di GST pull-down. La proteina di fusione GST-IFI16 o il GST da solo, immobilizzati sulla resina sefarosglutazione, sono stati mescolati ad estratti nucleari di HNO136 e 150 IFI16-trasdotte e la presenza di

p53 è stata valutata tramite l'uso di anticorpi specifici: il risultato ha confermato la presenza di interazione specifica p53-IFI16.

P53 è un fattore trascrizionale sequenza-specifico che lega il DNA in forma tetramericata ed attiva o reprime un largo numero di geni. Per confermare l'aumento di attività trascrizionale di p53, indotta dalla trasduzione di IFI16, è stato quindi effettuato un saggio in real-time PCR, usando la sonda TaqMan specifica per p21, il più noto fattore cellulare indotto da p53. Esperimenti in triplicato hanno permesso di dimostrare una aumentata presenza di RNA messaggero nelle cellule trattate con doxorubicina ed esprimenti IFI16 in modo stabile, rispetto alle HNO parentali o alle cellule contenenti LacZ, trattate o non trattate (figura 4).

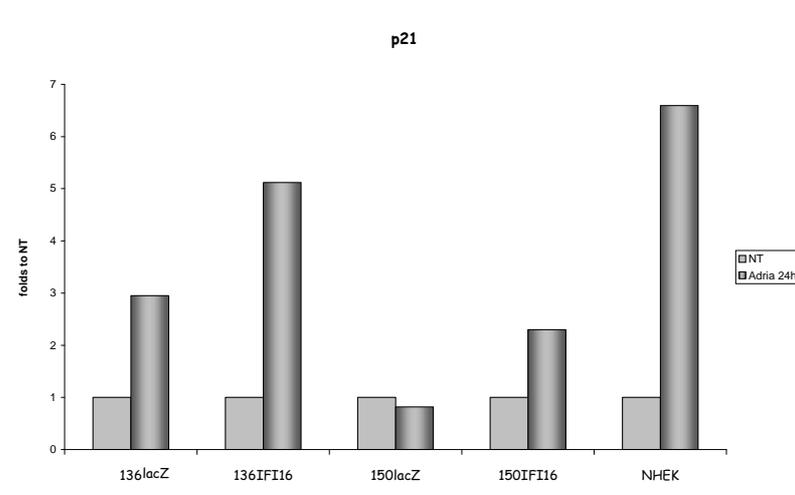


Figura 4: Esperimenti di Real Time PCR con primer specifici per p21 su cellule HNO 136 e 150 trasdotte con i retrovirus LacZ e IFI16 a 24h dal trattamento con doxorubicina 0,3 μ M.

Infine, l'aumento di attività trascrizionale è stato ulteriormente confermato con un saggio di trasfezione in transiente, utilizzando plasmidi recanti la sequenza consenso o mutata per il legame con la p53 a monte del gene reporter della luciferasi, denominati rispettivamente p53RELUC e mutp53RELUC. Come mostrato in figura 5, le HNO136IFI16 trasfettate con p53RELUC evidenziano una attività luciferasica superiore rispetto alla linea parentale o alle HNO136LacZ. In seguito al trattamento con doxo, tale attività è ulteriormente incrementata di circa 2 fattori. Questi dati evidenziano, ancora una volta che l'attività di IFI16 è mediata dalla transattivazione di p53 e ciò è confermato dal fatto che le stesse cellule trasfettate con la sequenza mutata mostrano un'attività luciferasica notevolmente ridotta.

IFI16 entra quindi a far parte della lista sempre più lunga di proteine coinvolte nella regolazione della trascrizione o delle funzioni di altre proteine, come già è stato dimostrato per numerose proteine IFNs-inducibili (PKR, PKC, IRF-1).

