

XIII CONVENTION D'AUTUNNO DEI RICERCATORI IN FIBROSI CISTICA

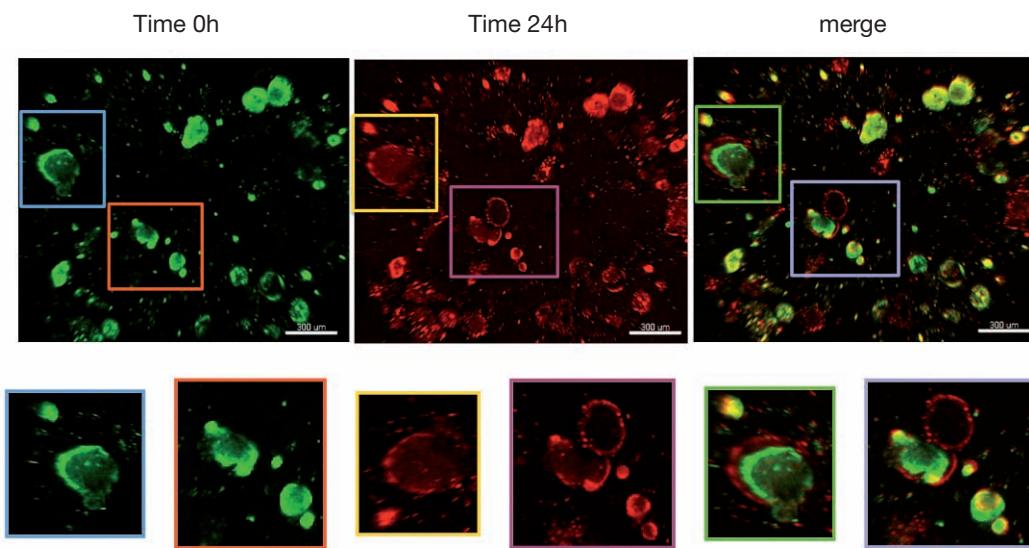
13th Convention of Investigators in Cystic Fibrosis

Garda (Verona), 26-28 November 2015



Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus
italian cystic fibrosis research foundation

In copertina/*Front cover*



Organoidi intestinali derivati da biopsia rettale di soggetto FC con mutazione W1282X (Time 0h).

Rigonfiamento ottenuto con trattamento di ataluren e stimolo di forskolina (Time 24h).

Intestinal organoids derived from rectal biopsy of a FC subject with mutation W1282X (Time 0h).

Swelling obtained with treatment of ataluren and stimulation by forskolin (Time 24h).

(Melotti P. & Calder S. – 29th North American CF Conference)

**13th CONVENTION OF FFC INVESTIGATORS
IN CYSTIC FIBROSIS**

**XIII Convention d'Autunno
dei Ricercatori in Fibrosi Cistica**

Poiano Hotel Resort
Garda-Verona

26-28 novembre 2015

Work progress of projects funded by FFC (2013-2015)

Presentazione dello stato di avanzamento dei progetti
finanziati dalla Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica
(2013-2015)



**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation

Program at a glance

Thursday, November 26

- 10:00-13:30 Registration and Poster set-up
10:30-13:30 Satellite meetings: *Biomarkers to personalize treatment of the basic defect and to monitor early response*
13:30-14:30 Lunch
14:30-14:35 Wellcome message
14:35-16:40 Plenary Session 1: *Preventive and clinical perspectives*
16:40-16:50 Institutional communications
16:50-17:20 Coffe break
17:20-19:20 Parallel Poster Session: 1. *CFTR*
 2. *Inflammation*

Friday, November 27

- 08:30-10:40 Plenary Session 2: *Rescuing F508del-CFTR*
10:40-11:10 Coffee break
11:10-13:10 Plenary Session 3: - *Other approaches for correcting basic defect*
 - *New diagnostic proposal*
13:10-14:10 Lunch
14:10-15:30 Plenary Session 4: *Advances in clinical microbiology*
15:30-17:00 *State of the art and future challenges in CF microbiology* (Lecture and discussion)
17:00-17:30 Coffee break
17:30-19:30 Parallel Poster Session: 3. *Microbiology*
 4. *Epidemiology and clinical research*
20:30-23:30 Social dinner and entertainment

Saturday, November 28

- 09:00-11:00 Plenary Session 6: *New targets for anti-inflammatory therapies*
11:00-11:30 Coffee break
11:30-12:50 Plenary Session 7: *Antimicrobial peptides*
12:50-13:00 Conclusive remarks

Index/Program • Indice/Programma

Thursday 26th

10:30-13:30

Satellite Meeting: Biomarkers to personalize treatment of the basic defect and to monitor early response

Chairman: Luigi Maiuri - Co-chairman: Carlo Castellani

10:30-10:35 *Presentation (Gianni Mastella)*

10:35-10:50 *Introduction: Biomarkers, certainties and doubts. What, when, where, how (Luigi Maiuri).*

10:50-12:15

Biomarkers to personalize treatment of the basic defect and to monitor early response

- What and how markers are currently used in clinical trials: appropriateness and limits (**Cesare Braggion**, 15 min).
- The classic sweat test: is it a reliable "surrogate" marker of CFTR function? Methodological problems and applications (**Natalia Cirilli**, 15 min)
- Are there alternative procedures that can be implemented for the sweat test? The "spot test" (**Paola Melotti**, 10 min)
- Nasal potential difference (NPD): reliability and applicability (**Paola Melotti**, 10 min)
- CFTR function of monocytes: is it a possible marker of treatment efficacy? (**Claudio Sorio**, 10 min)
- Rectal biopsies and organoids: what can we expect from these tests? (**Sara Calderer**, 10 min)
- Biomarkers in nasal brushing (**Valeria Raia**, 15 min)

12:15-13:20

Biomarkers as potential predictors of treatment effectiveness before therapy in individual patients

- May appropriate locations and appropriate biomarkers allow for personalized medicine? Can they direct the decision to a specific clinical treatment? The reasons why we need them (**Carlo Castellani**, 10 min)
- Polarized bronchial epithelia for in vitro evaluation of CFTR correctors and potentiators (**Luis Galletta**, 15 min)
- Intestinal organoids (**Sara Calderer**, 15 min)
- Nasal brushing (**Antonella Tosco**, 15 min)
- Monocytes (**Claudio Sorio**, 10 min)

13:20-13:30

Take home message

- Can a versatile test or a combination of tests for both predicting and early monitoring the effectiveness of therapy exist? (**Luigi Maiuri, Carlo Castellani, Cesare Braggion**)

Note. These time-frames include discussion among speakers and with the audience. No abstracts available for this meeting.

14:35-16:40

Plenary session 1: Preventive and clinical perspectives

Chairman: Roberto Buzzetti Co-chairman: Cesare Braggion

1. Mosconi P, Castellani C	10
Citizens' jury and decision making on cystic fibrosis carrier screening: to screen or not to screen? (FFC#22/2013, <i>Concluded</i>)	
2. Castellani C	11
Outcomes of spontaneous application of carrier screening for cystic fibrosis: follow-up of its effects on birth prevalence, neonatal screening and reproductive behaviour of carrier couples. (FFC#26/2015. <i>New, see also poster session 4, abstr. 65</i>)	
3. Battezzati A	11
Clinical implications of the natural history of insulin secretory and sensitivity defects in cystic fibrosis (FFC#21/2013, <i>Concluded</i>)	
4. Zegarra-Moran O	12
Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate (FFC#29/2014, <i>Concluded</i>)	
5. Zaza G, Chilos M	13
In vitro study of potential pro-fibrotic effect of Everolimus in different human airway cell lines. Searching for new biomarkers to optimize MTOR-inhibitor immunosuppressive treatment of cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation (FFC#28/2014. <i>In progress, see also poster session 4, abstr. 72</i>)	
6. Tortoli E, Cariani L, Di Serio C, Niemann S	14
Transmissibility and clinical significance of Mycobacterium abscessus in patients with cystic fibrosis (FFC#27/2014. <i>In progress, see also poster session 4, abstr. 71</i>)	

Parallel Poster Sessions 1: CFTR

Chairman: Nicoletta Pedemonte

7. Atlante A	15
Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in Cystic Fibrosis (FFC#1/2015, New)	
8. Cavalli A, Pedemonte N	16
RNF5/RMA1 ubiquitin ligase as a drug target for mutant CFTR rescue (FFC#2/2015, New)	
9. de Jonge H, Calderer S	17
Assessment and pharmacological correction of abnormalities in bicarbonate (HCO_3^-) and mucus transport in intestinal biopsies and organoids of CF patients (FFC#3/2015, New)	
10. De Stefano D, Maiuri MC	17
Metabolic dysfunction in CF: implications for a drug discovery program (FFC#4/2015, New)	
11. Duga S, Costantino L, Orrenius C	18
The plant cytokine kinetin and its analogues as potential therapeutic agents to correct CFTR splicing defects (FFC#5/2015, New)	
12. Messina G	19
Evaluation of the biological and therapeutic properties of Mesoangioblasts -vessel associated progenitor cells- in the cell based therapy of Cystic Fibrosis (FFC#6/2015, New)	
13. Millo E, Cichero E	20
Novel aminoarylthiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in cystic fibrosis: computer assisted drug design, synthesis and biological evaluation (FFC#7/2015, New)	
14. Piacentini M, Maiuri L	21
Dissecting the role of TG2 in cystic fibrosis pathogenesis: identification of possible novel therapeutic targets (FFC#8/2015, New)	
15. Tamanini A, Aureli M	22
Identification of molecular targets to reduce the side effect of gating potentiatos on the F508del-CFTR plasma membrane stability (FFC#9/2015, New)	
16. Lentini L, Pibiri I	23
Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental approaches for the read-through of PTCs in CF cells (FFC#1/2014, <i>In progress</i>)	
17. Luini A	23
A systems biology approach to the correction of Cystic Fibrosis: from building a network of proteostasis regulatory pathways to combinatorial targeting (FFC#2/2014, <i>In progress</i>)	
18. Moran O	23
The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR): correctors sites (FFC#4/2014, <i>In progress</i>)	
19. Pagani F	23
An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells (FFC#5/2014, <i>In progress</i>)	
20. Venerando A, Villella VR	23
A kinase-directed approach to rescue functionality of F508del CFTR (FFC#7/2014, <i>In progress</i>)	
21. Galietta LJV, Pedemonte N, Bandiera T	23
Task Force for Cystic Fibrosis (FFC-TFCF/2014, <i>In progress</i>)	

Parallel Poster Sessions 2: Inflammation

Chairman: Mariacristina Dechechchi

22. Lleò MM	23
A CF, IL-8 transgenic mouse model for the <i>in vivo</i> , long-term monitoring of the anti-inflammatory role of metallo-protease inhibitors and antibiotics with mechanisms of action similar to that of azithromycin (FFC#10/2015, New)	
23. Dechechchi MC, Aureli M	24
A systematic investigation of miglustat-derivative iminosugar clusters as possible anti-inflammatory agents for Cystic Fibrosis lung disease (FFC#22/2015, New)	
24. Hirsch E, Laudanna C	25
Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis (FFC#23/2015, New)	
25. Rimessi A	25
Mitochondrial quality control machinery: a role in the <i>P. aeruginosa</i> -triggered inflammatory response in Cystic Fibrosis (FFC#20/2015, New)	

26. Strazzabosco M	26
CFTR-defective biliary cells from human induced pluripotent-stem cells (iPSC) as a model to study the role of innate immunity in cystic fibrosis liver disease (FFC#24/2015, <i>New</i>)	
27. Cabrini G, Nassini R	27
TRPA1 channels as novel molecular targets for anti-inflammatory therapies in CF lung (FFC#17/2014, <i>In progress</i>)	
28. Pinton P	28
Mitochondrial Ca ²⁺ -dependent inflammasome activation exacerbates the <i>P. aeruginosa</i> -driven inflammatory response (FFC#19/2014, <i>In progress</i>)	
29. Pizzo E, Pedone EM	29
Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease (FFC#20/2014, <i>In progress</i>)	
30. Romano M, Totani L, Marchisio M	29
Mechanisms and clinical implications of endothelial dysfunction in cystic fibrosis (FFC#23/2014, <i>In progress</i>)	
31. Sonnino S	30
The role of Glucocerebrosidase GBA2 in cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies (FFC#24/2014, <i>In progress</i>)	
32. Pilette C, De Rose V	31
Impaired secretory IgA and mucosal immunity in cystic fibrosis: contribution to lung pathology and impaired defence against bacterial infection, and role of CFTR-related epithelial changes in the regulation of the receptor-mediated IgA transcytosis (FFC#26/2014, <i>In progress</i>)	
33. Recchietti A	32
Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis (FFC#21/2014, <i>In progress</i>)	
34. Romani L	33
Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation (FFC#22/2014, <i>In progress</i>)	

Friday 27th

08:30-10:40

Plenary session 2: Rescuing F508del-CFTR

Chairman: Luis Galietta Co-chairman: Valeria Casavola

35. Casavola V	33
Mechanism of action of trimethylangelicin (TMA) in rescuing F508del CFTR functional expression (FFC#1/2013, <i>Concluded</i>)	
36. Gambari R, Chilin A	34
Design and synthesis of improved analogs of trimethylangelicin (TMA) for personalized treatment of cystic fibrosis (FFC#8/2014, <i>Concluded</i>)	
37. Mazzei M, Fossa P, Pascale M	35
ΔF508-CFTR correctors deriving from computational design and from safe natural compounds for a prompt clinical application (FFC#3/2013, <i>Concluded</i>)	
38. Rusnati M, Fossa P, Orro A	36
Development of novel methodologies for the identification of CFTR-targeted drugs: a multidisciplinary approach using Real Time Surface Plasmon Resonance interaction assay supported by bioinformatics strategies on HPC infrastructures (FFC#6/2014, <i>Concluded</i>)	
39. Moran O	37
The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR): corrector sites (FFC#4/2014. <i>In progress, see also poster session 1, abstr. 18</i>)	
40. Galietta LJV, Bandiera T	38
Task Force for Cystic Fibrosis (FFC-TFCF/2014. <i>In progress, see also poster session 1, abstr. 21</i>)	

11:10-13:10

Plenary session 3

Chairman: Oscar Moran Co-chairman: Giuseppe Castaldo

Other approaches for correcting CF basic defect

41. Lentini L, Pibiri I	38
Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental approaches for the read-through of PTCs in CF cells (FFC#1/2014. <i>In progress, see also poster session 1, abstr. 16</i>)	

42. Pagani F	39
An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells (FFC#5/2014. <i>In progress, see also poster session 1, abstr. 19</i>)		
43. Luini A	40
A systems biology approach to the correction of Cystic Fibrosis: From building a network of proteostasis regulatory pathways to combinatorial targeting (FFC#2/2014. <i>In progress, see also poster session 1, abstr. 17</i>)		
44. Venerando A, Villella VR	41
A kinase-directed approach to rescue functionality of F508del CFTR (FFC#7/2014. <i>In progress, see also poster session 1, abstr. 20</i>)		

New diagnostic proposals

45. Castaldo G	42
Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for Cystic Fibrosis and CFTR related-disorders (FFC#7/2013, <i>Concluded</i>)		
46. Melotti P, de Jonge H	43
Testing CFTR in epithelial organoids for drug development and diagnosis of cystic fibrosis (FFC#3/2014, <i>Concluded</i>)		

14:10-15:30

Plenary Session 4: Advances in clinical microbiology

Chairman: Gianmaria Rossolini Co-chairman: Livia Leoni

47. Bevvino A, Mengoni A, Taccetti G, Fiscarelli EV, De Alessandri A	44
Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiome based therapy (FFC#10/2014, <i>Concluded – FFC#14/2015, New</i>)		
48. Leoni L, Ungaro F, Imperi F, Fiscarelli EV	45
Anti-virulence therapy against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : identification of antibiofilm drugs and development of inhalable Niclosamide and Flucytosine formulations (FFC#10/2013, <i>Concluded</i>)		
49. Garlanda C	46
Infections in cystic fibrosis patients: effect of PTX3 genetic variants on endogenous PTX3 production and function (FFC#15/2014, <i>Concluded</i>)		
50. Pacello F	46
Targeting extracellular Protein Disulphide Isomerase to control <i>Burkholderia cenocepacia</i> lung infections (FFC#13/2014. <i>In progress, see also poster session 3, abstr. 62</i>)		

15:30-17:00

Plenary Session 5: State of the art and future challenges in CF Microbiology

Chairman: Gianmaria Rossolini

- Lecture by Eshwar Mahenthiralingam (University of Cardiff, UK) (45')	47
- General discussion		

17:30-19:30

Parallel Poster Session 3: Microbiology

Chairman: Annamaria Bevvino

51. Berluti F	48
Anti-inflammatory and anti-bacterial activity of bovine lactoferrin administered by aerosol in airway infections of pre-clinical wt and CF mouse models (FFC#12/2015, <i>New</i>)		
52. Bragonzi A, Iraqui F	48
Cystic fibrosis modifier genes related to <i>Pseudomonas aeruginosa</i> lung disease (FFC#9/2014, <i>In progress</i>)		
53. Lorè NI	49
Genetically diverse mice as innovative model for cystic fibrosis (FFC#11/2015, <i>New</i>)		
54. Bertoni G	49
Role of small RNA-based regulatory systems in cystic fibrosis airways infection by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : a new frontier in the identification of molecular targets for novel antibacterials (FFC#13/2015, <i>New</i>)		
55. Bevvino A, Mengoni A, Taccetti G, Fiscarelli EV, De Alessandri A	50
Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiome based therapy (FFC#14/2015, <i>New</i>)		
56. Cirillo DM	50
Impact of anti- <i>Staphylococcus aureus</i> treatment on <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -induced lung damage (FFC#15/2015, <i>New</i>)		
57. Gemma S, Docquier JD	51
Development of metallo-enzyme inhibitors to overcome <i>Pseudomonas aeruginosa</i> antibiotic-resistance in cystic fibrosis patients (FFC#16/2015, <i>New</i>)		

58. Ghisotti DE	52
Phage Therapy against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Infections in Cystic Fibrosis Patients (FFC#17/2015, New)	
59. Landini P	53
Antimetabolite drugs as inhibitors of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilm growth and virulence: potential chemotherapics and tools in target identification for new antimicrobials (FFC#18/2015, New)	
60. Riccardi G, Ungaro F	53
Inhalable formulations of new molecules effective against <i>Burkholderia cenocepacia</i> : from in vitro to in vivo applications (FFC#19/2015, New)	
61. Visca P, Peri F, Sorrentino R	54
Exploiting the potential of gallium for the treatment of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pulmonary infection (FFC#21/2015, New)	
62. Pacello F	55
Targeting extracellular Protein Disulphide Isomerase to control <i>Burkholderia cenocepacia</i> lung infections (FFC#13/2014, <i>In progress</i>)	
63. Mangoni ML	55
Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -induced lung infections (FFC#11/2014, <i>In progress</i>)	

Parallel Poster Session 4: Epidemiology and clinical research

Chairman: Giovanni Taccetti

64. Braggion C	55
CF Clinical guidelines (FFC#25/2015, New)	
65. Castellani C	56
Outcomes of spontaneous application of carrier screening for cystic fibrosis: follow-up of its effects on birth prevalence, neonatal screening and reproductive behaviour of carrier couples (FFC#26/2015, New)	
66. Cirilli N, Raia V	56
Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations (FFC#27/2015, New)	
67. Padoan R	57
Cystic fibrosis and meconium ileus: a multicentric study on risk factors for adverse outcome in infancy (FFC#28/2015, New)	
68. Sorio C, Averna M	58
Testing CFTR repair in cystic fibrosis patients carrying nonsense and channel gating mutations (FFC#29/2015, New)	
69. Corti A	58
GSH inhalation therapies in CF: how useful, how safe? Set-up of a CF murine model for monitoring of inflammation in vivo and assessment of convenient alternatives (FFC#18/2014, <i>In progress</i>)	
70. Taccetti G	59
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicentre study comparing classic treatment protocols with classic treatment combined with antibiotic treatment of upper airways (FFC#30/2015, New)	
71. Tortoli E, Cariani L, Di Serio C, Niemann S	60
Transmissibility and clinical significance of <i>Mycobacterium abscessus</i> in patients with cystic fibrosis (FFC#27/2014, <i>In progress</i>)	
72. Zaza G, Chilosì M	60
In vitro study of potential pro-fibrotic effect of Everolimus in different human airway cell lines. Searching for new biomarkers to optimize MTOR-inhibitor immunosuppressive treatment of cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation (FFC#28/2014, <i>In progress</i>)	

Saturday 28th

09:00-11:00

Plenary Session 6: New targets for anti-inflammatory therapies

Chairman: Giorgio Berton Co-chairman: Giulio Cabrini

73. Hirsch E, Laudanna C	60
Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis (FFC#25/2014, Completed – FFC#23/2015, Extension, see poster session 2, abstr. 22)	
74. Romani L	61
Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation (FFC#22/2014. <i>In progress, see also poster session 2, abstr. 34</i>)	
75. Cigana C, Naggi A, Colombo C	62
Pathophysiological relevance of glycosaminoglycans in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> chronic lung infections and validation of new therapeutic approaches to modulate inflammation and tissue remodelling (FFC#14/2013, Concluded)	

76. Signorelli P, Borghi E, Sozzani S	63
Sphingolipid targeting in inflammation and fungal infection (FFC#20/2013, <i>Concluded</i>)	
77. Berlutt F	64
Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airways (FFC#16/2014, <i>Concluded</i> – FFC#12/2015, <i>Extension, see poster session 3, abstr. 51</i>)	
78. Lleò MM	65
Development of a CF, IL-8/NF-KB transgenic mouse model for the in vivo long-term monitoring of the inflammatory response induced by bacteria treated or not with azithromycin (FFC#18/2013, <i>Concluded</i> – FFC#10/2015, <i>Extension, see poster session 2, abstr. 22</i>)	

11:30-12:50

Plenary Session 7: Antimicrobial peptides

Chairman: Alessandra Bragonzi **Co-chairman: Marialuisa Mangoni**

79. Pini A	66
Preclinical development of the antimicrobial peptide M33 and onset of regulatory procedures for clinical trials (FFC#12/2013, <i>Concluded</i>)	
80. Mangoni ML	66
Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -induced lung infections (FFC#11/2014. <i>In progress, see also poster session 3, abstr. 63</i>)	
81. Scocchi M	67
Development of BMAP18 as a peptide drug in the lung bacterial infections: a study to improve its effectiveness in the CF-pulmonary environment (FFC#14/2014, <i>Concluded</i>)	
82. Notomista E, Ungaro F	68
Inhalable dry powders for chemically-modified human Cationic AntiMicrobial Peptides (CAMPs): moving toward in vivo application (FFC#12/2014, <i>Concluded</i>)	

12:50-13:00

Conclusive remarks (**Giorgio Berton**, President FFC Scientific Advisory Board)

Notes

- All new projects as well as those in progress or extension are presented as posters. Some of these are also presented in plenary sessions and related abstracts are published in this book at such sessions.
- In this index the projects are marked with the names of the principal investigators (first name) and partners. The corresponding abstracts in this book may also have the names of research collaborators.

