

Sintesi dell'attività svolta dalla Facility di Bioinformatica (Programma Italia-USA)
presso l'Istituto ISA-CNR di Avellino nel periodo 2011-2012

Angelo Facchiano

Resp. Unità Operativa ISA-CNR

Gennaio 2013

L'attività dell'Unità Operativa ha riguardato da un lato lo sviluppo di strumenti bioinformatici, dall'altro l'analisi di dati sperimentali nell'ambito di collaborazioni con gruppi di ricerca impegnati in ambito clinico, oltre che studi a livello molecolare su proteine di specifico interesse per patologie tumorali. Sono stati inoltre organizzati convegni scientifici e corsi, con la finalità di diffondere la conoscenza della bioinformatica e degli strumenti realizzati. E' stato infine fornito supporto web per il corso internazionale "Rome Course Syllabus - Bench to Bedside Translational Molecular Research" organizzato a Roma dall'Istituto Superiore di Sanità.

I principali risultati ottenuti sono oggetto di 5 pubblicazioni su riviste internazionali peer-reviewed, oltre che di comunicazioni a convegni in forma di poster e comunicazioni orali.

Strumenti bioinformatici

Gli strumenti realizzati nel corso degli anni precedenti sono stati ulteriormente migliorati, anche grazie all'utilizzo nell'ambito dei progetti di ricerca svolti. Per alcuni di essi sono state effettuate presentazioni nell'ambito di convegni internazionali, e sono in preparazione manoscritti per la pubblicazione come full-article. Si rimanda al sito web <http://bioinformatica.isa.cnr.it/BIOINFO-TOOLS/> e alla bibliografia riportata al termine della relazione.

Ulteriori studi sono stati realizzati per lo sviluppo di strumenti per l'analisi dei dati di spettrometria di massa, finalizzati all'allineamento degli spettri, l'identificazione di segnali caratteristici di set e subset di spettri nell'ambito di analisi su larga scala. Parte di questi strumenti sono sviluppati in collaborazione con l'ing. Paolo Romano (Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro di Genova). Inoltre, nell'ambito di un'altra collaborazione (Prof. Paola Festa, Università di Napoli), sono stati studiati nuovi metodi di biclustering, applicati in questa fase di sviluppo a set di dati di trascrittomici, ma potenzialmente estendibili anche ad altre tipologie di dati. Gli strumenti sono oggetto di pubblicazioni e comunicazioni a convegni scientifici

Supporto nell'analisi di dati sperimentali

Gli strumenti bioinformatici sviluppati sono stati utilizzati per l'analisi di dati sperimentali, in progetti che hanno permesso la pubblicazione di articoli scientifici in collaborazione con i seguenti IRCCS Oncologici e Università italiane: Istituto Tumori "Giovanni Paolo II", Bari (Garrisi et al.,

2012), Istituto Superiore di Sanità, Roma (Facchiano et al., 2012), Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro di Genova (Mangerini et al., 2011), Seconda Università degli Studi di Napoli (Tarallo et al., 2011). In queste collaborazioni, sono state messe a punto specifiche strategie per l'analisi dei dati, anche integrando gli strumenti bioinformatici realizzati e le risorse disponibili pubblicamente come banche dati o programmi di analisi dei dati. I tools bioinformatici sviluppati nel corso di queste attività di supporto sono stati pubblicati su riviste o siti web, o sono in fase di pubblicazione, e sono attualmente disponibili on-line per l'utilizzo da parte della comunità scientifica.

Studio di meccanismi molecolari nelle patologie tumorali

Il recettore arilico AHR è conosciuto come il “recettore delle diossine”, e media gli effetti tossici dei contaminanti industriali quali gli idrocarburi policiclici aromatici (PAR). AHR è un fattore di trascrizione nucleare che si trova inizialmente nel citosol in forma di complesso multi proteico, AHR Complex (AHRC). Il complesso risulta costituito da 5 diversi polipeptidi: AHR, l'omodimero HSP90, P23, SRC kinase e AIP.