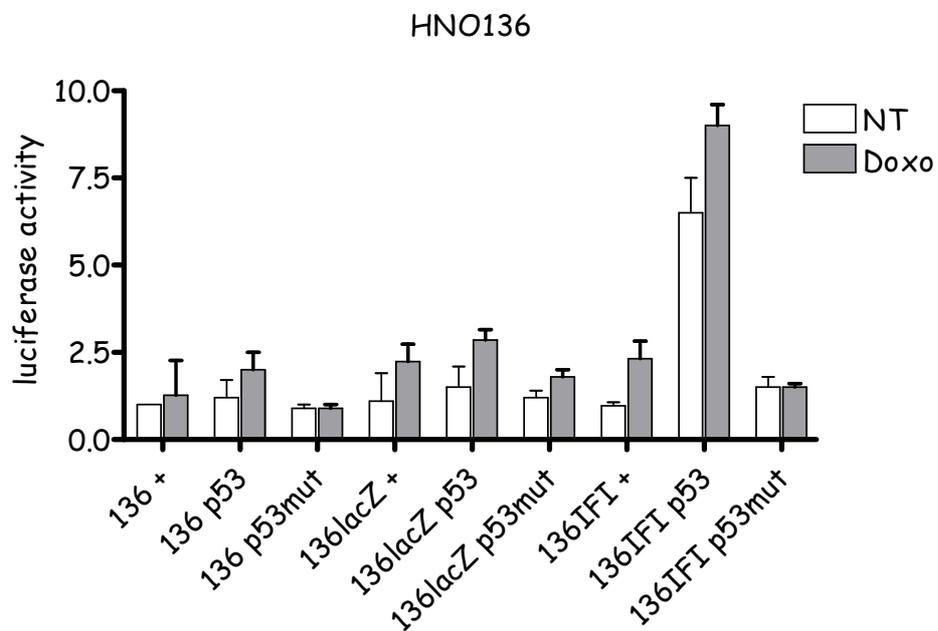


Figura 6: Quantificazione dell' attività luciferasica di cellule HNO136 parentali e trasdotte con LacZ e IFI16 in seguito a trasfezione in transiente con la sequenza canonica e mutata del promotore di p53.

Bibliografia

Landolfo S., Gribaudo G., Lembo D. (1998) The IFI200 genes: An emerging family of IFN-inducible genes. *Biochimie*, 80, 721-728

Gribaudo G., Ravaglia S., Guandalini L., Riera L., Gariglio M., Landolfo S. (1997): Molecular cloning and expression of a novel interferon-inducible protein encoded by a 203 gene from the gene 200 cluster. *Eur. J. Biochem.*, 249, 258-264.

Gariglio M., De Andrea M., Lembo M., Ravotto M., Zappador C., Valente G. and Landolfo S. (1998) The murine homolog of the HIN200 family, IFI 204, is constitutively expressed in myeloid cells and selectively induced in the monocyte/macrophage lineage. *J. Leuk. Biol.*, 64, 608-614.

Dawson M.J, Trapani J.A. (1995) The interferon inducible autoantigen, IFI 16: localization to the nucleolus and identification of a DNA-binding domain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 214, 152-162.

Trapani J.A., Browne K.A., Dawson M.J., Ramsay R.G., Eddy R.L., Shows T.B., White P.C., Dupont B. (1992): A novel gene constitutively expressed in human lymphoid cells is induced with interferon- γ in myeloid cells. *Immunogenetics* 36, 369-376.

Johnstone RW, Kerry JA, Trapani JA. (1998): The human interferon-inducible protein, IFI 16, is a repressor of transcription. *J Biol Chem.* Jul 3;273(27):17172-7.

Johnstone RW, Trapani JA. (1999): Transcription and growth regulatory functions of the HIN-200 family of proteins. *Mol Cell Biol.* Sep;19(9):5833-8

Gariglio M., Azzimonti B., Pagano M., Palestro G., De Andrea M., Valente G., Voglino G., Navino L. and Landolfo S. (2002) Immunohistochemical Expression Analysis of the HIN200 Family, Not Restricted to Hematopoietic Cells. *J. Interferon Cytokine Res.* Jul;22(7):815-21.