APPENDICES

1. Archive of Publications & Congress Abstracts from FFC Projects	70
2. 2002-2015 FFC Projects: funding, publications & impact factor	103
3. FFC Network for CF Research	104
4. International Reviewers of FFC Projects	107
5. Research Funding by FFC	109
6. FFC Projects (2013-2015) Adopted by Supporters	110

ABSTRACTS

PLENARY SESSION 1

Preventive and clinical perspectives

1. Citizens' jury and decision making on cystic fibrosis carrier screening: to screen or not to screen?

Mosconi P¹, Castellani C²

¹Ist. di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" Laboratory for medical research and consumer involvement; ²Centro Fibrosi Cistica, AOUI Verona (FFCProject#22/2013, Concluded



Il logo della ricerca che ha visto coinvolte le "Giurie di cittadini" per lo screening del portatore FC

Background. CF carrier screening is a genetic test to identify carriers among reproductive adults, namely the so-called heterozygotes who have one copy of the mutated gene and therefore are not sick, but can transmit the disease to a child if the partner is carrying a similar mutation. Over the past 10-15 years in the western part of the Veneto and Trentino-Alto Adige, the test has been used with caution and offered to those who already had a case of cystic fibrosis in the family. For the past ten years the University of Padua took a different policy and launched a campaign of active offer of CF testing to the general population. As a consequence, in the eastern region thousands of tests have been performed, identifying CF carriers. In the eastern Veneto region, the number of newborns with cystic fibrosis has fallen year after year until almost to zero, while this decrease was lower in the western part of the Veneto and Trentino-Alto Adige.

Hypothesis and objectives. The aims of this project - which follows the pilot project FFC#9/2011 - were:

- organize the Jury of citizens in two other Italian cities to consolidate the results of the pilot project in order to facilitate the implementation on a national scale;
- launch an internet survey.

Methods. In Pistoia and Palermo had been organized two juries involving citizens through local associations. The jurors received a 30 pages informative booklet 2 weeks before the meeting and participated to two days fully dedicated to the topic with experts.

In the second year of the project an online survey was launched through the sites of the promoters of patient organizations, scientific societies, through emails and articles in the laypeople press.

Results. The jury of Pistoia (May 2014) has involved 15 jurors who unanimously have expressed in favor of screening; the second jury in Palermo (September 2014) involved 16 jurors, 9 were in favor of screening.

Over 900 people participated the online survey answering the question: Should or shouldn't the Health Service organize a screening of the population in order to identify healthy people that may have children suffering from cystic fibrosis? On 566 citizens 86% (488 respondents) answered Yes, while on 338 health workers 63% (213) answered Yes.

Spin-off for research & clinical purposes. All data collected have been presented in a final conference where the implementation in the clinical practice of the results have been discussed.

Fare o non fare lo screening del portatore sano per la fibrosi cistica? La voce dei cittadini e della comunità scientifica

Ragioni dello studio. Lo screening del portatore prevede un esame genetico per individuare tra gli adulti i portatori sani, cioè i cosiddetti eterozigoti, coloro che hanno una sola copia del gene mutato e quindi non sono malati, ma possono trasmettere la malattia a un figlio se anche l'altro genitore è portatore di una mutazione simile. Negli ultimi 10-15 anni nella parte occidentale del Veneto ed in Trentino-Alto-Adige il test del portatore è stato offerto a coloro che avevano già un caso di fibrosi cistica in famiglia. Da una decina d'anni l'Università di Padova ha avviato una campagna di offerta attiva del test alla popolazione generale. Nella parte orientale della regione si sono così eseguite decine di migliaia di test, individuando migliaia di portatori e decine di coppie in cui entrambi sono eterozigoti. A seguito di questa attività, nella parte orientale della regione Veneto il numero di nuovi nati con la fibrosi cistica è sceso sino quasi ad annullarsi, mentre questa diminuzione è stata più bassa nella parte occidentale del Veneto e in Trentino-Alto Adige.

Ipotesi e obiettivi. Obiettivo del progetto, che segue al progetto FFC #9/2011, è stato quello di organizzare la Giuria dei Cittadini in altre due realtà italiane per consolidare il risultato e facilitarne l'implementazione su scala nazionale, nonché avviare una consultazione pubblica online tramite questionario.

Metodi. Nel primo anno si sono organizzate due Giurie dei cittadini a Pistoia e Palermo coinvolgendo cittadini di associazioni sanitarie e non. Nel secondo anno è stata avviata un'indagine sul sito PartecipaSalute.it. L'indagine è stata lanciata sui siti dei promotori, di associazioni di pazienti, di società scientifiche, attraverso mail e articoli sulla stampa divulgativa.

Risultati. La Giuria di Pistoia (maggio 2014) ha visto il coinvolgimento di 15 giurati che all'unanimità si sono espresi per lo screening, la Giuria di Palermo (settembre 2014) con 16 giurati: 9 si sono espresi a favore dello screening.

Nell'indagine di popolazione oltre 900 persone hanno risposto alla domanda: Il Servizio Sanitario deve o no organizzare uno screening nella popolazione con lo scopo di individuare persone sane che potrebbero avere figli malati di fibrosi cistica? Hanno risposto Sì 488 (86%) dei 566 cittadini e 213 (63%) dei 338 operatori sanitari.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Per la divulgazione di risultati è stato organizzato un convegno finale dove è stata discussa l'implementazione pratica dei risultati ottenuti.

2. Outcomes of spontaneous application of carrier screening for cystic fibrosis: follow-up of its effects on birth prevalence, neonatal screening and reproductive behaviour of carrier couples.

Castellani C

Centro fibrosi cistica, AOUI Verona (FFC Project#26/2015, New. See also Poster Session n. 65)



Carlo Castellani

Background. Testing for Cystic Fibrosis (CF) gene mutations has been widely practiced in a sub-area of north-eastern Italy (Eastern Veneto), although not in a structured and formal setting.

Hypothesis and objectives. The project is designed to continue the monitoring of carrier screening with respect to its effects on CF birth prevalence and newborn screening in Northeast Italy. In the last 3 years (FFC project #8/2011) a reduction in the number of tests performed in the area has been registered. The project will monitor if such trend continues, explore its causes and see if birth prevalence will be influenced by it. Birth prevalence trends in the area under study will be compared with those in the rest of Italy. Information on the behaviour of couples of carriers identified by the screening system will be collected for newly identified couples of heterozygotes.

Essential Methods. Collection of data on number of tests performed and results obtained; collection of data on CF birth prevalence and on inconclusive diagnoses and positive predictive value originated by newborn screening through the Verona CF Centre; collection of data on CF birth prevalence from the rest of Italy through the Italian CF Registry and/or through CF Centres databases in selected regions; analysis of the correlation between carrier screening (number of tests, carriers and carrier couples), birth prevalence and newborn screening performance; follow-up of carrier couples' attitudes and behaviours.

The project will cover the years 2014 (retrospective data collection) and 2015, 2016, 2017 (prospective data collection).

Preliminary results. Evidence of a long-term negative correlation between CF carrier screening practice and CF birth prevalence in Eastern Veneto has been provided by a previous study. In the same area carrier screening has been shown to affect CF newborn screening performance by increasing the ratio between inconclusive diagnoses and true positives and by lowering the positive predictive value of the system.

Expected results and their significance. More detailed information on the correlation between CF carrier screening, CF birth prevalence and CF newborn screening; better information on attitudes and behaviours of carrier couples.

Risultati di un'offerta non organizzata di screening del portatore di fibrosi cistica: monitorizzazione degli effetti su incidenza, screening neonatale e scelte riproduttive delle coppie di portatori

Ragioni dello studio. I bambini con fibrosi cistica (FC) nascono da due genitori portatori di FC, che hanno un rischio di 1 su 4 per ogni gravidanza di avere un figlio malato. È possibile eseguire un test che trova le mutazioni FC e la maggior parte dei portatori. Negli ultimi anni l'offerta del test del portatore ai singoli e alle coppie che non abbiano familiari malati di FC (screening del portatore) è stata ampiamente praticato nel Veneto orientale.

Ipotesi e obiettivo. Questo studio proseguirà e completerà il precedente progetto FFC #8/2011 e si pone l'obiettivo di verificare se la correlazione inversa tra screening del portatore e incidenza della FC si mantenga anche in presenza di alcuni segnali di contrazione dell'offerta del test registrati negli ultimi anni del precedente studio.

Metodi essenziali. Saranno raccolte informazioni sul numero di test genetici eseguiti, su portatori e coppie di portatori identificate e sulla correlazione tra questi dati, l'incidenza della malattia e l'efficienza dello screening neonatale. Inoltre saranno raccolte informazioni sul comportamento delle coppie di portatori identificate dallo screening.

Risultati preliminari. Lo screening del portatore nel Veneto orientale ha portato ad una riduzione delle nascite di bambini con FC (progetto FFC #8/2011).

Risultati attesi e loro significato. Lo studio consentirà di approfondire la correlazione tra screening del portatore e incidenza della FC e di capire meglio se e come le scelte riproduttive delle coppie di portatori identificate agiscono sul numero di nascite di bambini con FC.

3. Clinical implications of the natural history of insulin secretory and sensitivity defects in cystic fibrosis

Battezzati A¹, De Carlo G¹, Bedogni G¹, Leone A¹, De Amicis R¹, Bertoli S¹, Colombo C², Guarise R², Cervellin G², Alicandro G², Zazzeron L², Russo MC², Loi S², Speziali C², Bisogno A², Mari A³, Grespan E³

¹ International Center for the Assessment of Nutritional Status, DeFENS, University of Milan; ² Cystic Fibrosis Center, Fondazione Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, University of Milan; ³ Institute of Neuroscience, National Research Council, Padova (FFC project #21/2013, Concluded)



Alberto Battezzati (sesto da sinistra) e il suo gruppo di ricerca.

Background. Cystic Fibrosis Related Diabetes, the most prevalent comorbidity in older patients, is often anticipated by pulmonary and nutritional decay. Insulin secretory (IS)

and resistance (IR) defects are involved but their progression rates, determinants and implications for nutritional, respiratory and clinical outcomes are unclear. We reported that IS and IR are related to respiratory and nutritional status (Project FFC #16/2005).

Hypothesis and objectives. 1) To provide CF population-specific estimates of the time course of IS and IR defects quantified by a model previously developed; 2) To identify risk factors associated to their progression rates and patients negative outcomes.

Methods. Three groups, led by Dr Battezzati (ICANS), Dr Colombo (CF Center, Milan) and Dr Mari (ISIB-CNR) cooperated to: repeat 287 OGTT, respiratory function, nutritional assessment in 201 patients in follow-up; OGTT modeling of IR and IS parameters in the 995 OGTTs set since 2003; validate the relationship of anthropometric and BIA measures to body composition reference Methods; modelling natural history of IS and IR.

Results. The patients follow-up length increased by 4 yrs. In subsets, new respiratory tests (Lung Clearance Index) and state of the art body composition techniques were implemented. Main achievements:

1. in a cross-sectional analysis of the ongoing cohort, IS defects progressively worsen, but are not sex specific and do not explain the worse glucose tolerance in females. Insulin clearance increases with age, more in females, worsening glucose tolerance. We provided sex and age normograms of the main parameters for clinical use;
2. using DXA as reference method, the estimates of body composition obtained from skinfolds and BIA techniques cannot be part of the standard nutritional assessment of CF patients until reliable CF-specific equations will become available;
3. defective IS is a long term predictor of future diabetes. Simpler parameters (C-peptide and glucose concentrations at 30- 60?) may be useful surrogates.

Spin-offs for research and clinical purposes. We have described cross-sectionally the time course of IR and IS and we provided age and sex specific reference values. We estimated the reliability of field nutritional assessment techniques in clinical practice. We also showed that defects in the early IS to glucose are long term predictors of future diabetes and growth failure.

Implicazioni cliniche della storia naturale dei deficit di secrezione e sensibilità insulinica in fibrosi cistica

Introduzione. Il diabete in Fibrosi Cistica, la comorbidità più frequente nei pazienti adulti, è spesso preceduto da decadimento respiratorio e nutrizionale. Deficit di secrezione insulinica sono coinvolti ma con implicazioni da definire. Abbiamo precedentemente riscontrato che essi sono legati alla condizione respiratoria e nutrizionale (Progetto FFC #16/2005).

Ipotesi e obiettivi. 1) Fornire stime popolazione-specifiche di decorso temporale dei difetti secretori quantificati con un modello precedentemente sviluppato. 2) Identificare i fattori di rischio associati alla loro progressione e a futuro diabete e decadimento nutrizionale.

Metodi. Tre gruppi guidati da Dr Battezzati (ICANS), Dr Colombo (Centro CF, Milano) e Dr Mari (ISIB-CNR) hanno collaborato a: ripetere 287 OGTT, funzione respiratoria, valutazioni nutrizionali in 201 pazienti in follow-up; modellare i parametri secretori nei 995 OGTT raccolti dal 2003; validare semplici tecniche di valutazione nutrizionale con metodi di riferimento di composizione corporea; descrivere la storia naturale dei deficit secretori insulinici.

Risultati. Abbiamo aumentato di 4 anni la durata del follow-up dei pazienti studiati dal 2003. In sottogruppi abbiamo

studiato la funzione respiratoria e lo stato nutrizionale con test innovativi. Risultati principali:

1. i difetti secretori peggiorano progressivamente ma non spiegano la peggiore tolleranza al glucosio nelle donne, nelle quali però il fegato rimuove una maggiore quota dell'insulina prodotta dal pancreas. Abbiamo prodotto valori di riferimento per i parametri di secrezione insulinica utili per la pratica clinica;
2. usando la DEXA come tecnica di riferimento abbiamo evidenziato i limiti delle comuni tecniche antropometriche e della bioimpedenza per misurare lo stato di nutrizione;
3. una ridotta secrezione insulinica all'inizio del carico orale di glucosio permette di predire la comparsa di diabete e il deficit di crescita a distanza di molti anni.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Abbiamo mostrato come la capacità di secerne insulina si riduce nel tempo e abbiamo fornito dei limiti di riferimento. Abbiamo stimato l'affidabilità delle tecniche di rilevamento nutrizionale nella pratica clinica. Abbiamo infine suggerito che i deficit di secrezione insulinica predicono a lungo termine lo sviluppo di diabete e il deficit staturale in età adulta.

4. Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate

Zegarra-Moran O¹, Gianotti A¹, Capurro V¹, Casciaro R², Minicucci L², Galietta LJV¹, Moran O³

¹Unità Operativa Complessa di Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova; ²Centro Fibrosi Cistica, Istituto Giannina Gaslini, Genova; ³Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Genova (Project FFC#29/2014, Concluded)



Olga Zegarra-Moran, al centro, e il suo gruppo di ricerca

Background. Mucins are mucus glycoproteins that are kept compact inside mucous cells because their polyanionic part are shielded by counter-ions. When mucus is secreted towards the airways, mucins expand to permit an efficient mucociliary clearance. This function, that requires rapid removal of cations, seems to depend on the presence of bicarbonate. In CF patients, the defective ion transport across mutated protein causes a simultaneous reduction of fluid, Cl- and bicarbonate secretion leading to a viscous mucus phenotype with frequent infections and bacterial colonization of the airways.

Hypothesis and objectives. We have hypothesized, and aimed to demonstrate, that the consequence of the defective fluid and bicarbonate secretion in CF is an inappropriate structure of the mucus network with deficient rheological properties, and that pharmacological correction of the mutated CFTR may lead to recover the properties of mucus. In ad-

dition, we intended to determine whether inhalation of bicarbonate by CF patients can improve the properties of sputum.

Methods. The micro-rheology of mucus from CF and non-CF bronchial epithelium, and of untreated and bicarbonate-treated CF sputum, have been analysed using Multiple Particle Tracking, a technique that consists in following the movement of fluorescent beads inside the medium to be studied. The statistical analysis of the movement of the beads permits to calculate the diffusion coefficient and other parameters that give insights about mucus viscoelastic properties.

Results. We have determined that in CF mucus nanobeads have lower diffusion coefficient, and the elastic and viscous moduli are higher than in non-CF mucus. Also, we have found that 25% correction of F508del mutation with lumacaftor is enough to improve significantly CF mucus properties. Surprisingly, also incubation with amiloride, a compound that reduces fluid absorption but not the secretion of bicarbonate, improved CF mucus properties. Regarding inhalation of bicarbonate by CF patients, we have designed a pilot clinical trial that is still going on.

Spin-offs for research and clinical purposes. In conclusion, CF mucus properties can be recovered in vitro either improving the hydration of the airways or increasing the activity of the mutated protein with a corrector compound, probably by increasing bicarbonate secretion. The results of our clinical trial will permit to determine whether bicarbonate, a low cost and mutation-independent treatment, can improve the properties of CF sputums.

Proprietà del muco delle vie aeree in fibrosi cistica: modifiche dovute a cambiamenti nell'attività di CFTR e dopo applicazione di bicarbonato.

Ragioni dello studio. La maggior parte dei problemi dei pazienti colpiti da fibrosi cistica (FC) dipende dalla presenza di un muco molto denso, soprattutto nelle vie aeree, dove la difficoltà di eliminare questo muco mediante la tosse porta a infezioni e alla colonizzazione batterica. Le mucine, ossia delle glicoproteine del muco, sono molto compatte quando stanno dentro le cellule, ma quando vengono secrete nelle vie aeree dovrebbero espandersi per poter funzionare correttamente. In FC questo non accade e dati recenti suggeriscono che il muco sia così denso, non solo per la mancanza di fluido, ma principalmente perché la mancata secrezione di bicarbonato, dovuta alle mutazioni di CFTR, non permette una buona espansione delle mucine.

Ipotesi e obiettivi. Ci siamo proposti di analizzare le proprietà viscoelastiche del muco (quelle che lo rendono così spesso) prodotto in vitro da epitelii bronchiali FC e da controlli non-FC e valutare se il correttore lumacaftor, che aumenta l'attività della CFTR mutata, e altri composti chimici migliorino le caratteristiche del muco rendendolo meno denso. Per ultimo, volevamo stabilire se l'inalazione di bicarbonato migliorava le proprietà dell'espettorato di pazienti FC.

Metodi. Abbiamo utilizzato una tecnica che consiste in analizzare il movimento di piccole biglie fluorescenti all'interno del muco o dell'espettorato da studiare fornendo informazione sulle proprietà viscoelastiche.

Risultati. Abbiamo stabilito che una correzione del 25% della mutazione F508del-CFTR con lumacaftor, è sufficiente a migliorare in modo significativo le proprietà del muco FC, avvicinandole a quelle del muco non-FC. Anche l'incubazione con amiloride, un composto che riduce l'assorbimento di liquidi ma che non cambia la secrezione di bicarbonato, migliora le proprietà del muco FC. Per quanto riguarda l'inalazione di bicarbonato da parte di pazienti affetti da FC, abbiamo progettato uno studio clinico pilota, che è ancora in corso.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. In conclusione, i nostri risultati indicano che le proprietà del muco possono

essere recuperate sia migliorando l'idratazione delle vie aeree sia aumentando l'attività della proteina mutata trattandola con un composto correttore. Il risultato del nostro studio clinico permetterà di stabilire se il bicarbonato, un trattamento che sarebbe a basso costo e applicabile a tutti i pazienti (mutazione-indipendente), sia in grado di migliorare le proprietà dell'espettorato dei pazienti e in questo modo ridurre il rischio di infezioni.

5. *In vitro study of potential pro-fibrotic effect of Everolimus in different human airway cell lines. Searching for new biomarkers to optimize mTOR-inhibitor immunosuppressive treatment of cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation*

Tomei P¹, Masola V¹, Granata S¹, Chilosi M², Lupo A¹, Zaza G¹

¹ Renal Unit, Department of Medicine, University of Verona;

² Department of Pathology and Diagnostics, Laboratory of Molecular Pathology, University-Hospital of Verona, Italy (In Progress, see also poster session. n. 72)



Gianluigi Zaza

Background. MTOR-inhibitors (mTOR-I), Everolimus (EVE) and Sirolimus, immunosuppressants broadly used in transplantation, may determine severe adverse events including pulmonary fibrosis.

Hypothesis and objectives. The pathogenic mechanism of mTOR-I-associated pulmonary toxicity is still unclear, but epithelial to mesenchimal transition (EMT) of bronchial/pulmonary cells may have a role.

Methods. Human type II pneumocyte-derived A549, normal (NuLi-1) and homozygous for the delta F508 mutation causing cystic fibrosis (CUFI-1) bronchial epithelial cell lines were treated with EVE or Tacrolimus at different concentrations. RT-PCR and immunofluorescence were used to evaluate mRNA and protein levels of EMT markers (alpha-SMA, Vimentin, Fibronectin). Subsequently, in 13 EVE- and 13 Tacrolimus-treated patients we compared the rate of lung fibrosis, estimated by an arbitrary pulmonary fibrosis index score (PFIS).

Results. Biomolecular experiments demonstrated that high doses of EVE (100 nM) up-regulated EMT markers in all cell lines at both gene- and protein level with a significant AKT phosphorylation. In the in vivo part of the study, we found that the PFISs were significantly higher in EVE-group compared to Tacrolimus-group ($p=0.03$) and correlated with trough levels ($R^2=0.35$).

Spin-offs for research and clinical purposes. Our data revealed, for the first time, a dose-depending EVE-induced EMT in airway cells. Additionally, they suggest that clinicians should employ, whether possible, low dosages of mTOR-Is evaluating periodically pulmonary function.

Studio in vitro del potenziale ruolo profibrotico di Everolimus su diversi tipi di cellule polmonari e ricerca di nuovi biomarker utili per ottimizzare il trattamento immunsoppressivo con inibitori di mTOR in pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmone.

Ragioni dello studio. Gli inibitori di mTOR (mTOR-I), Everolimus (EVE) e Sirolimus, immunsoppressori ampiamente utilizzati nei trapianti di organi solidi, possono determinare gravi eventi avversi, tra cui la fibrosi polmonare.