AHR presenta un dominio bHLH (basic Helix-Loop-Helix), due domini PAS di circa 70 amminoacidi, un dominio PAC, un dominio Gln-rich C-terminale, che si ritrova in altre proteine coinvolte nella regolazione trascrizionale a livello nucleare. Nel complesso multiproteico AHRC, è in una forma inattiva e separata dal ligando. Verrà attivato oltre che dai PAR, il cui capostipite è il 2,3,7,8 tetracloro-dibenzo-diossina, TCDD, anche dai ligandi endogeni derivati essenzialmente da metaboliti del triptofano quale il FICZ- 6-formylindol2,3b-carbazolo e la kinurenina, quest'ultima recentemente associata all'invasione del cancro immuno-mediata. Risultato finale dell'attivazione è un aumento marcato della trascrizione e dell'attività degli enzimi cosiddetti di fase 1 e 2, tra cui il più attivamente trascritto è l'enzima idrossilante di fase 1 CYP1A1, un citocromo P450 microsomiale diffusamente utilizzato come marcatore di attivazione di AHR. I geni attivati da AHR hanno la caratteristica di avere nel loro promotore ARE box (AHR Responsive Elements) o XRE (Xenobiotic Responsive Element): è necessaria la dimerizzazione con un proteina simile per legare i responsive element.

Nel nostro studio (Salzano et al, 2011), abbiamo investigato la struttura tridimensionale del dominio PAS (indicato anche come ligand binding domain) e la sua possibile interazione con TCDD e altri ligandi, fisiologici e non. Il risultato del lavoro mostra che il dominio PAS può stabilire interazioni favorevoli con diversi ligandi, oltre che TCDD, e che l'interazione può avvenire in siti diversi, così che i diversi ligandi possono svolgere ruoli relativi differenti, aumentando o diminuendo la possibilità di interazione con un altro ligando a seconda che ci sia competizione per il legame allo stesso sito oppure con un meccanismo di alterazione della conformazione.

Un'altra attività di ricerca ha riguardato lo studio di sostanze antiossidanti presenti negli alimenti, e la ricerca dei loro possibili bersagli proteici. Gli antiossidanti sono considerati responsabili dell'attività di prevenzione del cancro riconosciuta in molti alimenti. Sono stati presi in considerazione gli antiossidanti presenti nella mela Annurca, identificati attraverso metodi spettrometrici (RP_HPLC/UV e ESI_MS) e inoltre β -Carotene, d-Chiroinositolo, solforafano e resveratrolo, antiossidanti ben noti e presenti in molti alimenti.

E' stata effettuata una ricerca con metodi bioinformatici per identificare possibili target proteici per questi antiossidanti, in particolare utilizzando tecniche di modellamento molecolare e di docking.

Si è inoltre contribuito ad uno studio su linee cellulari di melanoma, partecipando all'interpretazione di dati di espressione di mRNA, microRNA e proteine. L'integrazione dei diversi risultati sperimentali ha richiesto un massiccio impiego di metodi computazionali e bioinformatici, raggiungendo come risultato l'identificazione di pathways metabolici significativamente correlati alle condizioni sperimentali. Lo studio è ancora in corso, ed ha coinvolto gruppi di ricerca impegnati nell'attività sperimentale presso l'Istituto Superiore di Sanità, l'IDI-IRCCS, l'università di Salerno.

Organizzazione di eventi scientifici

L'evento annuale BBCC (Bioinformatica e Biologia Computazionale in Campania) è stato organizzato negli anni successivi, organizzando in forma congiunta anche altri eventi scientifici con carattere di corso o workshop internazionale.

Nel 2010 è stato organizzato a Napoli in forma congiunta con il workshop internazionale NETTAB (29 novembre – 1 dicembre 2010).

Nel 2011 si è svolto ad Avellino presso l'Istituto di Scienze dell'Alimentazione del CNR (4 novembre 2011).

