

# Meeting

IBIM-CNR STEBICEF-UNIPA

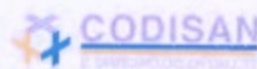


UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PALERMO



## LIBRO degli ABSTRACT

**BIO**  
TECNOLOGIE  
RICERCA DI BASE  
INTERDISCIPLINARE  
TRASLAZIONALE  
IN AMBITO BIOMEDICO



**ELGA**

**eppendorf**



**PALERMO 27-28 GIUGNO 2013**

Area della Ricerca di Palermo Via Ugo La Malfa 153



verrà allestito con cellule endoteliali derivanti da microvasi del derma, più adatta per lo studio dell'angiogenesi tumorale.

## **Identificazione e caratterizzazione funzionale di isoforme di p65 del complesso NF-kB.**

**G. Spinelli<sup>1</sup>, A. Artale<sup>1</sup>, F. Valentino<sup>1</sup>, S. Balletta<sup>1,2</sup>, F. Gianguzza<sup>2</sup> e F. Di Blasi<sup>1</sup>.**

*1. Istituto di Biomedicina ed Immunologia Molecolare, CNR, Via Ugo La Malfa, 153 – 90146 – Palermo; 2. Dipartimento STEBICEF, Università di Palermo, viale delle Scienze Ed. 16, 90128 Palermo.*

NF-kB è un fattore di trascrizione ubiquitario eucariotico che regola l'espressione di geni coinvolti in molteplici processi cellulari come la risposta immunitaria, la flogosi, l'apoptosi, la crescita cellulare e lo sviluppo embrionale. p65 appartiene alla famiglia di NF-kB che comprende anche le proteine c-Rel, RelB, p50/p102 e p52/100. Tali proteine svolgono la funzione di fattori trascrizionali legando specifiche consensus del DNA (consensus kB) sotto forma di omo ed eterodimeri. Ogni membro della famiglia di NF-kB è caratterizzato dalla presenza di un dominio, altamente conservato, il "Rel Homology Domain" (RHD). Nel RHD sono stati mappati i sottodomini di dimerizzazione, interazione con gli inibitori (IκB), traslocazione nucleare e legame al DNA. Nel nostro laboratorio abbiamo scoperto in topo un'isoforma di p65, chiamata p65(-1), questa variante di splicing contiene un nuovo esone (chiamato esone -1), localizzato a monte del primo esone (esone 0) del gene *RelA*, codificante per p65. La trascrizione dell'esone -1 induce un evento di splicing alternativo tra gli esoni -1 e 1, determinando la contemporanea escissione dell'esone 0. La proteina codificata dall'mRNA di p65(-1) è di 520 amminoacidi ed è caratterizzata dalla mancanza di 31 residui amminoacidici di cui 13 appartengono al Rel Homology Domain, nonostante ciò la p65(-1) può dimerizzare e legare la consensus al DNA. Numerose analisi hanno evidenziato delle differenze funzionali tra le proteine p65 e p65(-1), nei meccanismi cellulari, nell'attività trascrizionale sulle consensus kB, nella regolazione dell'apoptosi e nell'attivazione del recettore dei glucocorticoidi (GR). Lo studio dell'espressione di p65(-1) in un tessuto eterogeneo come quello del sangue ci ha permesso di identificare ulteriori isoforme. Diversi prelievi di sangue periferico sono stati utilizzati per effettuare un'estrazione di RNA da usare successivamente come template per una RT realizzata con primer specifici per l'esone -1 e il 3' UTR. L'analisi elettroforetica mostra, oltre la presenza dell'amplificato di 1700 bp che rappresenta la p65(-1), altri amplificati non attesi, rispettivamente di 1600 bp e 1400bp. Il clonaggio ed il successivo sequenziamento ci hanno consentito di mettere in luce le caratteristiche di questi amplificati; è stato così possibile identificare altre due isoforme di splicing per la banda da 1400 bp di cui, una manca di una parte dell'esone 10 e l'altra degli esoni 6 e 7. Inoltre i nostri dati dimostrano la presenza di profili di espressione differenti tra gli individui considerati.

## **L'espressione ectopica di p14ARF induce apoptosi p53-dipendente in cellule HCT116 aneuploidi MAD2 deplete.**

**L. Veneziano, L. Lentini, A. Di Leonardo.**

*Dipartimento STEBICEF - Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze-Parco d'Orleans, Palermo. veneziano.lorena@gmail.com*

L'aneuploidia è una delle caratteristiche principali osservate in molti tumori solidi umani. La riduzione dell'espressione del gene MAD2, componente del checkpoint mitotico (*Spindle Assembly Checkpoint*) è associata con l'acquisizione di instabilità cromosomica e aneuploidia [1]. Dati precedenti hanno suggerito che anche la riduzione dell'espressione genica del *tumor suppressor* p14ARF possa contribuire alla generazione e al mantenimento di un fenotipo aneuploide [2]. La funzione principale del gene p14ARF è quella di stabilizzare l'attività della proteina p53 attraverso l'interazione con l'ubiquitina ligasi MDM2 [3]. L'espressione ectopica del gene p14ARF in cellule tumorali HCT116, divenute aneuploidi in seguito al silenziamento post-trascrizionale del gene MAD2 induce una riduzione del numero delle cellule aneuploidi così come una riduzione delle alterazioni mitotiche presenti in queste cellule. Inoltre la ri-espressione del gene p14ARF ha indotto apoptosi in queste cellule (p53 competenti). Al contrario l'espressione ectopica del gene p14ARF in cellule tumorali HCT116-p53ko ha minimi effetti sulla proliferazione delle cellule aneuploidi e non induce apoptosi. I risultati ottenuti suggeriscono che il *tumor suppressor* p14ARF possa contrastare il mantenimento dell'aneuploidia attivando un pathway apoptotico p53-dipendente.

**Bibliografia:**[1] D. Gordon et al. *Causes and consequence of aneuploidy in cancer*. Nature Reviews Genetics, 2012; [2] Lentini L. et al. *MAD2 depletion triggers premature cellular senescence in human primary fibroblasts by activating a p53 pathway preventing aneuploid cells propagation*. J. of Cell Physiology, 2011; [3] Ozanne P. et al. *The ARF tumor suppressor: structure, function and status in cancer*. Int. J. Cancer, 2010.

## **Effetti dell'estratto di fumo di sigaretta su cellule HFL-1: approccio proteomico.**

**C. D'Anna<sup>1</sup>, G. Costanzo<sup>1</sup>, L. Bianchi<sup>2</sup>, L. Bini<sup>2</sup>, D. Cigna<sup>1</sup>.**

*1. Istituto di Biomedicina e Immunologia Molecolare (IBIM), CNR, Via U. La Malfa, 153, Palermo, Italia; 2. Dipartimento di Biologia Molecolare, Università degli Studi di Siena, Via Fiorentina, 1, Siena, Italia. danna@ibim.cnr.it*

I fibroblasti polmonari, oltre a svolgere una funzione strutturale a livello polmonare, contribuiscono direttamente nei processi di infiammazione nonché al rimodellamento delle vie aeree (1). Il fumo di sigaretta, che è una