Ipotesi e obiettivi. Il meccanismo patogenetico alla base della tossicità polmonare di questi farmaci non è ancora molto chiaro, ma la transizione epitelia-mesenchimale (EMT) delle cellule bronchiali/polmonari può avere un ruolo importante.

Metodi. Pertanto, pneumociti di II tipo (A549) e linee cellulari di epitelio bronchiale normale (Nuli-1) e con mutazione in omozigosi del gene delta F508 della fibrosi cistica (CUFI-1) sono stati trattati con EVE o Tacrolimus (TAC) (un farmaco immunsoppressore appartenente alla famiglia delle Calcineurine) a diverse concentrazioni. Le metodologie di Real-Time (RT-PCR) e l'immunofluorescenza sono state utilizzate per valutare i livelli di mRNA e proteici dei principali marker di EMT (alfa-SMA, vimentina, fibronectina). Successivamente, in 13 pazienti nefro-trapiantati trattati con TAC e 13 trattati con EVE è stato stimato il tasso di fibrosi polmonare attraverso l'utilizzo di uno 'SCORE' clinico arbitrario (PFI).

Risultati. Gli esperimenti biomolecolari dimostravano che alte dosi di EVE (100 nM) erano in grado di iper-esprimere i marcatori di EMT in tutte le linee cellulari sia a livello genetico sia proteico con un significativo incremento della fosforilazione della proteina AKT. Nella parte in vivo dello studio, abbiamo riscontrato livelli significativamente più alti di PFIS nel gruppo EVE rispetto al TAC ($p = 0.03$). I livelli di fibrosi erano, poi, significativamente correlati alle concentrazioni ematiche di TAC ($R^2 = 0.35$).

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Pertanto, i nostri dati dimostravano, per la prima volta, che l'EVE era in grado di indurre EMT delle cellule delle vie aeree e sottolineavano la necessità da parte dei medici coinvolti nel follow-up dei pazienti trapiantati di utilizzare, se possibile, bassi dosaggi di questa categoria farmacologica (mTOR-I) e di valutare periodicamente la funzionalità polmonare.

6. Transmissibility and clinical significance of *Mycobacterium abscessus* in patients with cystic fibrosis

Tortoli E¹, Cariani ML², Di Serio C³, Niemann S⁴

¹ Unità Patogeni Batterici Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele; ² Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano; ³ CUSSB-Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano; ⁴ Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel, Germany (FFCProject#27/2014, In progress. See also poster session, n. 71)

Background. *M. abscessus* (MA) is a species frequently isolated from cystic fibrosis (CF) patients. Three subspecies (sspp) of MA exist and their identification is crucial for epidemiology and optimal patient's management. Although the environment is considered the source of MA infections, its transmission between CF patients has been hypothesized.

Objectives. We aimed to investigate a large collection of



Enrico Tortoli

MA isolates obtained from CF patients to increase present knowledge about the prevalence of the 3 sspp, their antimicrobial susceptibility, the presence of MA genotypes characterized by increased virulence and responsible for severe clinical manifestations, the transmissibility between patients of the infection.

Methods. 140 MA isolated from 34 CF patients of 3 Italian centers have been identified at level of sspp by genetic sequencing of *rpoB* gene. *Erm*, 16S rRNA and 23S rRNA genes have been sequenced to detect mutations responsible for resistance to macrolides and amikacin. For each patient, the isolates belonging to the same sspp have been genotyped, determining their VNTR profile and resorting to whole genome sequencing (WGS). The MICs of 10 antimicrobials have been determined on selected isolates.

Results. Out of 140 MA strains 95 were identified as belonging to the sspp MA abscessus; 14 as MA massiliense and 31 as MA bolletii. The same sspp was invariably isolated from 31 patients while in 3 others were isolated, in different times, 2 different sspp. In the large majority of patients persistently infected by the same MA sspp the genotype remained unchanged. WGS revealed that in patients chronically infected by the same subspecies characterized by the same VNTR genotype, a single strain was invariably involved. In contrast, the isolates from different patients belonged to different strains, even when the same VNTR genotype was shared. In no case the same strain was isolated by different patients. With the exception of MA massiliense all the strains were characterized by inducible resistance to macrolides.

Spin-off for research & clinical purposes. The exclusion of transmission of MA among CF patients, although not entitling relaxing of present cross-infections measures, is comforting. The study, focused so far to chronic MA infections, will be extended to transient infections with the aim of investigating the strains for possible differences associated with deterioration of lung functionality.

Trasmissibilità e significato clinico di *Mycobacterium abscessus* in pazienti con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Le infezioni polmonari da *M. abscessus* (MA), di cui esistono 3 diverse sottospecie (sspp), sono in aumento nei pazienti con fibrosi cistica (FC). Si ritiene comunemente che le infezioni da MA vengano contratte dall'ambiente ma è stata ipotizzata anche la trasmissione fra pazienti.

Ipotesi e obiettivi. Abbiamo intrapreso uno studio allargato ad un ampio numero di ceppi di MA isolati da pazienti con FC per acquisire informazioni sulla prevalenza delle 3 sspp, sulla loro sensibilità agli antibiotici, sull'eventuale esistenza di varianti genetiche correlate alla gravità del quadro clinico, nonché sulla possibilità di trasmissione interumana.

Metodi. Sono stati presi in esame 140 isolati di MA provenienti da 34 pazienti di 3 centri italiani. L'identificazione della sottospecie è stata ottenuta determinando la sequenza del

gene rpoB. I geni erm, 16S rRNA e 23S rRNA sono stati sequenziati alla ricerca di mutazioni responsabili di resistenza ai macrolidi ed all'amikacina. I ceppi ottenuti dai singoli pazienti sono stati sottoposti ad analisi genica (mediante VNTR e/o con sequenziamento dell'intero genoma). La sensibilità a 10 antibiotici è stata saggidata in vitro.

Risultati. 95 dei 140 ceppi appartenevano alla sspp MA abscessus, 14 alla sspp MA massiliense e 31 alla sspp MA bolletii. Da 31 pazienti è stata isolata sempre la stessa sspp mentre nei 3 rimanenti si sono alternate, nel tempo, 2 sspp diverse. Nei pazienti cronicamente infettati dalla stessa sspp i ceppi isolati appartenevano alla stessa variante VNTR. Il sequenziamento dell'intero genoma ha permesso di dimostrare che in ciascun paziente il ceppo infettante rimaneva invariato nel tempo. Al contrario, in pazienti diversi, le in-

fezioni erano sempre sostenute da ceppi diversi fra di loro, anche quando appartenevano alla stessa variante VNTR. Nessun ceppo è risultato responsabile di infezione in più di un paziente. Con l'eccezione della sspp MA massiliense, tutti i ceppi hanno evidenziato resistenza inducibile ad azitromicina e claritromicina.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. L'esclusione di trasmissione nosocomiale di MA nei 3 centri italiani, anche se non autorizza un rilassamento delle misure di prevenzione in atto, è un dato confortante. Dall'allargamento dello studio alle infezioni occasionali da MA, e dalla correlazione con i dati clinici, è lecito aspettarsi un ampliamento delle conoscenze relative al significato di tali infezioni ed al loro impatto sul deterioramento della funzionalità polmonare.

PARALLEL POSTER SESSIONS

1. CFTR

7. Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in cystic fibrosis

Atlante A

Istituto di Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari, (FFC#1/2015, New)



Anna Atlante

Background. The dysregulation of cell redox balance, mainly influenced by the ratio between GSH and glutathione disulfide (GSSG), can lead to acute and/or long-term oxidative or reductive stresses that are associated with many abnormalities in disease processes, including CF. The lung dysfunction that characterizes the CF is due to mutations (F508del is the most frequent mutation) within the CFTR gene coding for a membrane protein, which maintains a cellular homeostatic balance not only of chloride anions, but also other, larger organic anions, including GSH. In the respiratory system of CF patients, there is a defective secretion of GSH - besides Cl⁻ - which is partially restored by small molecules able to overcome the inefficient folding of the mutant protein defect.

Hypothesis and objectives. Given that the redox balance is regulated by complex processes converging exclusively upon mitochondria, which, in turn, depend on GSH level to limit oxidative damage, our hypothesis is that mitochondria could play a major role in CF. The main goal is to understand the intertwined relation between F508del-CFTR and mitochondrial bioenergetics, with respect to both oxidative stress and redox imbalance in-order-to explain some characteristics of the complex FC phenotype.

Essential Methods. Polarographic/photometric measurements of mitochondrial respiratory functions were made by using cells homozygous for the F508del allele and cells stably expressing wt-CFTR, as well primary airway cells derived from bronchi of patients homozygous for the F508del mutation and from healthy individuals.

Preliminary results. First investigations on major steps of mitochondrial oxidative phosphorylation reveal that Complex I- and IV-dependent substrate oxidation, the membrane potential generation and the adenine nucleotide translocator activity are impaired. The treatment with the correctors, Vx-809 and TMA, which per sé are without effect on mitochondrial functions, partially reverted the observed values.

Expected results and their significance. This pioneering study by widening our knowledge on mitochondria, an almost completely unexplored topic in CF research, on the one hand will provide valuable information on both cell bioenergetics and how mitochondria modulate the GSH-dependent redox balance and then the inflammatory process in CF, on the other hand will detect what is/are the protein/s primarily responsible of the redox imbalance, then revealing potential new targets for CF therapy.

Correlazione tra mitocondri e F508del-CFTR nella Fibrosi Cistica

Ragioni dello studio. Il glutathione (GSH) rappresenta la prima linea di difesa del polmone contro il danno cellulare indotto dallo stress ossidativo. Una diminuzione di GSH in cellula provoca alterazione dell'equilibrio redox. Nell'epitelio delle vie respiratorie di pazienti affetti da Fibrosi cistica (FC), il livello di GSH risulta considerevolmente ridotto e, pertanto, essi non beneficiano degli effetti antiossidanti e mucolitici del GSH. Inoltre, il deficit della proteina CFTR (F508del-CFTR) non consente l'efflusso di GSH dalle cellule dell'epitelio polmonare.

Ipotesi e obiettivo. Dato che in una cellula l'equilibrio redox - influenzato principalmente dal rapporto tra GSH e glutattione disolfuro (GSSG) - è regolato da processi complessi convergenti esclusivamente sui mitocondri, che, a loro volta, dipendono dal livello di GSH per limitare il danno ossidativo, il progetto di ricerca si propone di chiarire il ruolo dei mitocondri nella FC. L'obiettivo principale è quello di comprendere la relazione esistente tra F508del-CFTR e la bioenergetica mitocondriale, per quanto riguarda sia lo stress ossidativo che il mantenimento dell'equilibrio redox al fine di spiegare

alcune caratteristiche del complesso fenotipo nella FC.

Metodi essenziali. La funzionalità mitocondriale è stata esaminata mediante analisi polarografica e fotometrica. Le sperimentazioni sono state condotte su linee cellulari umane stabilizzate CFBE41o- come modello di epitelio FC e sulle 16HBE14o- come controparte wild-type. Inoltre sono state utilizzate anche colture primarie di cellule bronchiali umane FC, fornite dalla facility della FFC.

Risultati preliminari. Prime evidenze suggeriscono che nella FC alcune delle principali tappe della fosforilazione ossidativa mitocondriale - l'ossidazione di substrati, dipendente dai complessi respiratori mitocondriali I e IV, la creazione del potenziale di membrana e lo scambio ADP/ATP mediato dal traslocatore degli adenin-nucleotidi - risultano alterate. Il trattamento con i correttori si traduce in un miglioramento verso valori riscontrati in cellule sane.

Risultati attesi e loro significato. La comprensione dei meccanismi molecolari responsabili della relazione esistente tra il F508del-CFTR e la bioenergetica mitocondriale, rispetto allo sbilanciamento redox cellulare, rivelerà potenziali bersagli utili per nuove strategie terapeutiche con l'obiettivo di una migliore gestione della malattia e di alleviare l'infiammazione.

8. RNF5/RMA1 ubiquitin ligase as a drug target for mutant CFTR rescue

Cavalli A¹, Pedemonte N²

¹ Università di Bologna, Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie; ² Istituto Giannina Gaslini - U.O.C. Genetica Medica (FFC#2/2015, New)



Andrea Cavalli, responsabile del progetto, e Nicoletta Pedemonte, partner di ricerca

Background. Cystic fibrosis (CF) is a severe hereditary disease caused by mutations that abolish the function of a membrane protein (named CFTR) needed to transport chloride ions. The most frequent mutation in CF patients is the deletion of phenylalanine 508 (F508del), causing the mistrafficking of CFTR that remains trapped in the endoplasmic reticulum and is subsequently degraded. The trafficking defect can be rescued by molecules called correctors, however, the efficacy of known compounds is reduced. By studying proteins that interact with CFTR we identified a protein named RNF5 whose inhibition can lead to mutant CFTR rescue both in vitro and in vivo using animal models.

Hypothesis and objectives. The aims of the present project are: 1. to identify, by means of computational studies, small drug-like molecules able to inhibit RNF5 activity; and 2. to analyze the molecular mechanisms involved in CFTR rescue following RNF5 suppression.

Essential Methods. By means of a computational approach, we will generate a model of RNF5 protein that will be used to screen large libraries of compounds (>4M), to identify small drug-like molecules able to inhibit RNF5 activity, leading to CFTR rescue.

Preliminary results. *In vitro* RNF5 silencing causes a significant F508del-CFTR rescue additive/synergic with the effect of the investigational drug VX-809. RNF5 loss in F508del-CFTR transgenic animals ameliorated intestinal malabsorption as evidenced by changes in body weight, and reduced fecal excretion of biliary acids, and concomitantly led to an increase in CFTR activity in intestinal epithelial cells. *In vitro* and *in vivo* experiments clearly demonstrate that RNF5 could constitute a strong target for the development of novel therapies for CF.

Expected results and their significance. This study will allow us to identify novel treatments with improved efficacy and selectivity, aimed to correct the basic defect associated to F508del-CFTR (50% of CF patients in Italy).

La ubiquitina ligasi RNF5/RMA1 quale nuovo bersaglio terapeutico per il recupero della proteina CFTR mutata

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è una malattia ereditaria causata da mutazioni che provocano la perdita di funzione di una proteina di membrana (chiamata CFTR) che serve per il trasporto di ioni cloruro. La mutazione più frequente nei pazienti FC è la delezione della fenilalanina 508 (F508del), che provoca una perdita di stabilità della proteina appena sintetizzata. Di conseguenza la proteina CFTR con la mutazione F508del viene in gran parte degradata prima ancora che raggiunga la membrana cellulare. Il difetto di stabilità può essere trattato con molecole chiamate correttori, tuttavia, l'efficacia dei correttori a oggi identificati è ridotta. Studiando le proteine che interagiscono con CFTR si è visto, sia *in vitro* su cellule sia *in vivo* su un modello animale, che la soppressione di una proteina chiamata RNF5 è in grado di recuperare la proteina CFTR mutata.

Ipotesi e obiettivo. Il presente progetto si propone di identificare, attraverso studi computazionali, piccole molecole chimiche farmaco-simili in grado di inibire l'attività di RNF5, e di studiare i meccanismi molecolari implicati nel recupero di CFTR indotto dalla soppressione di RNF5, al fine di fornire le basi per lo sviluppo di nuove terapie per la fibrosi cistica.

Metodi essenziali. Attraverso un approccio di tipo computazionale, si genererà un modello della proteina RNF5 che sarà utilizzato per effettuare uno screening virtuale di milioni di molecole chimiche, al fine di identificare piccole molecole chimiche farmaco-simili in grado di inibire l'attività di RNF5, permettendo il recupero funzionale di CFTR.

Risultati preliminari. Su modelli cellulari la soppressione di RNF5 causa un recupero significativo del mutante F508del-CFTR che è additivo con l'effetto del composto VX-809, recentemente approvato per l'uso umano. Nei modelli animali, la soppressione di RNF5 determina un miglioramento del malassorbimento intestinale, come evidenziato da cambiamenti nel peso corporeo e dalla ridotta perdita di acidi biliari nelle feci, e in parallelo porta ad un aumento dell'attività di CFTR nell'epitelio intestinale. Questi dati, ottenuti *in vitro* su cellule ed *in vivo* su un modello animale, dimostrano chiaramente che RNF5 può costituire il bersaglio per lo sviluppo di nuove terapie farmacologiche per la fibrosi cistica.

Risultati attesi e loro significato. Questo studio ci consentirà di identificare trattamenti più efficaci e selettivi, mirati al ripristino della funzione della proteina mutata F508del (presente nel 50% dei pazienti in Italia).

9. Assessment and pharmacological correction of abnormalities in bicarbonate (HCO_3^-) and mucus transport in intestinal biopsies and organoids of CF patients

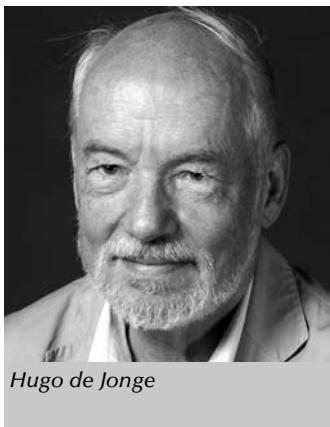
De Jonge HR¹, Calderer, S², Vercellone S², Sandri A², Sorio C², Rodella L⁴, Frulloni L⁵, Bernardoni L⁵, Buffelli M⁶, Assael B³, Melotti P³

¹Gastroenterology & Hepatology, Erasmus Univ. Medical Center, Rotterdam, NL; ² Medicine Dpt., Cystic Fibrosis Translational Research Lab Lissandrini, Univ, Verona, Italy;

³Cystic Fibrosis Center, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona, Italy; ⁴ Endoscopic Surgery Unit, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, Italy;

⁵Gastroenterology & Digestive Endoscopy, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, Italy;

⁶Neurological & Movement Sciences, Physiology Sect. Univ, Verona, Italy (FFC#3/2015, New)



Hugo de Jonge

Background. Most physiological assays used for CF diagnosis and as a biomarker in clinical trials of CFTR correctors and potentiators (NPD; ICM; FIS) measure CFTR-dependent anion transport but fail to discriminate between the chloride (Cl^-) and bicarbonate (HCO_3^-) component. Recent studies in CF animal models reveal that defective HCO_3^- rather than Cl^- transport is the primary cause of impaired mucociliary clearance in the airways and luminal obstruction in the GI tract. However, the role of HCO_3^- in human CF pathogenesis and the ability of CFTR modulators to improve HCO_3^- secretion in human CF epithelia have been poorly investigated and need further study.

Hypothesis and objectives. We hypothesize that CFTR correctors and potentiators capable of rescuing CFTR chloride transport may differ in their ability to restore CFTR-mediated/regulated HCO_3^- secretion, and that repair of HCO_3^- transport by the CFTR modulators is mutation-dependent. To verify this concept, we will study HCO_3^- secretion in rectal biopsies and organoids of healthy subjects (HCs), CF patients with residual CFTR function, and non-CF patients carrying CFTR functional variants associated with pancreatitis and rhinosinusitis. Moreover, we will assess the effect of CFTR modulators on intestinal HCO_3^- secretion in CF patients with severe and mild mutations.

Essential methods. CFTR-dependent HCO_3^- transport are studied electrically (I_{sc}) in human rectal biopsies mounted in Ussing chambers. In addition, biobanked human ileal and rectal organoids (HC and CF) are grown 3-dimensionally in Matrigel or 2-dimensionally on filters and HCO_3^- transport is measured by confocal imaging of forskolin-induced swelling (FIS; 3D) and by I_{sc} and pH-stat measurements in Ussing chambers (2D).

Preliminary results. FIS of ileal and rectal organoids (HCs) was strongly inhibited by CFTR inhibitors and in HCO_3^- -free medium, suggesting a crucial role of HCO_3^- in CFTR-dependent fluid transport. Ileal organoids grown as monolayers on

filters became fully polarized and capable of producing robust forskolin-induced anion currents.

Expected results and their significance. The set-up of a robust assay to measure CFTR-dependent bicarbonate secretion in human intestinal organoids of CF patients, and prognostic exploitation of this assay for the selection of the most effective corrector or potentiator of bicarbonate transport, as a new approach to precision medicine in CF.

Valutazione e correzione farmacologica delle anomalie nel trasporto di bicarbonato e di muco nelle biopsie intestinali e organoidi di pazienti con Fibrosi Cistica.

Ragioni dello studio. La maggior parte dei test funzionali utilizzati per la diagnosi di Fibrosi Cistica (FC) sono mirati alla misurazione del trasporto di anioni attraverso il canale CFTR ma non riescono a distinguere cloro e bicarbonato. Recenti studi rivelano che il difetto del trasporto di bicarbonato sia la prima causa di alterata rimozione del muco sul rivestimento bronchiale delle vie aeree o dell'ostruzione intestinale in soggetti FC. Tuttavia il ruolo del bicarbonato nel determinare la FC e la capacità dei modulatori di CFTR di migliorare la secrezione di bicarbonato in pazienti FC ha bisogno di approfondimenti.

Ipotesi e obiettivi. Ipotizziamo che nuovi farmaci, correttori e potenziatori di CFTR, possano ripristinare la secrezione di bicarbonato, e che tale ripristino dipenda dal tipo di mutazione. Per verificare ciò, studieremo la secrezione di bicarbonato in biopsie rettali ed in strutture da esse ottenibili, definite "organoidi", sia in soggetti non FC, in pazienti non-FC con pancreatiti e rino-sinusiti, in pazienti FC con funzione di CFTR residua, oltre che in soggetti FC con mutazioni di diverse classi di severità. In parallelo, studieremo l'attività di particolari proteine (WNK/SPAK) in grado di sostituire il trasporto di cloro con quello di bicarbonato.

Metodi. Il trasporto di bicarbonato dipendente da CFTR sarà studiato in biopsie rettali umane per valutare il passaggio di corrente e le variazioni di pH attraverso l'epitelio intestinale. Quindi lo studio del trasportatore di bicarbonato sarà eseguito sugli organoidi mediante test di rigonfiamento mediato da uno stimolo per il canale CFTR.

Risultati preliminari. Il rigonfiamento degli organoidi di soggetti sani indotto da uno stimolo è fortemente inibito sia dagli specifici inibitori di CFTR che dall'assenza di bicarbonato nel terreno di coltura, suggerendo il suo ruolo cruciale nel trasporto di fluidi dipendenti da CFTR. Studi simili in organoidi ottenuti da soggetti CF, sono attualmente in corso.