Azzimonti B., Pagano M., Mondini M., De Andrea M., Valente G., Monga G., Tommasino M., Aluffi P., Landolfo S., and Gariglio M. Altered pattern of the interferon-inducible gene IFI16 expression in head and neck squamous cell carcinoma: immunohistochemical study including correlation with pRb, HPV infection and proliferation index. *J. Pathol.* Sottomesso per la pubblicazione.

Lehman TA, Modali R, Boukamp P, Stanek J, Bennett WP, Welsh JA, Metcalf RA, Stampfer MR, Fusenig N, Rogan EM, et al.(1993) p53 mutations in human immortalized epithelial cell lines. *Carcinogenesis* 1993 Jul;14(7):1491.

Ravera R., Gioia D., De Andrea M., Cappello P., Giovarelli M., Marconi P., Manservigi R., Gariglio M., and Landolfo S. (2004): The Interferon-inducible IFI16 gene inhibits tube morphogenesis and proliferation of primary, but not HPV16 E6/E7-immortalized human endothelial cells. *Exp. Cell. Res.* 293, 331-345.

Puri PL, Medaglia S, Cimino L, Maselli C, Germani A, De Marzio E, Levrero M, Balsano C. (1997): Uncoupling of p21 induction and MyoD activation results in the failure of irreversible cell cycle arrest in doxorubicin-treated myocytes. *J Cell Biochem.* 1;66(1):27-36.

Johnstone RW, Wei W, Greenway A, and Trapani JA (2000): Functional interaction between p53 and the interferon-inducible nucleoprotein IFI16. *Oncogene*. 19: 6033-6042, 2000.

ATTIVITA' FORMATIVA

Anno 2003-2004

Seminari:

- 07/07/2004 Prof. Martin Ronis (Dept of Pharmacology and Toxicology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, USA)
Ethanol metabolism and Toxicity in Pregnancy
- 05/07/2004 Prof. Armando Bartolazzi (Dipartimento di Patologia, Facoltà di Medicina, Ospedale St.Andrea, Università La Sapienza – Roma)
From the bench to the bedside: Galectin-3 immunodetection for improving the preoperative diagnosis of the follicular thyroid lesions
- 30/06/2004 Manlio FERRARINI (IST e Università di Genova)
Meccanismi patogenetici della Leucemia Linfatica Cronica
- 15/06/2004 Dott. David Murphy (Dipartimento di Neuroscienze e Neuroendocrinologia, Università di Bristol)
Functional genomics of hypothalamic homeostatic plasticity
- 14/06/2004 Dott. David Murphy (Dipartimento di Neuroscienze e Neuroendocrinologia, Università di Bristol)
Biomedical discovery using microarrays: principles, prospects and problems
- Prof. Christopher Day (Centre for Liver Research, Medical School, University of Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK)
Pitfalls of genetic studies in liver disease
- 11/06/2004 Dott. Antonio Puccetti (Università di Genova)
Virus e malattie autoimmuni
- 28/05/2004 Prof. Angiolo Benedetti (Dipartimento di Fisiopatologia e Medicina Sperimentale dell'Università di Siena)
Il reticolo endoplasmatico: un labirinto metabolico
- 20/05/2004 Dott. Alberto Martini (Istituto Scientifico Gaslini e Università di Genova)
Le artriti croniche del bambino
- 11/05/2004 Prof. G. Cossu (Università La Sapienza, Roma), Prof. P. Vezzosi (C.N.R., Segrate), Prof. P. Cattorini (Università dell'Insubria), Dott. C. Galli (Consorzio incremento zootecnico, Cremona), Dott.ssa M. Fiumanò (Scuola di Specializzazione per Psicoterapeuti, Milano), Dott. A. Santosuosso (Tribunale di Milano). Seminario

conclusivo del corso di Bioetica, responsabile: Prof. Anna Collier, svoltosi presso l' Aula Magna del Dip. di Farmacologia e Tossicologia Medica, Università di Milano.