Nel 2012 si è svolto a Napoli, ed è stato organizzato in forma congiunta con il corso "Bioinformatics for Omics Sciences" (25-27 settembre 2012), presso l'Area di Ricerca del CNR.

Supporto web per il corso "Bench to Bedside Translational Molecular Research"

E' stato realizzato il sito web <http://bioinformatica.isa.cnr.it/RomeCourse/> con la finalità di offrire supporto all'organizzazione del Rome Course Syllabus "Bench to Bedside Translational Molecular Research", svoltosi a Roma dall'11 al 15 luglio 2011. Il sito ha diffuso notizie sul programma del corso, e materiale didattico per i partecipanti italiani e statunitensi.

Referenze

Salzano M, Marabotti A, Milanesi L, Facchiano A. (2011)

Human aryl-hydrocarbon receptor and its interaction with dioxin and physiological ligands investigated by molecular modelling and docking simulations.

Biochem Biophys Res Commun. 2011, 413, 176-181. PMID: 21871440.

Mangerini R, Romano P, Facchiano A, Damonte G, Muselli M, Rocco M, Boccardo F, Profumo A. (2011)

The application of atmospheric pressure matrix-assisted laser desorption/ionization to the analysis of long-term cryopreserved serum peptidome.

Anal Biochem. 2011, 417, 174-181. PMID: 21756868

Tarallo R, Bamundo A, Nassa G, Nola E, Paris O, Ambrosino C, Facchiano A, Baumann M, Nyman TA, Weisz A. (2011)

Identification of proteins associated with ligand-activated estrogen receptor in human breast cancer cell nuclei by tandem affinity purification and nano LC-MS/MS.

Proteomics 2011, 11, 172-179. PMID: 21182205

Garrisi VM, Tommasi S, Facchiano A, Bongarzone I, De Bortoli M, Cremona M, Cafagna V, Abbate I, Tufaro A, Quaranta M, Paradiso A. (2012)

Proteomic profile in familial breast cancer patients.

Clin Biochem. 2013 Feb;46(3):259-65. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2012.11.003. Epub 2012 Nov 13. PMID: 23159292

Facchiano F, D'Arcangelo D, Lentini A, Rossi S, Senatore C, Pannellini T, Tabolacci C, Facchiano AM, Facchiano A, Beninati S. (2012)

Tissue transglutaminase activity protects from cutaneous melanoma metastatic dissemination: an in vivo study.

Amino Acids. 2013 Jan;44(1):53-61. doi: 10.1007/s00726-012-1351-6. Epub 2012 Jul 11. PMID: 22782215

Facchiano A, Festa P, Marabotti A, Milanese L, Musacchia F. (2012)

Solving biclustering with a GRASP-like metaheuristic: Two case-studies on gene expression analysis.

Lecture Notes in Computer Science - Lecture Notes in Bioinformatics LNCS-LNBI, 7548, 253-267. DOI 10.1007/978-3-642-35686-5_21.

N. B. : Sono in preparazione ulteriori articoli sugli strumenti bioinformatici realizzati.

Comunicazioni orali a convegni internazionali:

Facchiano A., Automated Steps for the Analysis of MALDI/TOF MS Experiment Data.

Presentazione orale nel Computational Proteomics Workshop ECCB'12 From Mass Spectrometry to Protein Complexes. 9 September 2012, Basel, CH.

<http://bioinformatics.cemmm.oeaw.ac.at/images/files/cpw-eccb12-detailed-program.pdf>

N.B: i risultati del lavoro svolto sono stati presentati in forma di poster in numerosi convegni nazionali ed internazionali.

Siti web:

<http://bioinformatica.isa.cnr.it/BIOINFO-TOOLS/>

Portale di accesso agli strumenti bioinformatici sviluppati

<http://bioinformatica.isa.cnr.it/RomeCourse/>

Sito web per il supporto alle attività del corso "Bench to Bedside Translational Molecular Research", svoltosi a Roma dall'11 al 15 luglio 2011.