Risultati attesi e loro significato. Lo sviluppo di un saggio solido in grado di misurare gli scambi di bicarbonato dipendenti da CFTR in organoidi intestinali umani di pazienti CF ci consentirebbe di effettuare studi personalizzati in quanto ci permetterebbe di eseguire test per la selezione del correttore o potenziatore più efficace nel risolvere il difetto del trasportatore del bicarbonato, divenendo così nuovo approccio alla medicina personalizzata in FC.

10. Metabolic dysfunction in CF: implications for a drug discovery program

De Stefano D¹, Maiuri MC²

¹ European Institute for Cystic Fibrosis Research, San Raffaele Scientific Institute; ² INSERM U1138, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France (FFC#4/2015, New)

Background. We previously reported that defective CFTR function induces reactive oxygen species (ROS)-dependent and transglutaminase-2 (TGM2)-mediated sequestration of Beclin 1 (BECN1), leading to defective autophagy and in-



Daniela De Stefano, responsabile del progetto, e Maria Chiara Maiuri, partner di ricerca

creased lung inflammation. Proteostasis regulators (PRs) such as cystamine enable the beneficial action of CFTR potentiators on $\Delta F508$ mutant tissues well beyond drug washout through restoring BECN1 expression and autophagy, thereby reducing the abundance of SQSTM1/p62 (SQSTM1). Indeed, re-establishing and sustaining a functional CFTR at the PM of bronchial epithelial cells generates permissive conditions for misfolded $\Delta F508$ -CFTR to traffic to and reside at the PM of bronchial epithelial cells. Metabolomic profiling is a powerful technology, providing a relatively complete picture of metabolism in biological systems and has recently been applied to a wide variety of important biological problems. The approach allows the simultaneous identification and relative quantification of the major biochemicals in cells, tissue, and/or biofluids and can provide insight into alterations in global metabolism that result from genetic, environmental and diet/drug-induced perturbations.

Hypothesis and objectives. We aim to decipher which metabolites are influenced and possibly restored following treatment of CF cells, mice and samples from human CF patients with proteostasis regulators and antioxidant molecules/autophagy inducers.

Essential methods. We will analyse the metabolome profile of human CF cells compared to wild type cells as well as of blood and brushed human nasal epithelial cells from $\Delta F508$ homozygous CF patients compared to healthy subjects. Mouse studies will be performed in the presence of PRs and antioxidants molecules/autophagy inducers.

Preliminary results. We found that CF cells exhibit reduced glucose metabolism in glycolysis, pentose phosphate and sorbitol pathways, which may exacerbate oxidative stress.

Expected results and their significance. We expect to demonstrate by metabolomics that CF models exhibit strong differences compared to non-CF samples and PRs in combination with antioxidant molecules/autophagy inducers are capable of restoring metabolite normal levels. This could pave the way for the identification of new PRs as suitable candidate drugs to restore cellular homeostasis and ultimately dampen inflammation in CF. This study might provide a platform to define novel targets and candidate molecules for the treatment of CF patients.

Disfunzioni metaboliche in Fibrosi Cistica: implicazioni per la ricerca di farmaci

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è la patologia genetica (autosomica recessiva) più comune e letale nella popolazione caucasica. È dovuta a mutazioni nel gene per il CFTR ed è caratterizzata da ostruzione delle vie aeree che dipende dalla formazione di muco denso e ridotta clearance di particelle, tra cui batteri che, a loro volta, provocano infezione e infiammazione cronica, cause principali di morte. La delezione della fenilalanina in posizione 508 ($\Delta F508$) determina il deragliamento del processo di proteostasi attraverso la biosintesi di una protein misfolded che viene trattenuta

nell'ER, induce la sintesi di ROS, la SUMOylation della TG2 e attiva la TG2, inibendo il processo di autofagia. Ciò provoca un circolo vizioso che determina ulteriore infiammazione.

Ipotesi e obiettivi. È noto che i processi metabolici sono alterati in FC. Risultati preliminari indicano che il trattamento di cellule FC con regolatori di proteostasi e antiossidanti/induttori di autofagia contribuisce a ripristinare alcune alterazioni metaboliche in cellule epiteliali bronchiali umane FC. Pertanto, ipotizziamo che grazie all'analisi del profilo dei metaboliti delle cellule di FC saremo in grado di individuare vie biochimiche de-regolate e, quindi, nuovi potenziali bersagli terapeutici.

Metodi essenziali. Gli esperimenti saranno condotti su cellule, topi FC, campioni di sangue e cellule primarie epiteliali nasali umane provenienti da pazienti FC ($\Delta F508$ omozigoti) e volontari sani. Lo studio prevede una parte in vitro, una ex vivo ed una in vivo. L'unità del Coordinator ed il Partner 1 lavoreranno in sincronia su aspetti diversi, ed in base alle proprie competenze, sugli obiettivi proposti.

Risultati preliminari. Abbiamo evidenziato che in cellule FC il metabolismo del glucosio è ridotto, ciò che può incrementare lo stress ossidativo.

Risultati attesi e loro significato. Ci aspettiamo che l'analisi metabolomica in FC possa fornire nuove preziose informazioni circa le alterazioni biochimiche di cellule e tessuti FC. Se, come atteso, riusciremo ad individuare i pathways metabolic alterate, questo studio ci permetterà di approfondire i meccanismi molecolari attraverso i quali i regolatori di proteostasi e gli antiossidanti/induttori di autofagia inducono effetti benefici in tale patologia. Inoltre, l'identificazione di nuovi (e probabilmente inaspettati) bersagli molecolari e cellulari permetterà di ipotizzare nuove strategie terapeutiche.

11. The plant cytokine kinetin and its analogues as potential therapeutic agents to correct CFTR splicing defects

Duga S¹, Costantino L², Orrenius C³

¹ Humanitas University, Rozzano (MI); ² UOS Laboratorio di Genetica Medica, UOC Laboratorio Centrale, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano; ³ Computational Sciences, Chemical Core Technologies Department, Nerviano Medical Sciences Srl, Nerviano (MI) (FFC#5/2015, New)



Stefano Duga con le sue collaboratrici

Background. About 13% of CF mutations are classified as "splicing defects". Besides these severe mutations, other variations are known to modulate the correct CFTR splicing, the most important being the polymorphic TG(9-13)T(5,7,9) locus, which influences exon 10 inclusion and has been associated with monosymptomatic forms of CF.

Recent advances in CF treatment have demonstrated the

efficacy of drugs targeting specific classes of molecular defects, such as potentiators (Ivacaftor, already FDA approved and suitable for about 4% of patients) and correctors (Vx-661 and Vx-809 for F508del), opening a new era of personalized treatment. However, no such therapies are available for patients carrying splicing mutations.

Hypothesis & objectives. Among the strategies recently developed to rescue/increase normal splicing, the plant cytokinin kinetin was shown to correct RNA aberrant splicing in familial dysautonomia and neurofibromatosis.

We propose to investigate the therapeutic potential of kinetin to treat CF caused by splicing defects and to perform a search of other molecules similar to kinetin to be used as novel therapeutics.

In particular the main objectives are:

1. confirm that kinetin can rescue/increase normal CFTR splicing in different epithelial cell lines;
2. verify that kinetin can rescue splicing defects in patient-derived cells;
3. identify novel small molecules acting on CFTR splicing.

Essential methods. We will first confirm the effect of kinetin on exon 10 inclusion in different epithelial cell lines and in patient-derived cells (primary bronchial epithelial cells, cultured epithelial cells from nasal brushing). We also plan to identify in-silico novel small molecules acting on splicing by virtual high-throughput screening and experimentally validate lead compounds by cell-based screening using fluorescent reporter vectors.

Preliminary results. We tested the effect of kinetin on CFTR splicing in Caco-2 cells, which express high level of CFTR transcript and present a significant amount of exon 10 skipping (genotype: TG10T7/TG11T7). By competitive fluorescent RT-PCR and digital RT-PCR we demonstrated that different concentrations of kinetin determine a dose-response rescue of wt CFTR splicing.

Expected results and their significance. We expect to demonstrate that kinetin or its analogues can be used to increase CFTR function by correcting splicing defects, laying the foundations for future clinical trials. This is fully relevant to the CF Foundation mission.

La citochina vegetale kinetina e suoi analoghi come potenziali composti terapeutici per la correzione dei difetti di splicing del gene CFTR.

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è causata da mutazioni nel gene per un canale di membrana del cloro (CFTR). Circa il 13% delle mutazioni in pazienti FC sono difetti di splicing, ovvero il processo responsabile della maturazione delle molecole (mRNA) che portano l'informazione per la sintesi delle proteine. Oltre a queste mutazioni gravi, altre varianti modulano lo splicing di CFTR, tra cui la più importante è una regione contenente diverse ripetizioni dei nucleotidi TG e T [polimorfismo TG(9-13)T(5,7,9)]. Questa variante influenza l'inclusione di una regione del mRNA (esone 10) ed è stata associata a forme monosintomatiche di FC.

Ipotesi e obiettivi. Recenti progressi nel trattamento della FC hanno dimostrato l'efficacia di farmaci mutazione-specifici, tra i quali potenziatori (Ivacaftor) e correttori (Vx-661 e Vx-809). Questo tipo di terapia non è attualmente disponibile per pazienti con mutazioni di splicing. L'ormone vegetale kinetina è stato utilizzato con successo per correggere lo splicing in 2 malattie genetiche gravi (disautonomia familiare e neurofibromatosi). In questo progetto, ci proponiamo di studiare il potenziale terapeutico della kinetina nel trattamento della FC causata da difetti di splicing e di identificare altre molecole, simili alla kinetina, da utilizzare come farmaci.

Metodi essenziali. Inizieremo col verificare la capacità della kinetina di correggere lo splicing di CFTR in vari modelli cellulari, e successivamente in linee cellulari derivate da

pazienti. In parallelo, cercheremo nuove molecole, simili alla kinetina, attraverso un'analisi computerizzata di una libreria virtuale che raccoglie le strutture chimiche di migliaia di composti. Infine, i migliori candidati saranno testati in un sistema cellulare per verificarne la capacità di correggere lo splicing.

Risultati preliminari. Abbiamo testato l'effetto della kinetina sullo splicing di CFTR nelle cellule Caco-2, una linea cellulare che esprime alti livelli di CFTR e presenta un alterato splicing dell'esone 10 e abbiamo dimostrato che la kinetina determina un incremento del trascritto corretto di CFTR.

Risultati attesi e loro significato. La nostra ricerca porterà a dimostrare l'efficacia della kinetina nel correggere specifici difetti di splicing in gruppi di pazienti selezionati. Inoltre, speriamo di identificare nuovi e migliori farmaci correttori dello splicing potenzialmente applicabili alla FC. I nostri dati pre-clinici possono porre le basi per futuri trial clinici.

12. Evaluation of the biological and therapeutic properties of Mesoangioblasts-vessel associated progenitor cells- in the cell based therapy of cystic fibrosis

Vezzali C¹, Bonfanti C¹, Antonini A¹, Barone C², de Stefano D³, Villella V³, Egan M², Maiuri L³, Bruscia E², Messina G¹

¹ University of Milan, Dept. of BioSciences, Milan, Italy,

² Yale University, School of Medicine, New Haven (CT), USA,

³ Ospedale San Raffaele, Milan, Italy (FFC#6/2015, New)



Graziella Messina, seconda da sinistra, e il suo gruppo di ricerca

Background. Cystic Fibrosis (CF) is caused by mutations in the CFTR gene. Lung disease, characterized by airway obstruction, inflammation and chronic bacterial infection, is the leading cause of death. At variance with some pharmacological approaches, no one efficacious gene and cell-based therapy have been proved to date.

Hypothesis and objectives. This study aims to develop a cell therapy based on transplantation of mouse mesoangioblasts (mMABs) in mouse models of CF. MABs are small vessels-associated progenitor cells that we have isolated and characterized from embryonic and adult tissues including mouse, dog, and human. MABs proliferate in culture, cross the vessel wall upon intra-arterial injection and differentiate in different mesodermal cell types.

Essential Methods. The project will develop by testing the morphological, inflammatory and functional rescue of CF mice, following multiple mMAB injections, to increase the engraftment and keep it lasting overtime. Rescue of functional CFTR, together with a reduction of the hyper-inflammatory response and rescue of the different signs of the disease will be evaluated. Moreover, mMAB capability to differentiate in different epithelial cells and/or to participate to the epithelial stem cell niche and the mechanisms driving mMAB towards an epithelial fate will be also studied.

Preliminary results. Our preliminary results show that mABs engraft lung, tracheal and intestinal epithelium for up to 2 months in healthy mice. In F508del CFTR mice this engraftment persists after 6 months from a single mMAB injection. As additional evidence supporting the use of mMABs in CF, we observed that they express, *in vitro*, functional CFTR channel. Moreover, mMABs can also engraft nasal epithelium of KOCftrtm1UNC mice, restoring some CFTR-dependent chloride secretion and express the typical epithelial marker E-cadherin, once engrafted in the epithelia of transplanted mice.

Expected results and their significance. We expect to demonstrate mMAB competence to colonize and rescue the airway epithelium in CF mice in terms of expression of functional CFTR; more importantly, we expect a phenotypic and functional amelioration after mMAB transplantation. In the end, we suppose that mMABs might be recruited by the epithelia and contribute to their homeostasis, so mMABs would be promising for the development of an efficacious cell therapy for the cure of CF.

Studio delle proprietà biologiche e terapeutiche dei Mesoangioblasti, progenitori cellulari associati ai vasi, in una terapia cellulare per la cura della Fibrosi Cistica

Ragioni dello studio. La Fibrosi Cistica (FC) è causata da mutazioni nel gene CFTR. Principale causa di morte è una patologia polmonare con ostruzione delle vie aeree, infiammazione e infezione batterica cronica. A differenza degli apprecci farmacologici, ad oggi non sono ancora state dimostrate efficaci terapie geniche e cellulari.

Ipotesi e obiettivi. Questo studio ambisce a sviluppare una terapia cellulare basata sul trapianto di mesoangioblasti murini (mMAB) in topi affetti da FC. I MAB sono progenitori cellulari associati ai vasi che proliferano in coltura, attraversano la parete dei vasi e differenziano in diversi tessuti di origine mesodermica.

Metodi essenziali. Questo progetto valuterà il recupero morfologico, infiammatorio e funzionale di topi affetti da FC in seguito a trapianti ripetuti di mMAB, per aumentare la permanenza delle cellule in termini quantitativi e temporali. Saranno valutati il recupero funzionale del canale CFTR, la riduzione della risposta iper-infiammatoria e infine il miglioramento della patologia. Inoltre, verrà studiata la capacità dei mMAB di differenziare in diverse cellule epiteliali e/o di partecipare alle nicchie staminali degli epiteli e infine i meccanismi che li indirizzano ad acquisire tale differenziamento.

Risultati preliminari. Abbiamo osservato che, in seguito a trapianto, i mMAB si localizzano nell'epitelio di polmoni, trachea e intestino di topi sani fino a 2 mesi dalla loro iniezione. Nel modello murino di FC, F508del CFTR, la presenza dei mMAB persiste anche dopo 6 mesi in seguito ad una singola somministrazione. Come ulteriore evidenza a supporto dell'utilizzo dei mMAB, è stato osservato che esprimono, *in vitro*, la forma funzionale del canale CFTR. In aggiunta, è stato osservato che i mMAB permangono nell'epitelio nasale di topi FC, KOCftrtm1UNC, ripristinando parzialmente l'attività del canale CFTR, e che esprimono il tipico marcatore epiteliale E-caderina, una volta localizzati negli epiteli dei topi trapiantati.

Risultati attesi e loro significato. I risultati attesi consistono nel dimostrare la capacità dei mMAB di raggiungere e localizzarsi negli epiteli dei topi affetti da FC, inducendo l'espressione funzionale del canale CFTR. Inoltre è atteso un miglioramento fenotipico e funzionale in seguito al loro trapianto. In conclusione, supponiamo che i mMAB possano essere reclutati dall'epitelio e contribuirne all'omeostasi, in questo modo rappresenterebbero una popolazione cellulare promettente per lo sviluppo di un'efficace terapia cellulare per curare la FC.

13. Novel aminoarylthiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in cystic fibrosis: computer assisted drug design, synthesis and biological evaluation

Liessi N¹, Cichero E², Pesce E³, D'Ursi P⁴, Salis A¹, Pedemonte N³, Damonte G^{1,5}, Galletta LJV³, Fossa P², Millo E^{1,5}

¹ Center of Excellence for Biomedical Research (CEBR), University of Genoa, Genoa, Italy; ² Department of Pharmacy, Section of Medicinal Chemistry, University of Genoa, Genoa, Italy; ³ Istituto Giannina Gaslini, Genoa, Italy; ⁴ Institute for Biomedical Technologies e National Research Council (ITB-CNR), Segrate (MI), Italy; ⁵ Department of Experimental Medicine, Section of Biochemistry, University of Genoa, Genoa, Italy (FFC#7/2015, New)



Background. CF is caused by mutations that abolish the function of CFTR, a protein that is needed to transport chloride and bicarbonate across cell membrane in the epithelial cells. The most frequent mutation, F508del requires a specific pharmacological treatment. Such defects can be addressed with small molecules, known as correctors and potentiators. In previous studies, we identified a class of compounds called aminoarylthiazoles (AATs) that potentially correct the CF basic defect.

Hypothesis and objectives. The main objective of our project is to identify new AATs which could be efficiently able to correct the CFTR protein defect caused by F508del. By using an integrated approach (bioinformatics, chemical synthesis, and functional assays) we will aim at developing drug-like compounds with improved activity on mutant CFTR.

Essential methods. Starting from the core structure of correctors and potentiators we will test panels of chemical analogs to find compounds with improved efficacy and potency. Design of novel molecules will be also supported by *in silico* screening and molecular docking to putative NBD1 most probable binding sites. Docking studies will be focused on the most relevant protein pockets disclosed by molecular dynamic simulations. This approach is expected to highlight any key feature involved in AATs binding mode. Using functional assays we will test the ability of novel AATs to recover the expression and activity of mutant CFTR.

Preliminary results. In the other hand, our previous data on AATs have revealed the possibility to develop dual acting compounds and pure potentiators. We have recently found a compound (FCC) with improved activity on F508del-CFTR. This lead compound, by further chemical modification, could generate a new drug candidate to treat F508del patients. In addition the evaluation of all AATs tested has revealed the existence of a good potentiator like EN371B. We will test chemical analogs of the most promising compounds of each chemical class.

Expected results and their significance. Our findings re-

veal the possibility to generate libraries of molecules particularly suited for the potentiation of F508del-CFTR. The final goal of our project is the identification of small molecules able to restore chloride secretion by rescuing mutant CFTR. Identification of candidate drugs for the correction of the basic defect in CF is of high relevance to develop treatments able to revert or arrest the progression of the disease.

Nuovi amminoariltiazoli per la correzione del difetto di base nella fibrosi cistica: design, sintesi e valutazione biologica

Ragioni dello studio. La FC è causata da mutazioni che colpiscono CFTR, una proteina che è necessaria per il trasporto di cloruro e bicarbonato attraverso le membrane delle cellule. La mutazione FC più frequente, F508del richiede un trattamento farmacologico con composti noti come correttori e potenziatori. Il difetto principale causato da F508del è costituito da un'instabilità della proteina CFTR che viene quindi degradata velocemente all'interno delle cellule. Il nostro obiettivo è l'identificazione di correttori farmacologici di F508del - CFTR.

Ipotesi e obiettivo. Il nostro progetto si propone di identificare nuovi composti chimici, appartenenti alla famiglia degli aminoariltiazoli (AAT), che hanno la capacità di correggere specificamente il difetto di maturazione della proteina CFTR causato da F508del, la mutazione più frequente tra i pazienti FC. Utilizzando diversi approcci (bioinformatica, sintesi chimica, saggi funzionali e biochimici) mireremo allo sviluppo di nuove molecole con miglior efficacia sulla funzione della proteina CFTR mutata.

Metodi essenziali. Saranno sintetizzate nuove molecole appartenenti alla famiglia degli AAT anche sulla base d'informazioni strutturali derivanti dal loro possibile sito di legame sulla proteina CFTR. Utilizzando saggi funzionali si valuterà la capacità dei nuovi AAT di recuperare l'espressione e l'attività di CFTR mutata.

Risultati preliminari. Precedenti dati sugli AAT hanno rivelato la possibilità di sviluppare composti correttori e/o potenziatori. Recentemente, è stato sintetizzato un composto (FCG) con una buona attività sul F508del-CFTR. Questo composto attraverso ulteriori modificazioni chimiche, potrebbe generare un nuovo farmaco per il trattamento di pazienti F508del. Inoltre, la valutazione di tutti gli AAT testati ha rivelato l'esistenza anche di un buon potenziatore (EN371B). Proveremo a sintetizzare analoghi chimici dei composti più promettenti di ciascuna classe chimica per ottenere derivati più promettenti.

Risultati attesi e loro significato. I nostri risultati rivelano la possibilità di generare librerie di molecole particolarmente adatte per il trattamento di F508del-CFTR. L'obiettivo finale del nostro progetto è l'identificazione di piccole molecole in grado di ripristinare la secrezione di cloro salvando CFTR mutata. L'identificazione di farmaci candidati per la correzione del difetto di base in CF è di grande rilevanza per sviluppare trattamenti in grado di ripristinare o arrestare la progressione della malattia.

14. Dissecting the role of TG2 in cystic fibrosis pathogenesis: identification of possible novel therapeutic targets

Piacentini M¹, Rossin F¹, D'Eletto M¹, Farrace MG¹, Maiuri L²

¹ Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy; ² European Institute for Research in Cystic Fibrosis, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy (FFC#8/2015, New)



Mauro Piacentini con collaboratrici

Background. Transglutaminase 2 (TG2), the most ubiquitous member of the TG family, plays a crucial role in Cystic Fibrosis (CF) pathogenesis. TG2 is a multifunctional enzyme involved in a variety of cellular processes such as cell death, autophagy and inflammation. Under stressful conditions, the increased cytosolic Ca²⁺ acts as a switch activating the TG2 transamidating activity which catalyzes the formation of covalent bonds between proteins. Of note, TG2 is constitutively up-regulated in CF airways and drives chronic inflammation. This induction of TG2 crosslinking activity leads to the sequestration of proteins in aggresomes, followed by their clearance by autophagy. Autophagy is a cytoprotective mechanism for the degradation of misfolded proteins and damaged organelles and it also contributes to the control of microbial infections. In keeping with this, it has recently been shown that CF is characterized by defective autophagy and impaired clearance of aggresomes.