Cellule staminali e clonazione

- 05/05/2004 Prof. Bice Fubini (Dipartimento di Chimica IFM, Chimica Inorganica, Fisica e dei Materiali, Università di Torino, Facoltà di Farmacia, Direttore del Centro Interdipartimentale "G. Scansetti" per lo Studio degli Amianti e di altri Particolati Nocivi), presso la sede del DISCAFF dell'Università di Novara
Come comprendere i meccanismi di patogenicità delle fibre di amianto? Necessità di un approccio multidisciplinare
- 03/05/2004 Dott. Frédéric Rieux-Laucat (INSERM 429, Hôpital Necker, Paris)
Genetic bases of the Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS) subtypes
- 28/04/2004 Dott. Marco Brambilla (Università del Piemonte Orientale, Novara)
Norme operative di protezione e sicurezza per i laboratori di ricerca
- 27 /04/2004 Dott.ssa S. Ceffa (Comunità di Sant'Egidio, Novara)
Progetto DREAM (Drug Resource Enhancement Against AIDS in Mozambico)
- 24 /04/2004 Clinica San Gaudenzio, Novara (Presidente Prof. Ilario Viano)
Incontro di Studio Impresa, valori sociali e nuova Sanità
- 23/04/2004 Network per la valorizzazione della ricerca universitaria (Università del Piemonte Orientale, DISCAFF, Novara)
Seminario di cultura brevettale
- 31/03/2004 Dott.ssa Antonia Follenzi (Albert Einstein College of Medicine, Liver Research Center 1300 Morris Park Avenue, Bronx, NY 10461 – USA)
Espressione epato-specifica del fattore IX antiemofilico mediante l'uso di vettori lentivirali
- 10 /03/2004 Prof. Guido Valesini (Cattedra di Reumatologia, Università la Sapienza di Roma)
TNF, anti-TNF ed autoimmunità
- 18/02/2004 Dott.ssa Bice Chini (CNR Istituto di Neuroscienze, Sezione di Farmacologia cellulare e molecolare, Milano)
Lipid rafts e recettore per l'ossitocina: modulazione del signalling e del controllo della proliferazione cellulare
- 17/02/2004 Dott.ssa Maria Gabriella Scordo (Department of Medical Sciences Clinical Pharmacology University of Uppsala, Svezia),
Citocromo P450: polimorfismi genetici e risposta clinica ai farmaci
- 03/02/2004 Dr.ssa Rita Clementi (Università di Pavia)
Alterazioni del gene della perforina nelle patologie linfoproliferative
- 30/01/2004 Prof. Magnus Ingelman-Sundberg (Division of Molecular Toxicology, Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden)
Pharmacogenetics: a tool for a more efficient and safe drug therapy

27/01/2004 Dott. Alan Kozikowski (University of Illinois, Chicago), seminario presso il DISCAFF
Chemistry and biology of natural products-derived molecules targeted to the brain

Corsi

2004 Corso di Bioetica (Prof. Sandra Brunelleschi)

Pubblicazioni:

Rolle S., De Andrea M., Gioia D., Lembo D., Hertel L., Landolfo S. and Gariglio M. (2001): The interferon-inducible 204 gene is transcriptionally activated by mouse cytomegalovirus and is required for its replication. *Virology*, 286, 249-255.

De Andrea M., Gioia D., Azzimonti B., Noris E., Landolfo S. and Gariglio M. (2001): Proprietà biologiche ed organizzazione genomica della famiglia di geni interferon-inducibile murina IFI200 e della controparte umana HIN200. *L' Igiene moderna*, 119: 135-145

De Andrea M., Ravera R., Gioia D., Gariglio M. and Landolfo S. (2002): The Interferon system: an overview. *European Journal of Pediatric Neurology*, 6(Suppl. A), A41-A46.

De Andrea M., Ravotto M., Noris E., Ying G.G., Gioia D., Azzimonti B., Gariglio M. and Landolfo S. (2002): The interferon-inducible gene, IFI204, acquires malignant transformation capability upon mutation at the Rb-binding sites. *FEBS Letters*, 515, 51-57.