Objectives. Considering the involvement of TG2 in CF pathogenesis as well as in the autophagic process, the aims of this project are to: 1) characterize the TG2 interactome in the double transgenic mouse as well as in cellular models searching for targets for CF therapy; 2) characterize whether and how ΔF508 CFTR interacts with TG2 binding substrates; 3) unravel whether ΔF508 CFTR/TG2 interaction could influence trafficking and ubiquitination/degradation of CFTR; 4) study the impact on autophagy and mitochondrial homeostasis in CF.

Preliminary results. We identified multi-protein complexes interacting with TG2 protein under normal and autophagic conditions by using a proteomic approach, revealing that many of TG2 interacting proteins, such as the chaperones, might also target the ΔF508 CFTR. Moreover, we developed a new experimental CF mouse model, defective for TG2 and expressing GFP-LC3, which is widely used as an in vivo marker for autophagic vesicles. To obtain TG2-/ mice expressing GFP-LC3 and ΔF508 CFTR, C57Bl/6 TG2-/ GFP-LC3 transgenic mice were crossed with 129/FVB CftrF508del transgenic ones.

Expected results and their significance. This study will allow us to dissect the role of TG2 in the trafficking/degradation of mutated CFTR and the associated molecular mechanisms. It might provide a platform to define novel approaches for the treatment of CF patients by identifying protective agents that are able to modulate TG2 activity as well as strategies to restore the autophagic process.

Studiare il ruolo della TG2 nella patogenesi della fibrosi cistica: identificazione di possibili bersagli terapeutici innovativi

Ragioni dello studio. L'enzima Transglutaminasi 2 è un enzima multifunzionale coinvolto in numerosi processi cellulari, tra cui morte, autofagia ed infiammazione. La TG2 è costitutivamente iper-attivata nelle vie aeree di pazienti con fibrosi cistica (FC), laddove la sua attivazione determina infiammazione cronica. L'attività della TG2 determina il sequestro di diverse proteine in aggregati proteici, i quali sono

poi rimossi mediante l'attivazione del processo di autofagia. L'autofagia è un meccanismo citoprotettivo, necessario alla degradazione di proteine ripiegate in modo scorretto o di organelli cellulari danneggiati. Inoltre, il processo autofagico contribuisce ad eliminare le infezioni batteriche. È stato dimostrato che cellule e tessuti di FC sono caratterizzati da un difetto di autofagia, ciò favorisce l'accumulo di proteine maturate in modo scorretto, come la proteina CFTR mutata.

Obiettivi. Pertanto, intendiamo studiare i meccanismi attraverso i quali la TG2 regola il traffico della proteina CFTR e come questo sia correlato alla modulazione del processo autofagico. Gli obiettivi di questo progetto sono: 1) caratterizzare le proteine che interagiscono con la TG2 con lo scopo di trovare bersagli terapeutici per curare la FC; 2) caratterizzare se e come il CFTR mutato interagisce con i substrati della TG2; 3) svelare se l'interazione fra il CFTR mutato e la TG2 potrebbe influenzare la degradazione della proteina CFTR; 4) studiare l'impatto sull'autofagia.

Risultati preliminari. A questo scopo, abbiamo identificato i complessi multi-proteici che interagiscono con la proteina TG2 in condizioni normali e dopo autofagia, rivelando che molte proteine che interagiscono con la TG2 potrebbero farlo con il CFTR mutato. Abbiamo inoltre generato un modello murino ad hoc che abbia al contempo caratteristiche genetiche di FC e sia difettivo dell'espressione della TG2.

Risultati attesi e loro significato. I topi ottenuti e le linee cellulari con le stesse caratteristiche genetiche, saranno analizzati per comprendere in dettaglio i meccanismi molecolari alla base degli effetti patogenetici determinati dall'enzima TG2 nella FC. Questo studio potrebbe definire nuovi approcci per il trattamento di pazienti con FC identificando agenti protettivi che sono in grado di modulare l'attività della TG2.

15. Identification of molecular targets to reduce the side effect of gating potentiators on the F508del-CFTR plasma membrane stability

Tamanini A¹, Aureli M²

¹ Lab. Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi, Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona; ² Dep. Of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milano (FFC#9/2015, New)



Anna Tamanini, al centro, assieme al gruppo di ricerca (foto sinistra) e Massimo Aureli dell'unità Partner (foto destra)

Background. Cystic Fibrosis (CF) is a life-threatening disease, although therapies have augmented the life span of CF individuals. The most common CF-causing mutation is the F508del. It produces a protein that does not mature normally and does not traffic to the plasma membrane. Many pharmaceutical agents have been designed to induce the export of F508delCFTR from the ER and to increase cell-surface levels

of the protein. Even after rescue to the plasma membrane, F508delCFTR demonstrates defects in gating and residence time, thus a corrector – potentiator combination therapy to rescue F508delCFTR and increase protein function is presently recommended. Recently, two independent research groups demonstrated that long-term effects of some potentiators reduce the plasma membrane stability of corrected F508del CFTR protein.

Hypothesis and objectives. It has been demonstrated that CFTR plasma membrane stability is achieved through the formation of the multiprotein complex involving the modulation of phosphorylation of NHERF1 and ezrin. Interestingly, many data provided by the literature show that the phosphorylation state of ezrin is, in turn, regulated by plasma membrane ceramide levels. Therefore, our hypothesis is that some potentiators could alter the SL reorganization and modify the related scaffolding proteins. The aim of the present project is to identify SL modulators effective to reduce the negative effect of gating potentiators on the CFTR function.

Essential methods. The present study will be conducted by using CF respiratory airway cells. The effect of CFTR gating potentiators will be tested in terms of: i) the phosphorylation state of NHERF1 and ezrin; ii) SL pattern; iii) the activity/ expression of enzymes involved in both SL synthesis and catabolism. Moreover, the effect of SL modulators on functional CFTR expression will be studied upon treatment of the CF cells with CFTR potentiators.

Preliminary results. In the preliminary results we have observed that the potentiator VX-770 induces a reduction of both ezrin phosphorylation and a reorganization of membrane lipids in CF cells, suggesting a possible involvement of sphingolipids (SL) on CFTR plasma membrane stability.

Expected results and their significance. The main goal of this research project is to contribute to understand the molecular mechanisms underlying the negative effect of some potentiators on CFTR rescued on the plasma membrane. This study could allow the development of novel therapeutic strategies to restore the functional expression of CFTR in CF patients by using SL modulators.

Identificazione di bersagli molecolari per ridurre l'effetto collaterale dei potenziatori sulla stabilità in membrana della F508delCFTR

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è caratterizzata da un'esagerata infezione/infiammazione delle vie aeree, responsabile del progressivo declino della funzione respiratoria in questi pazienti. La mutazione più comune è la F508del che codifica per una proteina che non matura normalmente e non è in grado di raggiungere la membrana plasmatica. Sono state prodotte numerose molecole per portare la proteina mutata sulla membrana. Questa mutazione non produce solo un'alterazione di traffico, ma anche di funzione, quindi per correggere efficacemente il difetto è necessario l'uso combinato di correttori e potenziatori. Recentemente, è stato dimostrato che alcuni potenziatori, fra cui il VX-770, riducono l'espressione della proteina mutata riportata in membrana. Perciò, è di estrema importanza capire i meccanismi molecolari che portano a questo effetto negativo.

Ipotesi e obiettivo. È noto che la stabilità in membrana della CFTR è promossa dalla formazione di complessi multi-proteici che coinvolgono le proteine adattatrici, NHERF1 ed ezrin. Dati in letteratura mostrano che lo stato di fosforilazione di ezrin è regolato dal contenuto di sfingolipidi (SLs) della membrana plasmatica. Pertanto, la nostra ipotesi è che alcuni potenziatori potrebbero alterare la riorganizzazione degli SLs e dei complessi multiproteici. Lo scopo principale del presente progetto è di identificare modulatori degli SLs efficaci nel ridurre l'effetto negativo dei potenziatori sulla funzione della CFTR.

Metodi essenziali. Il progetto sarà sviluppato usando cellule FC. L'effetto dei potenziatori sarà così studiato: i) analizzando lo stato di fosforilazione di NHERF1 e ezrin; ii) identificando il pattern SL; iii) determinando i livelli di espressione ed attività dei principali enzimi coinvolti nel metabolismo degli SL. Infine, sarà valutato l'effetto di modulatori del metabolismo SL sulla funzione della proteina CFTR dopo trattamento con potenziatori.

Risultati preliminari. I risultati preliminari mostrano che VX-770 riduce la fosforilazione di ezrin e induce una riorganizzazione dei lipidi di membrana in cellule FC, suggerendo un possibile coinvolgimento degli SLs nel mantenimento della stabilità della CFTR in membrana.

Risultati attesi e loro significato. Questo progetto intende contribuire alla comprensione dei meccanismi molecolari alla base dell'effetto negativo di alcuni potenziatori sulla CFTR corretta ed utilizzati in trial clinici nei pazienti affetti. I risultati potrebbero permettere lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche per ristabilire la corretta espressione e funzione della CFTR nei pazienti FC mediante l'uso di modulatori degli SLs.

16. Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental approaches for the read-through of PTCs in CF cells

Lentini L¹, Pibiri I¹, Melfi R¹, Tutone M¹, Pace A¹, Barone G¹, Di Leonardo A¹

¹Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies (STEBICEF), University of Palermo (FFC#1/2014, In progress).

See Plenary session 3, abstract n. 41

17. A systems biology approach to the correction of cystic fibrosis: from building a network of proteostasis regulatory pathways to combinatorial targeting

Hegde RN^{1,2}, Parashuraman S^{1,2}, Iorio F², Ciciriello F^{2,3,4}, Capuani F², Carissimo A², Carrella D², Belcastro V², Subramanian A¹, Bounti L¹, Persico M², Carlile G³, Galietta LJV⁵, Thomas DY³, Di Bernardo D^{2,6}, Luini A^{1,2}

¹Institute of Protein Biochemistry, National Research Council, Napoli, Italy; ²Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli (NA); ³Biochemistry Department, McIntyre Medical Sciences Building, McGill University, Montréal, Québec, Canada; ⁴Department of Biology and

Biotechnology Charles Darwin, BBCD, Sapienza, Rome, Italy; ⁵U.O.C. Genetica Medica, Institute of Giannina Gaslini, Genova, Italy; ⁶Dept. of Electrical Engineering and Information Technology, University of Naples "Federico II", Napoli, Italy. (FFC#2/2014, In progress).

See Plenary Session 3, abstract n. 43

18. The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR): correctors sites

Moran O¹, Satriano L¹, Baroni D¹, Zegarra-Moran O², Ford RC³, NL Pollock³

¹Istituto di Biofisica, CNR, Genova; ²Unità Operativa di Genetica Medica, Istituto G. Gaslini, Genova; ³Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester, UK (FFC#4/2014, In progress).

See Plenary Session 2, abstract n. 39

19. An RNA based approach based on ExS-peU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells

Pagani F

Human Molecular Genetics, International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Trieste, Italy (FFC#5/2014, In progress).

See Plenary Session 3, abstract n. 42

20. A kinase-directed approach to rescue functionality of F508del CFTR

Venerando A¹, Villella VR², Cozza G¹, Esposito S², Maiuri L², Pinna LA¹

¹Department of Biomedical Sciences, University of Padova, Italy; ²European Institute for Research in Cystic Fibrosis (IERFC), Milan, Italy (FFC#7/2014, In progress).

See Plenary Session 3, abstract n. 44

21. Task Force for Cystic Fibrosis

Galietta LJV¹, Bandiera T²

¹Istituto Giannina Gaslini - U.O.C. Genetica Medica;

²Istituto italiano di tecnologia (FFC TFCF/2014, In progress).

See Plenary Session 2, abstract n. 40

2. Inflammation

22. A CF, IL-8 transgenic mouse model for the in vivo, long-term monitoring of the anti-inflammatory role of metallo-protease inhibitors and antibiotics with mechanisms of action similar to that of azithromycin

Lleò MM

Department of Pathology and Diagnostics, Section of Microbiology, University of Verona (FFC#10/2015, Extension)

Background. The possibility of monitoring the inflammatory response in a IL-8 transgenic WT and CF non invasive animal model has been demonstrated in this project. Experimental support has been provided for the proposal that azithromycin (AZM) acts by inhibiting the synthesis of bacterial metalloproteases (MPs) thus causing a mitigation of the lung inflammation. The possibility of further take advantage of the CF mouse model to analyze the possible anti-inflammatory activity of other antibiotics with mechanism of action similar to that of AZM and that of inhibitors of



Maria Lleò

human metallo-proteases appears of high interest.

Hypothesis and objectives. The objectives of this new part of the project are: i) to use the IL-8 transgenic CF mouse model to monitoring the expected significant reduction of the pro-inflammatory response induced by *Pseudomonas* MPs by using protease inhibitors such as Galardin and other approved drugs for human use, namely Marimastat and the antibiotic Doxycycline and ii) to analyze the possible anti-inflammatory activity of other antibiotics with mechanism of action similar to that of AZM and used in CF such as claritromycin (CLAR) and tobramycin (TOB).

Essential methods. To this end, our main action will be 1) to perform preliminary tests to evaluate the activity of inhibitors of human proteases (Galardin, Marimastat, doxycycline) on bacterial metallo-proteases and to calculate sub-lethal doses of tobramycin and claritromycin to treat *P. aeruginosa*; 2) to prepare culture supernatants from *Pseudomonas* grown with and without the selected drugs and 3) to instillate the prepared Sns in WT and CF transgenic mice and monitoring the inflammatory response by measuring BIL in mouse lungs.

Expected results and their significance. 1) Further knowledge on the mechanism of action of a number of drugs and on the role of bacterial products in the inflammatory response in CF: antibiotic treatment personalized for the specific patients, design of new therapeutic molecules against targeted bacterial products; 2) The transgenized IL-8, CF mouse model will be further validated. This might reveals an interesting tool to the monitoring of the inflammatory process in CF induced by infective and non-infective causes and to test in vivo the antibacterial/anti-inflammatory effect of candidate molecules to be used in cystic fibrosis.

Sviluppo di un modello di topo con fibrosi cistica, transgenico per IL-8, per il monitoraggio in vivo della possibile attività anti-infiammatoria di molecole inibitorie delle metalloproteasi umane e di antibiotici con meccanismo di azione simile a quello della azitromicina.

Ragioni dello studio. La possibilità di monitorare la risposta infiammatoria in un modello in vivo di topo WT e FC, transgenici per IL-8 è stata dimostrata nello studio corrispondente al progetto #18/2013. È stato anche fornito supporto esperimentale a favore della ipotesi che la AZM agisca inibendo la sintesi di metalloproteasi batteriche e quindi mitigando l'infiammazione polmonare. Viene proposto un ulteriore e interessante impiego del modello CF murino per analizzare la possibile attività anti-infiammatoria di molecole inibitorie delle proteasi umane e di antibiotici con meccanismo di azione simile a quello della azitromicina

Ipotesi e obiettivi. i) utilizzare il modello murino FC per monitorare in vivo l'attesa riduzione della risposta infiammatoria indotta da MPs di Pa utilizzando inibitori delle MP umane quali Galardin e altri farmaci per uso umano quali

Marimastat e l'antibiotico dossiciclina e ii) analizzare la possibile attività anti-infiammatoria di antibiotici con meccanismo d'azione simile a quello della azitromicina e utilizzati in FC come claritromicina e tobramicina in quanto possibili modulatori della sintesi di fattori di virulenza di *Pseudomonas*.

Metodi essenziali. A tale scopo ci proponiamo di condurre saggi preparatori per valutare l'attività degli inibitori delle proteasi umane su metallo-proteasi batteriche e per calcolare dosi sub-letali di tobramicina e claritromicina su *P. aeruginosa*. Inoltre, saranno preparati surnatanti culturali di Pa coltivata in presenza o assenza degli antibiotici da saggiare e verranno aggiunti ai surnatanti coltivati normalmente l'inibitore delle proteasi da saggiare. Si prevede inoltre di iniettare i surnatanti nei topi WT e FC e monitorare in vivo la risposta infiammatoria misurando la bioluminescenza nel polmone murino e di valutare l'effetto dei vari farmaci come possibili agenti anti-infiammatori

Risultati attesi e loro significato. 1) validare ulteriormente il modello nuovo di topo con FC. Esso si potrebbe rivelare uno strumento interessante per monitorare il processo infiammatorio in FC da cause infettive e non infettive e per saggiare in vivo l'effetto antibatterico/antiinfiammatorio di molecole candidate al trattamento delle infezioni in FC e 2) capire meglio il meccanismo di azione di alcuni farmaci e del ruolo di prodotti batterici nella risposta infiammatoria in FC.

23. A systematic investigation of miglustat-derivative iminosugar clusters as possible anti-inflammatory agents for Cystic Fibrosis lung disease

Dechechchi MC¹, Aureli M²

¹ Lab. Patologia Molecolare, Laboratorio Analisi AOUI, Verona; ² Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università di Milano, Milano (FFC#22/2015, New)



Maria Cristina Dechechchi prima a destra (foto sinistra), e Massimo Aureli dell'unità Partner (foto destra)

Background. A great deal of hope has followed the recent FDA approval of Kalydeco for the treatment of CF patients with a specific mutation (G551D). However adjuvant therapies, such as anti-inflammatory treatments that abate the decline in pulmonary function in other patients, are still needed. Because altered ceramide levels are involved in CF lung disease, targeting different pathways in sphingolipid (SL) metabolism, with the final goal to reduce ceramide, represents a therapeutic tool for limiting the excessive lung inflammation in CF patients. In this regard several inhibitors have been proposed. Thanks to FFC fundings, our interest was addressed to the iminosugar marketed drug miglustat (Zavesca) that produces an anti-inflammatory effect in CF bronchial cells, by targeting beta-glucosidase 2 (GBA2). Iminosugars offer many advantages as potential drug candidates, due to the good oral bioavailability and very specific immune modulatory and chaperoning activity.

Hypothesis and objectives. In order to better exploit the benefits of this type of molecules, a pressing challenge is to identify similar chemical compounds, able to inhibit GBA2 activity and reduce the inflammatory response to *P. aeruginosa* at a very low dosage and without adverse effects. This project is aimed to analyze miglustat-derivative iminosugars as anti-inflammatory drugs for CF lung-disease.

Essential methods. Thanks to the synergy between distinct albeit overlapping chemical and biochemical expertise, the study will be focused on multivalent iminosugars, having mainly N-alkyl derivatives of deoxynojirimycin (DNJ) as the peripheral ligands, on L-iminosugars, deriving from miglustat and its N-alkyl derivatives, and on racemic iminosugars, composed by bioactive D-iminosugars including miglustat and the corresponding L-enantiomers. These compounds will be tested in CF bronchial cells at the levels of inflammatory response to *P. aeruginosa* and SL metabolizing enzymes in different sub-cellular compartments. In addition, the effects on SL metabolism will be investigated. In order to check the potential cytotoxic and apoptotic effects, different cellular assays will be performed, in parallel. The most promising derivatives will be then validated in CF primary human airway cells and in murine models of lung inflammation, *in vivo*.

Preliminary results. Our preliminary results show the anti-inflammatory activity of different mono and multivalent iminosugars, DNJ-derivatives and their effects on GBA2.

Expected results and their significance. To improve the therapeutic potential of iminosugars by identifying novel and more potent miglustat-analogues. The results of this systematic investigation may lead to the development of powerful anti-inflammatory drugs, thus providing real therapeutic options for CF lung pathology.

Uno studio sistematico di iminozuccheri, derivati del miglustat, come possibili farmaci anti-infiammatori per la malattia polmonare in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La recente approvazione del farmaco ivacaftor (Kalydeco) da parte di FDA, per il trattamento del difetto di base della Fibrosi Cistica (FC), per i pazienti con una specifica mutazione, ha acceso molte speranze. Tuttavia, poiché questo farmaco è efficace solo per una piccola percentuale di pazienti, servono ancora terapie adiuvanti che rallentino il declino della funzione polmonare. Poiché nei polmoni dei pazienti FC sono state osservate alterazioni dei livelli di ceramide, la riduzione di questo sfingolipide (SL) può contrastare l'eccessiva risposta infiammatoria presente in FC. Per questo scopo sono stati proposti diversi inibitori del metabolismo degli SLs. Grazie ai finanziamenti da parte di FFC, il nostro interesse si è focalizzato sull'iminozucchero miglustat, farmaco noto con il nome di Zavesca, che ha un effetto anti-infiammatorio in cellule bronchiali FC, attraverso l'inibizione dell'enzima β -glucosidasi 2 (GBA2).

Ipotesi e obiettivi. Gli iminozuccheri offrono molti vantaggi come potenziali farmaci, in quanto hanno una buona biodisponibilità per via orale e attività sia immuno-modulatoria che come "chaperonine". Per meglio sfruttare i vantaggi di questo tipo di molecole, la sfida pressante è quella di identificare composti chimici analoghi, più specifici e con effetti avversi limitati. Questo progetto intende analizzare una serie di iminozuccheri, derivati del miglustat come possibili farmaci anti-infiammatori per FC.

Metodi essenziali. Grazie alle sinergie di diverse competenze in ambito chimico e biochimico, lo studio sarà focalizzato su iminozuccheri multivalenti, derivati N-alchilici di deossinoirimicina (NB-DNJ), su L-iminozuccheri e sulle miscele di L e D enantiomeri. Questi composti verranno valutati in termini di efficacia nel ridurre la risposta infiammatoria a *P. aeruginosa* e di attività su enzimi del metabolismo degli

SLs, in cellule epiteliali bronchiali FC. Sarà anche analizzato l'effetto di questi trattamenti sul metabolismo degli SLs. Parallelamente, verrà studiata la potenziale citotossicità di queste molecole. I derivati del miglustat più promettenti saranno validati in colture primarie di pazienti FC e in modelli murini di infiammazione polmonare.

Risultati preliminari. Abbiamo osservato che differenti iminozuccheri mono- e multi-valenti hanno attività anti-infiammatoria e inibiscono l'enzima GBA2.

Risultati attesi e loro significato. Migliorare il potenziale terapeutico del miglustat identificando nuovi analoghi, maggiormente potenti. È auspicabile che i risultati di questo studio siano il punto di partenza per lo sviluppo nuovi farmaci in grado di ridurre specificamente l'infiammazione polmonare FC.

24. Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis

Hirsch E¹, Laudanna C², Ghigo A¹

¹ Dip. Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Centro di Biotecnologie Molecolari, Torino; ² Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona, Lab. di Traffico Cellulare e Trasduzione del segnale (FFC#23/2015, Extension). See Plenary Session 6, Abstract n. 73

25. Mitochondrial quality control machinery: a role in the *P. aeruginosa*-triggered inflammatory response in Cystic Fibrosis

Marchi S¹, Paterniani S¹, Sbano L¹, Cabrini G², Rimessi A¹

¹ Dept of Morphology, Surgery and Experimental Medicine, Section of Pathology, Oncology and Experimental Biology, Interdisciplinary Center for the Study of Inflammation (ICSI), Laboratory for Technologies of Advanced Therapies (LTIA); ² Laboratory of Molecular Pathology; Department of Pathology and Diagnostics, University-Hospital of Verona (FFC#20/2015, New)



Alessandro Rimessi, secondo da sinistra, con il suo gruppo di ricerca

Background. The chronic airway infection by *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) is a common pathological manifestation in Cystic Fibrosis (CF), associated with an exacerbated inflammatory response. Recently it has been demonstrated that perturbations to mitochondrial activity is sufficient to activate innate immune responses, suggesting the elegant hypothesis that host cells use intracellular stress responses to initiate innate immunity programs when pathogens perturb monitored biological processes. Normally intracellular pathogens are cleared through xenophagy. A similar mechanism, called mitophagy, has the cardinal role of selec-

tive degradation of altered mitochondria in stress cells, acting as mitochondrial quality control mechanism together with the mitochondrial unfolded protein response (UPRmt). The maintenance of a healthy mitochondrial population in epithelial airways cells is essential to avoid the impairment of the processes that they regulate.

Hypothesis and objective. That suggests that efficient UPRmt and mitophagic recognition of dysfunctional mitochondria could set the threshold for mitochondrial viability establishing the inflammatory cellular susceptibility. The overall goal of this project is to broaden our knowledge on role of mitochondrial quality control machinery to decode the pro-inflammatory signals generated during *P. aeruginosa* infection in CF. Our attention is addressed to investigate about the balance between xenophagy, mitophagy and UPRmt in *P. aeruginosa*-dependent inflammation response and identify which mechanism fail during CF pathogenesis.

Preliminary results. We have demonstrated that the degree and quality of the inflammatory response in CF are supported by *P. aeruginosa*-dependent mitochondrial perturbation, in which flagellin is the inducer and mitochondrial Ca²⁺ uniporter (MCU) is a signal-integrating organelle member for inflammasome activation and cytokines processing. Indeed, our data identified a functional link between the CFTR channel and mitochondrial Ca²⁺ signaling in which the re-introduction of CFTR mitigates the mitochondrial *P. aeruginosa*-dependent dysfunction. This relationship is strictly associated with *P. aeruginosa*-infection susceptibility and highlights the role of mitochondrial homeostasis in modulating the degree of the inflammatory response.

Expected results and their significance. The project should obtain the characterization of cardinal role of mitochondrial quality control machinery, as mitochondrial adaptation response to stress, establishing the inflammatory cellular susceptibility.

Il macchinario del controllo qualità mitocondriale, un ruolo nella risposta infiammatoria innescata da *P. aeruginosa* in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. L'infezione cronica da *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) è la più comune manifestazione patologica in Fibrosi Cistica (CF), associata a esacerbata risposta infiammatoria. Recentemente è stato dimostrato che il mitocondrio, un organello importante per la vita delle cellule, può controllare la risposta infiammatoria. Si ipotizza che la cellula usi segnali di stress intracellulari per innescare l'infiammazione quando i patogeni alterano processi biologici monitorati, come quelli presenti nei mitocondri. Normalmente, i patogeni che invadono una cellula sono eliminati attraverso xenofagia. Un simile meccanismo, chiamato mitofagia, ha il ruolo di degradare mitocondri alterati, agendo come un meccanismo di controllo qualità mitocondriale insieme a UPRmt (risposta mitocondriale di unfolded proteine). Il mantenimento di una popolazione di mitocondri sani in cellule epiteliali delle vie aeree è essenziale per evitare l'indebolimento dei processi che loro regolano.

Ipotesi e obiettivi. Questo suggerisce che un efficiente UPRmt e mitofagia potrebbe costituire la base per la vitalità mitocondriale, stabilendo la suscettibilità cellulare all'infiammazione. L'obiettivo generale di questo progetto è di ampliare le nostre conoscenze sul ruolo del macchinario di controllo qualità mitocondriale nel codificare segnali pro-infiammatori generati durante infezione da *P. aeruginosa* in CF. La nostra attenzione è rivolta ad analizzare l'equilibrio che esiste tra xenofagia, mitofagia e UPRmt durante la risposta infiammatoria indotta da *P. aeruginosa* e identificare quali meccanismi falliscono in CF.

Risultati preliminari. Abbiamo dimostrato che il grado e la qualità della risposta infiammatoria in CF sono supportate

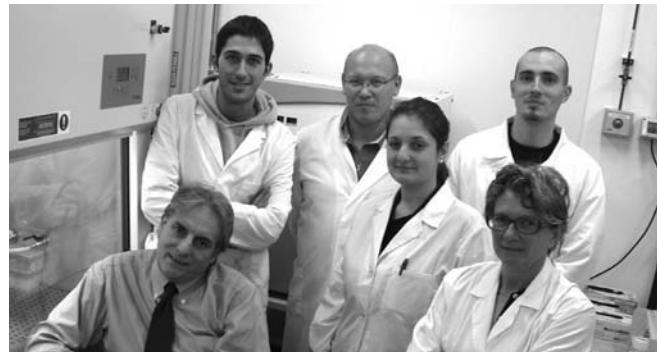
da perturbazioni mitocondriali dipendenti da *P. aeruginosa*, nella quale flagellina è l'induttore e l'uniporter mitocondriale del Ca²⁺ (MCU) è il segnale d'integrazione, indispensabile per attivare l'inflammasoma. Evidenziando un funzionale collegamento tra il canale CFTR e il segnale Ca²⁺ mitocondriale. Questa relazione pone l'accento sul ruolo dell'omeostasi mitocondriale nel modulare il grado della risposta infiammatoria.

Risultati attesi e loro significato. Il fine ultimo del progetto sarà caratterizzare il ruolo cardine del macchinario di controllo della qualità mitocondriale, come una risposta adattativa dell'organello allo stress in CF, e possibile bersaglio per regolare la suscettibilità cellulare all'infiammazione.

26. CFTR-defective biliary cells from human induced pluripotent-stem cells (iPSC) as a model to study the role of innate immunity in cystic fibrosis liver disease

Strazzabosco M

Dipartimento di Chirurgia e Medicina Traslazionale,
Università di Milano-Bicocca, Lab. Epatologia, Monza
(FFC#24/2015, New)



Mario Strazzabosco, primo a sinistra, e il suo team di ricerca

Background. Cystic Fibrosis (CF) is a common and severe genetic disease, caused by mutations in CFTR, a protein that regulates fluid secretion in a number of organs. In CF patients the disease can be complicated by liver disease (CFLD), a condition that can compromise survival and quality of life of these patients. Unfortunately a cure is not yet available. Defective CFTR function impairs the ability of specialized liver cells to produce bile in the proper amount and quality. This was thought to cause liver damage, however we have found that the recovery of bile secretion is not sufficient to ameliorate liver damage in an experimental mouse model in which CFTR-defective liver cells are exposed to endotoxins. Instead, we have recently described that lack of CFTR has a profound impact on the defense mechanisms that normally protect the biliary system from infections (Toll-like receptor innate immunity). In particular, we found an increase activation of TLR4 associated with its increased phosphorylation mediated by Src tyrosine kinase.

Hypothesis and objectives. Our hypothesis is that CFTR participates to the regulation of TLRs signaling and that a correct therapeutic approach should aim at controlling inflammation in biliary epithelial cells. In this project we will translate our knowledge from the CF mouse model and their therapeutic applications in a model that closely resemble the human disease, using the novel technology of human induced pluripotent stem cells (iPSC).

Essential methods. In this project, we will use iPSCs previously derived from a CF patient carrying the CFTR mutation

ΔF508 compared to those derived from a healthy subject.

Preliminary results. Our preliminary data show that CFTR regulates TLR-mediated responses by controlling the activation of Src tyrosine-kinase. Inhibition of Src, decreases the inflammatory response of Cftr-KO cells to LPS in-vitro, and significantly attenuated endotoxin-induced biliary damage and inflammation in vivo in Cftr-KO mice treated with DSS.

Expected results and their significance. We expect that differentiated h-ΔF508-BECs will model in vitro the human CF disease. This project will increase the availability of cell models of human origin to perform studies on the efficacy of new drugs for CFLD. Our results will have a strong potential of launching novel treatment strategies for the liver disease and might be easily extended to other organs (i.e. lung, pancreas, intestine).

Differenziamento di cellule biliari umane con CFTR mutato da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) come modello per studiare il ruolo dell'immunità innata nella malattia epatica associata a fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La Fibrosi Cistica (FC) è una grave e comune malattia genetica, causata da mutazioni del CFTR, una proteina che regola la secrezione di fluidi in molti organi. Una grave complicanza è la malattia epatica, le cui cause patogenetiche non sono ancora note e una cura non è ancora disponibile. Utilizzando un modello murino di FC, abbiamo in precedenza dimostrato che la mancanza di CFTR nell'epitelio biliare ha un profondo impatto sui meccanismi che dell'immunità innata (recettori Toll-like, TLR) che in condizioni normali, proteggono il sistema biliare dalle infezioni. In particolare abbiamo visto che vi è una iper-attivazione del TLR4, dovuta ad una alterata attività della proteina tirosin-chinasi Src.

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi del nostro studio è che il CFTR regola il sistema dei TLRs e che il controllo di tali meccanismi potrebbe avere un utilizzo terapeutico. In questo progetto utilizzeremo i risultati del nostro precedente studio sul modello animale in un modello più simile a quello umano, utilizzando la nuova tecnologia delle cellule staminali umane indotte (iPSC), al fine di testare nuove strategie terapeutiche.

Metodi essenziali. Avremo a disposizione iPSC precedentemente ottenute da pazienti con FC omozigoti per la mutazione ΔF508 che confronteremo con iPSC isolate da soggetti sani.

Risultati preliminari. Dati preliminari mostrano che il CFTR regola le risposte dei TLRs mediante il controllo dell'attivazione di Src. L'inibizione di Src diminuisce la risposta infiammatoria all'LPS nei colangiociti in cui manca CFTR e attenua significativamente il danno biliare e l'infiammazione nel nostro modello murino di FC.

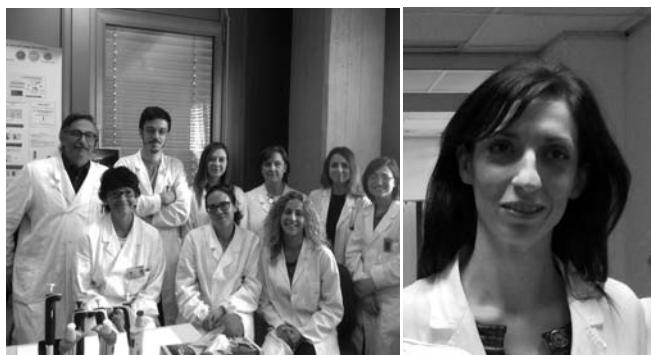
Risultati attesi e loro significato. I colangiociti differenziati dalle iPSC con mutazione ΔF508 costituiranno un modello umano per studi in vitro. I nostri risultati aumenteranno le conoscenze attuali sui meccanismi di regolazione dell'immunità innata nelle cellule biliari e ci permetteranno di generare dei modelli umani per testare l'efficacia di nuove terapie mirate. I nostri studi porteranno a nuove strategie terapeutiche per la malattia epatica nei pazienti con FC che potranno essere successivamente estesi anche ad altri organi affetti da FC.

27. TRPA1 channels as novel molecular targets for anti-inflammatory therapies in CF lung

Cabrini G¹, Nassini R²

¹ Laboratorio di Patologia Molecolare, Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona; ² Dip. di Scienze Sanitarie,

Unità di Farmacologia Clinica e Oncologica, Università di Firenze (FFC#17/2014, In progress)



Giulio Cabrini, primo a sinistra, con il suo gruppo di ricerca e Romina Nassini, partner di ricerca di Firenze

Background. Hallmark of cystic fibrosis (CF) lung disease is a massive infiltrate of neutrophils into the bronchial lumen. Neutrophils are continuously activated by bacterial products, releasing high amounts of DNA, proteases and radicals of oxygen species (ROS) which worsen the tissue damage produced by bacterial infection. Moreover, *P. aeruginosa* infection causes increased release of ROS from airway epithelia. Among the human cellular channels which are able to recognize ROS, the Transient Receptor Potential Subfamily A (TRPA1) is of peculiar interest, due to the potential role in inflammatory processes.

Hypothesis and objectives. The main objective of this project is to investigate the involvement of TRPA1 channels within the ROS-mediated pro-inflammatory signaling pathways in airway epithelial cells upon infection of *P. aeruginosa*.

Essential methods. Several airway epithelial cell lines and primary culture of bronchial epithelial cells derived from patients affected by CF and from healthy subjects will be tested for TRPA1 expression (at mRNA and protein levels) and function (by TRPA1 agonists and inhibitors).

Preliminary results. We preliminary found functional expression of TRPA1 channels in human bronchial epithelial cell lines. Here we thoroughly verified that TRPA1 channel is expressed in different human bronchial epithelial cell lines and in primary bronchial epithelial cells and it is functional in these cells, cooperating in calcium entry.

Expected results and their significance. TRPA1 channels could be part of the pro-inflammatory signaling regulating CF lung inflammation. The results obtained will provide the rationale to test the pharmacological inhibitors of TRPA1 channels in order to intervene in synergy with CFTR correctors and potentiators in the cure of the lung pathology of CF patients.

Il canale TRPA1 come nuovo bersaglio molecolare per lo sviluppo di terapie anti-infiammatorie in FC

Ragioni dello studio. Il lume bronchiale dei pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) presenta una grande quantità di neutrofili polimorfonucleati, i quali vengono continuamente attivati da prodotti di degradazione batterica e rilasciano grandi quantità di DNA, proteasi e radicali dell'ossigeno (ROS), contribuendo essi stessi al danneggiamento del tessuto polmonare. Inoltre, l'infezione da parte di *P. aeruginosa* comporta un aumento di rilascio di ROS da parte dell'epitelio respiratorio. I canali cellulari non selettivi per gli ioni calcio, definiti Transient Receptor Potential Subfamily A (TRPA1), attivati dai ROS, stanno suscitando grande interesse presso la comunità scientifica per il loro potenziale ruolo nella infiammazione.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale di questo progetto è studiare il possibile coinvolgimento dei canali TRPA1 nella risposta infiammatoria polmonare FC a seguito dell'infezione da parte di *P. aeruginosa*.

Metodi essenziali. Sono state utilizzate diverse linee cellulari e colture primarie epiteliali respiratorie, derivate da pazienti affetti da fibrosi cistica e da soggetti di controllo per verificare l'espressione funzionale di questi canali.

Risultati preliminari. L'espressione funzionale del canale TRPA1 è stata verificata e confermata sia in linee cellulari respiratorie umane sia in cellule epiteliali bronchiali derivate direttamente dai polmoni di pazienti ottenuti post-trapianto polmonare. Abbiamo inoltre verificato come inibitori del canale TRPA1 riducono significativamente l'espressione di un mediatore chimico critico nella infiammazione polmonare.

Risultati attesi e loro significato. Visti i limiti delle terapie anti-infiammatorie attualmente in uso in FC, diventa necessario individuare nuove strategie anti-infiammatorie in grado di ridurre, senza abolire completamente, l'eccessiva risposta infiammatoria osservata nei polmoni dei pazienti affetti da FC. La definizione del ruolo dei canali TRPA1 nella infiammazione respiratoria costituirà la base razionale della applicazione futura di farmaci inibitori di TRPA1.

28. Mitochondrial Ca²⁺-dependent inflammasome activation exacerbates the *P. aeruginosa*-driven inflammatory response

Rimessi A¹, Paterniani S¹, Giorgi C¹, Marchi S¹, Bonora M¹, Bragonzi A², Cabrini G³, Pinton P¹

¹ Dept of Morphology, Surgery and Experimental Medicine, Section of Pathology, Oncology and Experimental Biology, Interdisciplinary Center for the Study of Inflammation (ICSI), Laboratory for Technologies of Advanced Therapies (LTIA);

² Cystic Fibrosis animal core facility, San Raffaele Scientific Institute, Milano; ³Laboratory of Molecular Pathology; Department of Pathology and Diagnostics, University-Hospital of Verona (FFC#19/2014, In progress)



Paolo Pinton, terzo da destra in alto, con il gruppo di ricerca

Background. The NOD-like receptors (NLRs) are intracellular pattern-recognition receptors that recognize pathogen-associated molecular patterns activating pro-inflammatory response through the assembly of large caspase-1-activating complex, called inflammasome. Recent data suggest that the mitochondria integrate distinct pro-inflammatory signals and relay this information to a key molecular complex related to inflammation, the NLRP3 inflammasome.

Hypothesis and objective. The overall goal of this project is to broaden our knowledge on role of mitochondria to decode and integrate the pro-inflammatory signals generated during PAO infection in CF. We will focus to obtaining a deep-

er insight into the complex relationship between mitochondrial homeostasis and the inflammatory response induced by PAO in CF. The aim is: to demonstrate that mitochondrial dysfunction in CF epithelial airways cells is a direct link between PAO infection and inflammasome activation.

Preliminary results. In the first year of the project it has been demonstrated that mitochondria are the main source of inflammasome-activating ROS or mtDNA, as such may constitute the signal-integrating organelle for NLRP3 recruitment and activation in *Pseudomonas aeruginosa* (PAO)-driven inflammation in cystic fibrosis (CF). We have demonstrated that the degree and quality of the inflammatory response in CF are supported by PAO-dependent mitochondrial perturbation in airway epithelial cells, in which flagellin is the inducer. Indeed, we are demonstrating that the exacerbated inflammatory response is sustained by the recruitment of both NLRP3 and NLRC4, suggesting that the inflammasome is a highly dynamic macromolecular platform able to recruit different NLRs.

Expected results and their significance. The translational focus will be represented by new and alternative therapeutic approach in CF, that see the mitochondria as possible target. The characterization of the role of mitochondria in controlling activation of innate immune responses will permit the identification of new strategies to contrast the PAO-dependent innate immune response in CF.

Il Ca²⁺ mitocondriale media l'attivazione dell'inflammasoma esasperando la risposta infiammatoria nell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. I NOD-like recettori (NLRs) sono proteine atte a riconoscere costituenti associati al patogeno promuovendo la risposta pro-infiammatoria attraverso l'assemblaggio di complessi molecolari caspasi-1 dipendenti chiamati inflammasomi. Dati recenti suggeriscono che i mitocondri integrano distinti segnali pro-infiammatori e forniscono queste informazioni a una struttura molecolare che controlla l'infiammazione chiamata inflammasoma NLRP3. I mitocondri sono la principale fonte di ROS e mtDNA (attivatori dell'inflammasoma), quindi possono giocare un ruolo chiave per il reclutamento e l'attivazione di NLRP3 nell'infezione promossa da *Pseudomonas aeruginosa* (PAO) in fibrosi cistica (CF).

Ipotesi e obiettivo. L'obiettivo generale di questo progetto è quello di ampliare le nostre conoscenze sul ruolo dei mitocondri nel decodificare e integrare i segnali pro-infiammatori generati durante l'infezione da PAO in CF. Svilupperemo obiettivi complementari finalizzati ad ottenere una più profonda comprensione del complesso rapporto tra l'omeostasi mitocondriale e la risposta infiammatoria indotta da PAO in CF con l'intento di dimostrare che la disfunzione mitocondriale è il link diretto tra l'infezione da PAO e il reclutamento dell'inflammasoma nelle cellule epiteliali patologiche di CF delle vie aeree.

Risultati preliminari. In questo primo anno di progetto abbiamo dimostrato che il grado e la qualità della risposta infiammatoria sono supportati da perturbazione funzionale del mitocondrio dipendente dal patogeno in cellule aeree epiteliali in pazienti CF, nella quale la flagellina è l'induttore. Inoltre abbiamo dimostrato che l'esagerata risposta infiammatoria in CF è sostenuta dal reclutamento degli inflammasomi NLRP3 e NLRC4, suggerendo che l'inflammasoma è una piattaforma molecolare dinamica capace di richiamare diversi NLRs.

Risultati attesi e loro significato. Il focus traslazionale sarà rappresentato da nuovi e alternativi approcci terapeutici che vedono il mitocondrio come possibile bersaglio in CF. La caratterizzazione del ruolo del mitocondrio nel controllare l'attivazione della risposta infiammatoria permetterà di identificare delle nuove strategie che contrastano la risposta infiammatoria PAO dipendente in CF.

29. Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease

Pizzo E¹, Pedone EM²

¹ Lab. di Struttura e Funzione delle Proteine-SFP, lab. grouporesso il Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"; ² Istituto di Biostrutture e Bioimmagini, CNR, Napoli (FFC#20/2014, In progress)



Eliodoro Pizzo, secondo da sinistra, con il suo gruppo di ricerca

Background. During recent years, it has become increasingly evident that many cationic antimicrobial peptides (CAMPs), identified in several proteins, display, as well as rapid and broad-spectrum anti-microbial activity, also roles in immunomodulation and in angiogenesis. In the lung of CF patients the chronic infection by *P. aeruginosa* induces a chronic, excessive inflammation which not only damages the lung but contributes to inability to eradicate infection. CAMPs, acting as anti-inflammatory molecules, could be able to block LPS pro-inflammatory activity attenuating inflammation and so limiting damage to host tissues. New potential CAMPs have been identified by an *in silico* method and their characterization is under investigation.

Hypothesis and objectives. The aim of this study was to analyze structural propensity, antimicrobial activity, cytotoxic effects on eukaryotic cells and anti-inflammatory properties of new human CAMPs identified by a bioinformatic procedure that we have developed. At present, we have produced several peptides and for some of these a functional characterization is in progress. A new particularly interesting peptide is ApoE133-150, identified in receptor binding region of human apolipoprotein E. We have collected data on its conformation and biological activities and compared them with those obtained for peptide GKY20, a well-known 20-residue "cryptic" antimicrobial peptide identified in human thrombin.

Methods. An effective procedure for the production of recombinant CAMPs (ApoE 133-150 and GKY20) in *E. coli* was utilized with yields of about 10mg/L of culture. A structural characterization by circular dichroism and a functional characterization by antimicrobial, immunological and cellular assays were performed.