Ravera R., Gioia D., De Andrea M., Cappello P., Giovarelli M., Marconi P., Manservigi R., Gariglio M., Landolfo S. : The Interferon-inducible IFI16 gene inhibits tube morphogenesis and proliferation of primary, but not HPV16 E6/E7-immortalized human endothelial cells. *Exp. Cell. Res.* 293, 331-345.

Secco P., Ferretti M., Gioia D., Cesaro P., Bozzo C., J. D. Marks and Santoro C.: Characterization of a single-chain intrabody directed to the human receptor tyrosine-kinase Ron. *J. Immunol. Meth.* 285, 99-109.

Comunicazioni a congressi e Abstract:

Secco P., Gioia D., Cotella D., Gaudino G., Prat M., Santoro C. Isolamento e caratterizzazione di scFv diretti contro i domini intra-cellulari di recettori tirosina-cinasi.
IV congresso AIBG (Associazione Italiana di Biologia e Genetica generale e molecolare), Palermo, ottobre 1999.

Gariglio M., De Andrea M., Hertel L., Rolle S., Azzimonti B., Gioia D. and Landolfo S. The retinoblastoma protein is an essential mediator that links the interferon-inducible 204 gene to cell-cycle regulation.
International conference on basic and clinical aspect of cell cycle control, Siena, 29-31 Maggio 2000. Abstract book pag. 57.

Secco P., Avolio F., Gioia D. e Santoro C. Identificazione di un "intrabody" per il recettore tirosina cinasi Ron. IV CNB (Congresso Nazionale Biotecnologie), Torino Esposizioni, 6-8 luglio 2000

Gariglio M., De Andrea M., Azzimonti B., Gioia D., Rolle S., G. Ying, Ravotto M., Ravera R. and Landolfo S. The retinoblastoma protein is an essential mediator that links the human HIN 200 and mouse homologue IFI 200 genes to cell-cycle regulation. 3rd Joint Meeting of the ICS and ISICR. *Eur.Cytokine Netw.*, Vol.11, Special issue ICS/ISICR, november 2000 pp. 207.

M.De Andrea, S.Rolle, E.Noris, G.G.Ying, D.Gioia, B.Azzimonti, M.Gariglio and S.Landolfo. Overexpression of the interferon-inducible protein p204 mutated at the Rb binding sites induces tumorigenicity in NIH3T3 cells. 2001 annual meeting of the society for interferon & cytokine reserch. October 7-12, 2001.

S.Landolfo, M.Gariglio, G.Gribaudo, D.Lembo, E.Noris, D.Gioia and L.Riera. Regulation of cell cycle and DNA precursor biosynthesis by CMV. 8TH International cytomegalovirus conference. May 20-25 2001

Gariglio M., M. De Andrea, B. Azzimonti, D.Gioia, R. Ravera, M. Ravotto, F. Gugliesi, and S. Landolfo. Analysis of the role of the Interferon-inducible gene IFI16 that links interferon to apoptosis in HPV-related carcinogenesis. Lingotto. 2002 annual meeting of the society for interferon & cytokine reserch. October 6-11, 2002.

Gioia D., De Andrea M., Azzimonti B., Ravera R., Ravotto M., Gugliesi F., Landolfo S. and Gariglio M. Analysis of the role of the Interferon-inducible gene IFI16 that links interferon to apoptosis in HPV-related carcinogenesis. ISREC Conference. Cell and molecular biology of cancer. Lausanne, Switzerland, January 22-25-2003

Partecipazione a congressi nazionali:

Cortona Virus 2001 14-15 settembre 2001

SIVIM (Società Italiana di Virologia Medica), Roma, 3/05/2002

XIX Conferenza nazionale di citometria. Corsi residenziali di aggiornamento. 23-27 settembre 2002. Campus scientifico università di Urbino.

Partecipazione a congressi internazionali:

ISICR: *Cytokines and Interferons 2002*. Torino, Ottobre 6-11, 2002

ISREC Conference: Cell and molecular biology of cancer. Lausanne, Switzerland. January 22-25-2003