Preliminary Results. Our results show that this peptide displays a broad-spectrum antibacterial activity. These activities seem to be strongly related to its α -helical conformation, assumed in the presence of different mimic membrane agents. It was found to trigger a marked immune response, mediated by either decreased expression levels of pro inflammatory cytokines in differentiated THP-1 cells or the induction of chemokines release in PBMCs.

Expected results and their significance. Interestingly, this novel CAMP also shows a significant anti-inflammatory effect on human keratinocytes, an evidence that opens suggestive perspectives on topic therapeutic use of this bioactive

peptide. Innovative anti-inflammatory drugs are crucially required for the treatment of CF lung disease and a systematic approach voted to the identification of natural immunomodulating peptides well suits to this demanding task.

Identificazione e caratterizzazione di peptidi umani neutralizzanti gli LPS: potenziale strumento per controllare l'infiammazione nei polmoni FC

Ragioni dello studio. Negli ultimi anni, è diventato sempre più evidente che i peptidi cationici antimicrobici (CAMPs), identificati in diverse proteine, mostrano oltre ad un'attività antimicrobica, anche attività antiinfiammatoria. Nel polmone dei pazienti CF l'infezione cronica da *P. aeruginosa* induce un'infiammazione tale che non solo danneggia i polmoni, ma contrasta anche la rimozione dell'infezione. I CAMPs, agendo come molecole anti-infiammatorie, potrebbero essere in grado di bloccare l'attività pro-infiammatoria dell'LPS attenuando l'infiammazione e quindi limitando i danni polmonari. Nuovi potenziali CAMPs sono stati identificati mediante un metodo bioinformatico e la loro caratterizzazione è in corso.

Ipotesi e obiettivi. Lo scopo di questo studio è quello di caratterizzare strutturalmente e funzionalmente i CAMPs da noi identificati per verificarne l'attività anti batterica ed anti infiammatoria. Tra i peptidi identificati e prodotti, un peptide particolarmente interessante è ApoE 133-150, identificato nella apolipoproteina E umana.

Metodi. Utilizzando un protocollo innovativo per la produzione di CAMPs sono state ottenute rese molto elevate di ApoE 133-150. Un'approfondita caratterizzazione strutturale e funzionale è stata ottenuta con l'ausilio di tecniche biofisiche e saggi antimicrobici, immunologici e cellulari.

Risultati. I nostri risultati dimostrano che ApoE 133-150 mostra un'attività antibatterica ad ampio spettro. Queste attività sembrano essere fortemente correlate alla sua conformazione specifica assunta in presenza di diversi agenti che mimano la membrana cellulare. Tale peptide è in grado di innescare una risposta immunitaria marcata come verificato sperimentalmente su cellule del sistema immunitario.

Risultati attesi e loro significato. È interessante notare che questo CAMP mostra anche un effetto anti-infiammatorio significativo su cellule epiteliali umane, un aspetto che apre prospettive suggestive all'uso terapeutico di questo peptide bioattivo. L'individuazione di farmaci anti-infiammatori innovativi è un passaggio cruciale per il trattamento della CF e un approccio sistematico volto all'identificazione di peptidi di origine umana con attività immunomodulatoria ben si adatta a questo scopo.

30. Mechanisms and clinical implications of endothelial dysfunction in cystic fibrosis

Romano M¹, Totani L², Marchisio M³

¹ Dip. Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. Medicina Molecolare, Università G. D'Annunzio, Chieti-Pescara;

² Dip. Farmacologia Traslazionale, Consorzio Mario Negri Sud/Unità di Biomarkers Vascolari, Chieti; ³ Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Lab. Signalling Cellulare, Università "G. D'Annunzio", Chieti-Pescara (FFC#23/2014, In progress)

Background. Using pulmonary artery endothelial cells (PAEC), isolated for the first time from explanted CF lungs (CF-PAEC), we obtained clear evidence that CFTR controls the integrity of the endothelial monolayer as well as endothelial cell functions relevant in inflammation and pulmonary arterial hypertension. Thus, constitutive endothelial dysfunction



Mario Romano, a sinistra, e i due ricercatori delle unità Partner:
Licia Totani e Marco Marchisio

may be pathogenetically relevant in CF lung inflammation and, therefore, the elucidation of CFTR signaling in endothelial cells may provide clues for innovative pharmacological approaches to CF lung disease.

Hypothesis and objectives. Results from our FFC#17/2012 and FFC#17/2013 projects fully support our hypothesis that the vascular endothelium is dysfunctional in CF. Main objectives of this study are to:

1. Uncover mechanisms of CF endothelial dysfunction as molecular targets for novel anti-inflammatory therapeutics in CF.
2. Elucidate the clinical relevance of circulating endothelial cells (CEC) and endothelial microvesicles (EMV) in CF.

Methods. Flow cytometry, confocal microscopy, western blotting, real-time PCR, electrophysiology techniques.

Preliminary results. We setup new methodology to obtain a virtually pure population of PAEC and CF-PAEC. Cells collected from surgical fragments of pulmonary artery by collagenase digestion are a mixed population containing only 20-40% endothelial cells. Our selection method, based on differential adhesion time of the cells in the mixture, allowed reaching 90-95% purity. Using CF-PAEC from two different donors (G542X/1717-1G->A and deltaF508/deltaF508), showing ~ 70% reduction in membrane CFTTR, we confirmed results obtained with non-CF PAEC exposed to CFTRinh-172. In particular, we observed 40-50 % reduction in trans-endothelial electric resistance (TEER) and two fold increase in the number of microvesicles (MV) released by CF-PAEC compared to non-CF cells. CF-PAEC also showed alterations of the endothelial monolayer integrity under shear stress. Remarkably, agents that increase cAMP levels, such as type III and IV phosphodiesterase inhibitors and beta adrenergic receptor agonists, corrected TEER and monolayer integrity of CF-PAEC. These agents stimulated phosphorylation of the PKA-consensus sequence of several proteins, including the COOH-terminal Src kinase (Csk).

Expected results and their significance. We expect to identify: a) molecular targets for anti-inflammatory therapy; b) Biomarkers, mechanisms and clinical relevance of endothelial dysfunction in CF.

Meccanismi e rilevanza clinica della disfunzione endoteliale nella fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Impiegando cellule isolate da arterie di polmoni fibroscistici rimossi nel corso di trapianto, abbiamo dimostrato per la prima volta come il CFTR controlli l'integrità delle cellule endoteliali oltre che alcune funzioni di queste cellule rilevanti per l'infiammazione e l'ipertensione polmonare. Questi dati indicano che la disfunzione endoteliale può essere rilevante per lo sviluppo e il mantenimento dell'infiammazione polmonare e che la conoscenza di meccanismi controllati dal CFTR nelle cellule endoteliali può fornire informazioni preziose per la messa

a punto di strategie terapeutiche innovative per la malattia polmonare nella FC.

Ipotesi e obiettivi. Risultati dei nostri progetti FFC#17/2012 e FFC#17/2013 sostengono la nostra ipotesi che l'endotelio vascolare è disfunzionale nella FC. Principali obiettivi di questo studio sono:

1. Chiarire i meccanismi della disfunzione endoteliale nella FC al fine di individuare bersagli per terapie anti-infiammatorie innovative.
2. Stabilire la rilevanza clinica delle componenti endoteliali presenti nel torrente circolatorio al fine di individuare nuovi biomarcatori di severità della compromissione respiratoria dei pazienti FC.

Metodi. Citofluorimetria a flusso, microscopia confocale, real-time PCR, tecniche di elettrofisiologia.

Risultati. Nel corso del primo anno del progetto, abbiamo messo a punto una nuova tecnica per ottenere cellule endoteliali purificate a partire da frammenti di arteria polmonare. Da questi frammenti chirurgici si ottiene in genere una mescolanza di cellule diverse, all'interno della quale le endoteliali rappresentano circa il 20-40%. Con il nostro metodo riusciamo ad ottenere cellule endoteliali pure al 90-95%. Abbiamo così ottenuto cellule endoteliali da due pazienti FC con diverso genotipo (G542X/1717-1G->A and deltaF508/deltaF508). Queste cellule ci hanno permesso di individuare una serie di anomalie che riguardano funzioni rilevanti per l'infiammazione e ci hanno consentito di individuare una classe di farmaci in grado di correggere le loro anomalie nella FC.

Risultati attesi e loro significato. Ci aspettiamo di identificare: a) Nuovi bersagli molecolari per terapie antiinfiammatorie. b) Biomarcatori, meccanismi e rilevanza clinica della disfunzione endoteliale nella FC.

31. The role of Glucocerebrosidase GBA2 in cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies

Aureli M¹, Loberto N¹, Schiumarini D¹, Bassi R¹, Valsecchi M¹, Cantù L¹, Brocca P¹, Motta S¹, Dragoni A³, Munari S², Dehecchi MC², Sonnino S¹

¹ Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milano, Italy; ² Laboratory of Molecular Pathology, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Italy; ³ CFACore, San Raffaele Hospital, Milano, Italy, (FFC#24/2014, In progress)



Sandro Sonnino, primo a sinistra, assieme al suo gruppo di ricerca

Background. Several studies indicate that sphingolipids (SL) play a regulatory role in airway inflammation, the most critical aspect of CF lung disease. In particular, altered ceramide (Cer) content is related to the pro-inflammatory state and the inflammation response to bacterial infection. Re-

cently, Cer derived from glycosphingolipids has gained more interest since the inhibition of the glucocerebrosidase GBA2 and its down-regulation by siRNA, are associated with a significant reduction of IL-8 after *P. aeruginosa* (PAO) infection, as well as a reduction of the intrinsic inflammatory state in CF human epithelial bronchial cells (CFhEBC).

Hypothesis and objectives. The present project is aimed to study the role of GBA2 in the molecular mechanisms linking CFTR defect and IL-8 expression. In addition, we intend to develop a nanoparticles (NP)-based delivery system of siRNA targeting GBA2 as a possible promising new anti-inflammatory therapy for CF lung disease.

Methods. Total and plasma membrane-associated activities of different SL hydrolases were determined by specific High-throughput enzymatic assays. The SL pattern was evaluated after cell metabolic labeling at the steady-state with [³H] sphingosine. After cells lysis in 1% Triton X-100, detergent resistant membrane (DRM) fractions were isolated by ultracentrifugation on a discontinuous sucrose gradient. Mucus obtained from differentiated primary cultures of non-CF and CFhEBC was analyzed by X-ray scattering and its interaction with different NP was evaluated.

Preliminary Results. PAO infection causes local changes in both PM lipid content and enzymatic activities. In DRM from CF cells we found a reduction in ganglioside GM3 and sphingomyelin content paralleled by increased levels in glucosylCer and Cer as well as glycohydrolases' activities. These data let to speculate that, in CFhEBC, PAO causes a recruitment of PM-associated glycohydrolases into DRM. At this site, the enrichment of enzymes involved in sphingolipid catabolism might rapidly change their composition and ceramide content, thus leading to the activation of the inflammatory response.

Moreover, we validated siRNA sequences allowing to silence GBA2 by at least 70% resulting in maximal reduction of IL-8. By X-ray analysis, we identified the most promising NP structure in order to penetrate CF mucus.

Expected results and their significance. The identification of GBA2 as possible molecular target related to the inflammatory response and the development of an innovative NP-based approach for GBA2 silencing could represent an important amelioration of the therapeutic strategies in CF.

Ruolo della glucocerebrosidasi GBA2 nell'inflammazione polmonare in fibrosi cistica: dal meccanismo molecolare a nuove strategie terapeutiche

Ragioni dello studio. Molteplici studi dimostrano che gli sfingolipidi (SL), componenti fondamentali della membrana plasmatica (PM) di tutte le cellule, svolgono un ruolo chiave nella regolazione della risposta infiammatoria associata alle infezioni polmonari in pazienti affetti da Fibrosi Cistica (CF). In particolare, è stato recentemente dimostrato che in cellule epiteliali bronchiali umane difettive di CFTR (CFhEBC) infette con *P. aeruginosa* (PAO), l'inibizione dell'attività di GBA2, enzima coinvolto nel catabolismo degli SL, così come la sua down-regolazione con siRNA, sono associate ad una significativa riduzione dei livelli di IL-8.

Ipotesi e obiettivi. Questo progetto è finalizzato allo studio del ruolo di GBA2 nei meccanismi che legano CFTR e l'espressione di IL-8. Inoltre, intendiamo proporre una terapia anti-infiammatoria innovativa per la patologia polmonare CF basata sull'uso di nanoparticelle (NP) per il trasporto di siRNA contro GBA2.

Metodi essenziali. Le attività totali e associate alla membrana plasmatica delle principali SL-idrolasi sono state determinate mediante specifici dosaggio enzimatici. La composizione degli SL è stata determinata dopo marcatura all'equilibrio delle cellule con un precursore radioattivo. Le

frazioni di membrana arricchite in SL (DRM) sono state isolate mediante ultracentrifugazione.

Mediane analisi ai raggi X, è stata caratterizzata la struttura del muco ottenuto da colture primarie di cellule sane e CF, e valutata l'interazione con diverse NP.

Risultati preliminari. In CFhEBC, l'infezione con PAO causa modificazioni sia degli SL che delle idrolasi associate alla PM. Infatti, nei DRM da cellule CF, si osserva a seguito dell'infezione con PAO un aumento delle attività di tali enzimi che determina una riduzione del contenuto del ganglioside GM3 e di sfingomielina con conseguente aumento di glucosilceramide e ceramide. Questi dati suggeriscono che nelle CFhEBC l'infezione possa causare il reclutamento di idrolasi di membrana nei DRM; tale condizione potrebbe favorire la produzione di ceramide responsabile dell'attivazione della risposta infiammatoria.

Inoltre abbiamo validato le sequenze siRNA che permettono di ottenere la più efficace down-regolazione di GBA2 cui consegue la massima riduzione di IL-8. Mediante analisi ai raggi X, abbiamo identificato la NP più promettente per veicolare il siRNA attraverso il muco CF.

Risultati attesi e loro significato. L'identificazione di GBA2 come possibile bersaglio molecolare correlato alla risposta infiammatoria come lo sviluppo di un approccio innovativo, basato sulle NP, per sua la down-regolazione, potrebbe rappresentare un importante avanzamento nelle strategie terapeutiche della CF.

32. Impaired secretory IgA and mucosal immunity in cystic fibrosis: contribution to lung pathology and impaired defence against bacterial infection, and role of CFTR-related epithelial changes in the regulation of the receptor-mediated IgA transcytosis

Gohy S¹, De Rose V², Pilette C¹

¹ Université Catholique de Louvain, Brussels; ² Dip. di Scienze Biologiche e Cliniche, Università di Torino (FFC#26/2014, In progress)



Charles Pilette, responsabile del progetto, e Virginia De Rose, partner

Background. Cystic fibrosis (CF) represents the most common lethal autosomal recessive disorder in the white population, mainly affecting the lungs. It affects the Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR) gene, which encodes a protein expressed on the apical membrane of airway epithelial cells, where it acts as a cAMP-dependent chloride channel and regulator of other channels. Chronic airway infections are a hallmark of this disease, in particular with *Pseudomonas aeruginosa* (PA) that affects up ~70-80% of adult CF patients and is associated with poor clinical outcomes. However, the mechanisms underlying the persistence of pathogens in CF

airways, remain largely unclear. Secretory IgA (S-IgA) is a major line of mucosal defense, through so-called immune exclusion of inhaled / ingested antigens and pathogens. Following synthesis of polymeric (mainly dimeric) IgA by subepithelial mucosal plasmacells, p-IgA is transported across the epithelium by a transcellular routing mediated by the polymeric immunoglobulin receptor (plgR).

Hypothesis and objectives. This project aims to investigate whether the production of S-IgA is impaired in the CF lung, through which mechanisms, and whether this defect contributes to the pathogenesis of CF by impairing immunoprotection against respiratory pathogens such as PA. Our hypothesis is that plgR expression is reduced in CF epithelia, as a result of CFTR-related epithelial changes and epithelial inflammatory damage; this results in profound defects in the plgR/IgA system, favouring chronic bacterial infections in CF.

Methods and preliminary results. First we evaluated plgR and IgA expression in bronchial tissue from CF patients by immunohistochemistry on paraffin and frozen section from lung explants (from collaboration with Paris and Leuven). Secondly, we assessed plgR and IgA levels in sputum from CF patients. Different treatments of the sputa were tested to liquidize them. DNase showed the best results without affecting plgR and S-IgA Elisa or leucocytes (for cytopspin analyses). Globally, we are expecting if possible to analyse 30 explants, 30 endoscopies and 150 sputa.

Expected results and their significance. This project should clarify whether S-IgA system is altered in CF airways and contributes to lung pathology, particularly through impaired neutralization of bacteria. The results of this study would possibly lead to a new treatment strategy aiming at improving lung mucosal defense against bacteria in CF patients.

Compromissione del sistema delle IgA secretorie ed immunità mucosa nella fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Le IgA secretorie (S-IgA) rappresentano uno dei principali meccanismi di difesa a livello polmonare; attraverso il legame con il recettore epiteliale poli-Ig (plgR), esse vengono trasportate nelle secrezioni dove svolgono la loro funzione attraverso il processo cosiddetto di "esclusione immune" dei microrganismi patogeni. La malattia polmonare è la principale causa di morbilità e mortalità nella Fibrosi Cistica (FC) ed è caratterizzata da infezione bronchiale cronica che condiziona strettamente la prognosi. Il sistema delle IgA non è stato studiato in maniera approfondita nella malattia.

Ipotesi e obiettivi. Obiettivo principale di questo progetto è lo studio del sistema delle S-IgA nella FC. Noi ipotizziamo che le alterazioni epiteliali nella FC potrebbero portare ad una ridotta espressione del plgR e conseguentemente ad una ridotta concentrazione di S-IgA nelle vie aeree dei pazienti con FC, che contribuirebbe alla aumentata suscettibilità all'infezione batterica.

Metodi essenziali. Sono stati determinati i livelli di S-IgA nelle secrezioni bronchiali e l'espressione di plgR/S-IgA in campioni di tessuto polmonare di pazienti con FC. Il ruolo del difetto di S-IgA nella malattia polmonare verrà anche studiato in modelli murini (topi CFTR/plgR KO) nei quali verrà anche valutata la risposta all'infezione cronica con *P. aeruginosa*. I meccanismi dell'eventuale compromissione del sistema plgR/S-IgA nella FC verranno infine studiati in culture epiteliali primarie di FC.

Risultati preliminari. In questa prima fase dello studio sono state messe a punto le metodiche di valutazione dell'espressione di plgR e IgA in campioni di tessuto polmonare congelati o inclusi in paraffina; in esperimenti piloti, abbiamo osservato una riduzione dell'espressione di plgR a

livello dell'epitelio bronchiale di pazienti con FC. Abbiamo inoltre determinato che il trattamento con DNase risulta essere la procedura metodologica ottimale per il trattamento dell'escreto dei pazienti con FC ai fini della determinazione dei livelli di plgR e S-IgA.

Risultati attesi e loro significato. I risultati di questo studio consentiranno di chiarire se il sistema delle S-IgA è alterato nelle vie aeree dei pazienti con FC e se tale difetto contribuisce alla aumentata suscettibilità all'infezione bronchiale cronica. L'identificazione dei meccanismi responsabili del difetto del sistema plgR/S-IgA nelle vie aeree dei pazienti con FC potrebbe portare allo sviluppo di approcci terapeutici innovativi.

33. Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis

Recchiuti A

Dip. di Scienza Clinica e Sperimentale-CeSI, Università "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara (FFC#21/2014, In progress)



Antonio Recchiuti

Background. Endogenous resolution mechanisms that promote return to homeostasis and prevent further damage are defective in cystic fibrosis (CF), resulting in excessive inflammation and lung deterioration. Resolvin (Rv) D1 is an endogenous pro-resolution mediator that has entered clinical trials for the treatment of inflammatory diseases. Therefore, its therapeutic potential in CF is of wide interest.

Hypothesis and objectives. Main objectives of this research are 2-fold to determine, in preclinical models of CF, if RvD1 dampens lung inflammation and lung damage while combating bacterial infection. Overarching hypotheses tested in this research project are that RvD1 represents a potent therapeutic that blocks excessive lung inflammation and tissue damages, enhances resolution of *P. aeruginosa* (PA) lung infection, and potentiates actions of antibiotics.

Essential methods. To test our hypotheses and achieve research goals using a preclinical model of CF, CFTR-deficient mice are infected with PA, the main bacterium causing chronic infection in patients, following treatment with RvD1. Airway inflammation, damage, and infection are assessed after short (5 days) and medium-long (14-21 days) term treatment with RvD1. Combined treatment of RvD1 with sub-optimal doses of anti-PA antibiotics are carried out to determine if RvD1 increases efficacy of antimicrobials.

Preliminary results. Inoculum of agar-embedded PA caused persistent (up to 21 DPI) lung infection, inflammation, and tissue damages. In this setting, the RvD1 precursor 17-hydroxydocosahexaenoic acid was identified in chronically infected lungs, defining the first lipid map of chronic *P. aeruginosa* infection. Oral RvD1, administered at the beginning of chronic infection, significantly reduced death, bacterial bur-

den, and neutrophil infiltration at 5 DPI. When administered at the peak of PA infection, RvD1, sharply reduced bacterial titer and leukocytes, preventing lung damage at 21 DPI. In addition, RvD1 reduced leukocyte-endothelial cell interactions, enhanced phagocytosis of bacteria by neutrophils and macrophages, stimulated active clearance of leukocytes from lungs accelerating tissue resolution.

Expected results and their significance. These results unveil protective bioactions of RvD1 of *P. aeruginosa* lung infection, providing proof of concepts for clinical studies on the therapeutic use of RvD1 to limit inflammation, promote resolution, and potentiate microbial clearance in CF.

Resolvina D1 per il trattamento dell'infiammazione ed infezione cronica in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Infezioni croniche alle vie aeree provocate da *Pseudomonas aeruginosa* (PA) ed infiammazione persistente sono le principali cause di progressivo danno polmonare nei pazienti con fibrosi cistica (FC), nei quali i meccanismi endogeni che, normalmente, risolvono l'infiammazione prevenendone la cronicizzazione sono difettosi. Attualmente non esistono terapie specifiche che, al contempo, riducano l'infiammazione e stimolino l'eliminazione dei batteri dalle vie aeree di pazienti FC. La resolvina (Rv) D1 è un composto endogeno in trial clinico per il trattamento di patologie infiammatorie croniche che agisce nell'organismo riducendo l'infiammazione, favorendone la risoluzione e stimolando le difese immunitarie contro le infezioni microbiche. L'uso terapeutico di RvD1 in FC è, pertanto, di estremo interesse.

Ipotesi e obiettivi principali. L'obiettivo dello studio è valutare se RvD1 riduca la severità dell'infiammazione e dell'infezione polmonare da PA in modelli preclinici animali di FC.

Metodi essenziali. Per testare tali ipotesi e raggiungere gli

obiettivi descritti, topi privi del gene CFTR sono stati infettati con un ceppo clinico di PA e trattati con RvD1. L'infiammazione alle vie aeree, il danno ai polmoni e il grado di infezione sono stati valutati in topi infettati dopo trattamento a breve (5 giorni) e medio-lungo termine (14-28 giorni) con RvD1. Esperimenti di co-somministrazione di RvD1 e antibiotici sono, infine, condotti per valutare se RvD1 sia in grado di potenziare l'effetto degli anti-microbici.

Risultati preliminari. L'infezione polmonare da PA è stata instaurata nei topi fino a 21 giorni, riproducendo lo stato infiammatorio persistente ed il danno all'organo osservabile nei pazienti FC. L'analisi dei mediatori chimici prodotti nei polmoni durante tale infezione ha dimostrato la produzione del precursore di RvD1. RvD1, somministrata all'inizio dell'infezione e quando questa era al livello massimo, ha ridotto in maniera significativa il numero di batteri, l'accumulo di cellule infiammatorie ed il danno ai polmoni, dimostrando il potenziale terapeutico nel curare simultaneamente l'infezione da PA e l'infiammazione cronica in FC.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Questi risultati forniscono le basi per ulteriori studi preclinici e clinici sull'uso di RvD1 in FC, offrendo nuove opportunità per il trattamento dell'infiammazione ed infezione cronica alle vie aeree, principali causa di danno polmonare invalidante nei pazienti.

34. Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation

Romani L¹, Pariano M¹, Iannitti RG¹

¹ Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Perugia (FFC#22/2014, In progress),
See Plenary Session 6, Abstract n. 74

PLENARY SESSION 2

Rescuing F508del-CFTR

35. Mechanism of action of trimethylangelicin in rescuing F508del CFTR functional expression

Casavola V

Dip. di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica,
Università di Bari (FFC#1/2013, Concluded)



Valeria Casavola

Background. Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR) carrying the F508del mutation is retained in endoplasmic reticulum and fails to traffic to the cell surface where it functions as a protein kinase A (PKA)-activated chloride channel. Pharmacological correctors that rescue the trafficking of F508del CFTR could partially overcome this defect. However, the rescued F508del CFTR still displays reduced chloride permeability. Therefore, a combined administration of correctors and potentiators of the gating defect is considered to be ideal. We previously found that while a short treatment with 4,6,4'-trimethylangelicin (TMA) potentiates the cAMP/PKA-dependent activation of wild-type CFTR, a long preincubation with nanomolar concentrations of TMA significantly rescues the functional expression of F508del CFTR in primary airway cell monolayers homozygous for F508del mutation.

Objectives. The main objectives of this project were 1) identify the mechanism of action by which TMA rescues F508del CFTR activity; 2) analyze the effect of TMA treatment on actin organization and F508del CFTR stabilization on the apical membrane, 3) analyze TMA effect on cAMP/PKA compartmentalization in the membrane region.

Methods. a) The identification of CFTR region required for TMA activity was performed by Western analysis in HEK

cells transfected with CFTR fragments of different length; b) the actin cytoskeleton organization and phosphoezrin localization in polarized cell monolayers were analyzed by confocal morphological analysis; c) TMA effect on cAMP and PKA compartmentalization was analyzed by FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) measurements in airway cells "in vivo".

Results. 1) TMA interacts with the MSD1 domain of CFTR 2) TMA preincubation improves the actin cytoskeleton organization and F508del CFTR stability on the apical membrane; 3) TMA rescues the cAMP/PKA compartmentalization in the membrane region of polarized CF airway cell monolayers.

Spin-off for research and clinical purposes. Altogether these results suggest that TMA may be considered a promising dual corrector/potentiator and highlight the alterations of the cellular mechanisms involved in the correctors-dependent rescue of F508del CFTR functional expression.

La Trimetilangelicina rispristica l'espressione funzionale della F508del CFTR: meccanismo di azione

Ragioni dello studio. La proteina mutata F508del CFTR è incapace di raggiungere la membrana e trasportare cloruro in quanto prematuramente degradata. La somministrazione combinata di "correttori", che determinano il ripristino della proteina mutata sulla membrana cellulare e di "potenziatori", che incrementano il trasporto di cloruro, potrebbe contribuire a riportare il trasporto di cloruro ad un livello sufficiente per ottenere un significativo beneficio clinico. In passato abbiamo dimostrato che il trattamento con trimetilangelicina (TMA), è in grado di potenziare il trasporto di cloruro della proteina wt CFTR. Recentemente, abbiamo riscontrato come la prolungata preincubazione con TMA (100nM) di monostrati di cellule bronchiolari omozigoti per la mutazione F508del CFTR sia in grado di ripristinare sia l'espressione della F508del CFTR che l'efflusso di cloruro.

Obiettivi. Il progetto di ricerca si propone di a) identificare il meccanismo di azione mediante il quale il TMA ripristina l'espressione funzionale della F508del CFTR sulla membrana cellulare b) analizzare l'effetto del TMA sull'organizzazione citoscheletrica e sulla compartimentazione del sistema di traduzione AMPc /PKA nella regione di membrana.

Metodi. L'identificazione del dominio molecolare della CFTR con cui il TMA interagisce è condotta mediante analisi dell'espressione (Western Blotting) in cellule HEK esperimenti frammenti di N- o C-terminali della CFTR. L'azione del TMA sull'organizzazione citoscheletrica è analizzata mediante analisi confocale mentre l'effetto sulla compartimentazione del sistema di traduzione del segnale AMPc/PKA mediante FRET (Fluorescent Resonance Energy Tranfer).

Risultati. Gli studi effettuati hanno dimostrato che il TMA: a) stabilizza la porzione N-terminale dei frammenti di CFTR contenente la subunità MSD1; b) ripristina l'organizzazione citoscheletrica ed aumenta la stabilità della proteina F508del CFTR sulla membrana plasmatica; c) ripristina la compartimentazione dell'AMPc e della Proteinchinasi AMPc-dipendente nella regione di membrana di cellule bronchiolari omozigoti per la mutazione F508del CFTR. L'efficacia del TMA come correttore è stata dimostrata anche in cellule bronchiolari primarie derivanti da bronchi di pazienti affetti da fibrosi cistica.

Possibili ricadute per la ricerca clinica. La comprensione del meccanismo di azione del TMA rappresenta un passo determinante per un suo potenziale sviluppo terapeutico.

36. Design and synthesis of improved analogs of trimethylangelicin (TMA) for personalized treatment of cystic fibrosis

Gambari R¹, Chilin A², Cabrini G³

¹ Department of Life Sciences and Biotechnology, University of Ferrara; ² Department of Pharmaceutical and Pharmacological sciences, University of Padova; ³ Department of Pathology and Diagnostics, University Hospital of Verona (FFC#8/2014, Concluded)



Roberto Gambari, primo a destra, con il suo gruppo di ricerca

Background. TMA (4,6,4'-trimethylangelicin) has been identified as an anti- inflammatory molecule for CF lung disease, with additional properties as function modulator, both as potentiator and corrector of mutated F508del CFTR protein in *in vitro* experimental models. These effects are obtained at sub-micromolar concentrations, making TMA extremely promising for CF patients. In order to proceed from pre-clinical to phase I clinical development, different topics were considered in the present Project.

Objectives. The major objective of the project was to test TMA analogs with the aim of finding new antinflammatory agents and/or CFTR function modulators with equal or higher activity in respect to the parental TMA. In addition, the aim of the project was to identify TMA analogs retaining only one biological function, i.e. either CFTR correction or anti-inflammatory activity.

Project description. Design, synthesis and biological evaluation of a library of TMA analogs were undertaken to identify a lead compound with optimized properties in respect to the parental TMA. Key tasks were: (1) test of the anti-inflammatory activity, based on inhibition of NF- kB/DNA interaction and expression of pro-inflammatory genes in CF bronchial cell lines; (2) test of the effects as CFTR function modulation; (3) test of photoreactivity and mutagenic properties; (4) derivation of structure-activity relationships aimed at rationalizing the structural determinants required to obtain the above presented activities.

Results. We have demonstrated that anti-inflammatory, CFTR potentiator and CFTR corrector activities can be separately obtained in TMA analogues. This very important milestone was reached following comparative analyses of more than 40 newly synthesized TMA analogs. Among these, TMA analogues were identified displaying low or no inhibitory effects on NF-kB/DNA interactions and inhibition of IL-8 gene expression, but maintaining, and even increasing, the function of CFTR correctors. CFTR correctors were found with no mutagenic effects and without DNA photodamaging activities.

Conclusions. Novel TMA analogues were identified exhibiting CFTR correctors properties without any secondary effects, allowing to propose them as useful reagents for pre-clinical studies aimed at the development of protocols for personalized therapy of cystic fibrosis.

Progettazione e sintesi di analoghi della trimetilangelicina (TMA) per il trattamento personalizzato di fibrosi cistica

Razionale. La TMA (4,6,4'-trimethylangelicin) è stata caratterizzata come una molecola antinfiammatoria per la Fibrosi Cistica (FC), con proprietà importanti di modulazione della proteina CFTR. Infatti TMA è sia un potenziatore che un correttore di F508del CFTR in modelli sperimentali in vitro. Questi effetti sono stati ottenuti a concentrazioni sub-micromolari, rendendo TMA estremamente promettente per i pazienti FC. Al fine di procedere dalla pre-clinica allo sviluppo clinico di fase I, questi diversi aspetti sono stati considerati nel presente progetto.

Obiettivi. L'obiettivo principale del progetto è stato quello di testare analoghi della TMA con la finalità di trovare nuovi agenti antinfiammatori e/o modulatori della funzione CFTR con attività pari o superiore rispetto alla TMA. Inoltre, lo scopo del progetto era identificare analoghi della TMA conservando solo una funzione biologica, ossia la sola attività di correzione del CFTR oppure anti-infiammatoria.

Descrizione del progetto. La progettazione, sintesi e valutazione biologica di una libreria di analoghi della TMA sono state intraprese per identificare un composto con proprietà ottimizzate rispetto alla TMA. Le attività principali considerate sono state: (1) test di attività anti-infiammatoria, basata sulla inibizione dell'interazione NF-kB/DNA e sull'analisi dell'espressione di geni pro-infiammatori; (2) test degli effetti di modulazione della funzione del CFTR; (3) prova di fotoreattività e mutagenicità; (4) studi di struttura-attività volti a razionalizzare i determinanti strutturali necessari per ottenere le suddette attività biologiche.

Risultati. Abbiamo dimostrato che le attività anti-infiammatoria, di potenziamento e di correzione del CFTR possono risultare separate tra diversi analoghi del TMA. Questo traguardo molto importante è stato raggiunto in seguito ad analisi comparative di più di 40 analoghi della TMA di nuova sintesi. Tra questi sono stati individuati analoghi della TMA ad effetto limitato o nullo su interazione NF-kB/DNA e inibizione dell'espressione di L-8, mantenendo tuttavia o addirittura incrementando la funzione di correttore di CFTR. Nuovi analoghi efficienti correttori di CFTR sono stati individuati che non mostrano effetti mutagenici e di binding funzionale al DNA.

Conclusioni. Analoghi della TMA sono stati identificati che mostrano correzione delle proprietà del CFTR proprietà senza effetti secondari, permettendo di proporre questi reagenti per studi pre-clinici finalizzati allo sviluppo di protocolli per la terapia personalizzata della fibrosi cistica.

37. Δ F508-CFTR correctors deriving from computational design and from safe natural compounds for a prompt clinical application

Mazzei M¹, Fossa P², Pascale M³

¹ Dipartimento di Farmacia, Università di Genova; ² Dip. di Farmacia, Università del Salento; ³ Dip. di Farmacia, Università del Salento (FFC#3/2013, Concluded)

Background. Our research is designed to increase the number of useful substances for treating CF patients with Δ F508 mutation. In particular, our efforts are aimed at expanding the sector of "correctors."

Hypothesis and objectives.

- 1) Finding, through rational systems, molecules interacting with the mutant CFTR or those proteins responsible for its degradation in order to rescue the Δ F508-CFTR.
- 2) Discovering new potential correctors between natural substances already present in foodstuff or herbal medi-



Mauro Mazzei, responsabile del progetto, con la partner 1, Paola Fossa, prima a sinistra, e partner 2, Maria Pascale, foto a destra

cines. Such substances could reach the market in less time than the synthetic drugs.

Methods.

- 1) Through the molecular design (MD) assisted by computer, we have selected a set of substances able to bind to specific sites on proteins involved in CF and provided of known crystallographic data. The time machine was purchased by Google. The structures for "virtual screening" were taken from the Zinc Database containing more than 5 millions of "drug-like" molecules, all present in the market.
- 2) Based on a structural motif found in some well-known correctors, ca. 30 phenylhydrazones were synthesized. These substances have been tested on cells CFBE410- evaluating the iodide influx by the quenching of fluorescence.
- 3) Natural products have been tested on FRT cells (influx of iodide) and A549 cells (western blot).

Results.

- 1) About 1,000 molecules were selected using the MD. Now such molecules are going to further reductions of that amount using the docking flexibility to obtain more significant and manageable data. So far there are no experimental data on cells.
- 2) Two phenylhydrazones (namely, SM5 and SM20) showed an interesting activity as correctors when tested at 20 mM and 2 mM, respectively.
- 3) Within the framework of investigations on natural products, our data show that citric acid and tartaric acid (tested at 10 μ M) have a moderate correction activity on A549 cells.
- 4) An excellent result came from further research on the alkaloid Matrine. When VX-809 (corrector) and VX-770 (potentiator) were added to FRT cells 24 h after the introduction of Matrine (actually, Matrine must take the time to fulfil its role as downregulating the chaperone HSC70), a significant increase of the influx of iodide was appreciated.

Spin-off for research & clinical purposes. Since Matrine extracts (from Sophora flavescens) are part of traditional Chinese medicine, Matrine could quickly apply to be part of a cocktail of helpful substances to restore the functionality of Δ F508-CFTR.

Correttori della DF508-CFTR derivanti da disegno computazionale e da composti naturali, classificati come sicuri, per una rapida applicazione clinica

Ragioni dello studio. Le nostre ricerche sono intese ad incrementare il numero di sostanze utili per curare pazienti FC con mutazione DF508-CFTR. In particolare i nostri sforzi sono rivolti ad ampliare il settore dei "correttori".

Ipotesi e obiettivi.

- 1) Trovare, mediante sistemi razionali, molecole in grado di interagire con la CFTR mutata o con le proteine preposte alla sua degradazione in modo da salvare la DF508-CFTR.
- 2) Scoprire nuovi potenziali correttori tra sostanze naturali,

già presenti in alimenti o erbe medicinali, che possano raggiungere il mercato in tempi inferiori rispetto a farmaci sintetici.

Metodi.

- 1) Mediante il Disegno Molecolare (DM) assistito dal computer, abbiamo selezionato un set di sostanze capaci di legarsi a specifici siti presenti in proteine coinvolte in FC e di cui si conoscono i dati cristallografici. Il tempo macchina è stato acquistato da Google. Le molecole per il "virtual screening" sono state tratte dal Database Zinc in cui sono presenti più di 5 milioni di molecole cosiddette "drug-like".
- 2) Basandoci su un motivo strutturale presente in alcuni noti correttori sono state sintetizzati ca. 30 fenilidrazoni. Tali sostanze sono state testate su cellule CFBE41o- valutando l'influsso di ioduro mediante spegnimento della fluorescenza. I prodotti naturali sono stati saggiati su cellule FRT (influsso di ioduro) e A549 (western blot).

Risultati.

- 1) Circa 1.000 molecole sono state selezionate per mezzo del DM. Sono ora in corso ulteriori riduzioni di tale quantità utilizzando il docking flessibile per ottenere dati ancora più significativi. Finora non sono disponibili dati sperimentali su cellule.
- 2) Tra i fenilidrazoni saggiai due di essi (SM5, SM20) risultano molto interessanti quali correttori.
- 3) Nell'ambito delle indagini su prodotti naturali, i nostri dati mostrano che alla conc. di 10 mM gli acidi citrico e tartarico hanno una moderata attività correttrice.
- 4) Un ottimo risultato si è avuto da ulteriori ricerche sull'alcaloide Matrina. Quando il correttore VX-809 ed il potenziatore VX-770 vengono posti in cellule FRT in cui la Matrina ha avuto il tempo di svolgere il suo ruolo di downregolazione del chaperone HSC70, si osserva un deciso incremento dell'influsso di ioduro.

Ricadute su ricerche cliniche. Poiché estratti contenenti Matrina fanno parte della Medicina Tradizionale Cinese, la Matrina si può rapidamente candidare per far parte di cocktail di sostanze utili per ripristinare la funzionalità della DF508-CFTR.

38. Development of novel methodologies for the identification of CFTR-targeted drugs: a multidisciplinary approach using Real Time Surface Plasmon Resonance interaction assay supported by bioinformatics strategies on HPC infrastructures

Sala D¹, Rusnati M², Orro A¹, Trombetti G¹, Cichero E³, Urbinati C², Di Somma M², Millo E⁵, Galletta LJV⁶, Milanesi L¹, Fossa P³, D'Ursi P¹

¹ ITB-CNR, Segrate MI; ² DMMT, Univ. of Brescia; ³ Pharmacy,

⁴ Exp Med, 5CEBR, Univ. of Genoa; ⁵ Ist. G. Gaslini, Genoa (FFC#6/2014, Concluded)

Background. Cystic fibrosis (CF) is due to dysfunctions of CFTR whose most common mutation, F508Δ, localized in NBD1 domain, causes an abnormal conformation of F508Δ-CFTR that is withhold in the endoplasmic reticulum. The small amount of receptor that reaches the plasma membrane exhibits low activity (gating defect).

Hypothesis & objectives. Current CF therapies are aimed at symptoms alleviation, calling for new drugs to rescue F508Δ-CFTR trafficking (correctors) or gating (potentiators), to the identification of which this study has sought to make an original contribution.

Methods. An integrated approach between computa-



Marco Rusnati

tional Methods, and surface plasmon resonance (SPR) was here applied to better understand the molecular mechanisms of the known VX809 corrector and to characterize new compounds

Results. Molecular dynamics unmasks two binding pockets (BPs) in NBD1. BP1 is smaller in wild type (WT) than in F508Δ-CFTR, due to two loops (drug site 1 and 2) making contact and closing the BPs. In F508Δ-NBD1, all the ligands tested bind BP1, VX809 and FCG in drug site 1, EN371B, EN277I and EN371A in drug site 2. VX809 binding to F508Δ-NBD1 is stable and samples the same space of the WT, indicating a conformational recovery. FCG association is unstable, indicating a different binding site. EN371A is inactive, moving away from the BP. SPR validated molecular modeling: all the compounds except EN371A bind F508Δ-NBD1 with affinities higher than that of keratin 8 (K8). VX809 and FCG are stronger binders than EN277I and EN371B. When the compounds were assayed for their capacity to affect the F508Δ-NBD1/K8 interaction, EN277I was ineffective while EN371B prevented the interaction, indicating a competition with K8 for the same BP. VX809 or FCG originated instead an additional signal, indicating their binding to the receptor in a site distinct from that of K8.

Spin-off for research & clinical purposes. SPR analysis validates and complements *in silico* predictions sustaining the integration of bioinformatics and SPR as effective in speeding up the discovery of new CFTR-targeted drugs.

Risonanza plasmonica di superficie e strategie bioinformatiche: un approccio multidisciplinare per l'identificazione di nuovi farmaci per la cura della fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (CF) è causata da disfunzioni del CFTR, la cui principale mutazione, F508Δ nel dominio NBD1 induce un'abnorme conformazione del recettore mutato (F508Δ-CFTR) che viene trattenuto nel reticolo endoplasmico. La quota di recettore che riesce a raggiungere la membrana cellulare mostra comunque una bassa attività.

Ipotesi e obiettivi. Le principali cure per la CF disponibili sono sintomatiche, suggerendo la necessità di nuovi farmaci per recuperare l'attività di F508Δ-CFTR, all'identificazione dei quali questo studio ha inteso dare un contributo originale.

Metodi. Per chiarire i meccanismi molecolari di farmaci noti e caratterizzarne di nuovi si è usato un approccio integrato tra bioinformatica e risonanza plasmonica di superficie (SPR).

Risultati. Studi di dinamica molecolare identificavano nuove tasche di legame (BPs) in NBD1. BP1 è più piccolo nel recettore sano rispetto al mutato a causa di due ripiegamenti ("drug site" 1 e 2) che, facendo contatto chiudono le BPs in diversa misura. Tutte le molecole saggiate si legano a BP1 in F508Δ-NBD1: VX809 e FCG nel "drug site" 1, EN371B, EN277I e EN371A nel "drug site" 2. VX809 lega F508Δ-NBD1 in modo stabile e simile al recettore sano, indicando

la sua capacità di indurre un recupero conformazionale nel primo. FCG si lega invece in modo diverso, indicando un sito di legame diverso. EN371A non lega il recettore. Le analisi SPR confermano le predizioni della dinamica molecolare. Tutti i composti saggiati, eccetto EN371A, legano F508Δ-NBD1 con affinità maggiori di quella del ligando naturale cheratina 8 (K8). VX809 e FCG mostrano affinità più elevate rispetto a EN2771 e EN371B. Valutando i composti per la loro capacità di modulare l'interazione tra F508Δ-NBD1 e K8, EN2771 risulta inefficace, mentre EN371B impedisce l'interazione, indicando una competizione con K8 per lo stesso sito di legame. VX809 e FCG originano invece un ulteriore segnale SPR, indicando il loro legame al recettore in un sito diverso da quello di K8.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. SPR valida e complementa le predizioni della dinamica molecolare, indicando come l'integrazione tra queste due tecnologie possa migliorare lo sviluppo di nuovi farmaci per la CF.

39 The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR): corrector sites

Moran O¹, Satriano L¹, Baroni D¹, Zegarra-Moran O², Ford RC³, Pollock NL³

¹ Istituto di Biofisica, CNR, Genova; ² Unità Operativa di Genetica Medica, Istituto G. Gaslini, Genova; ³ Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester, UK (FFC#4/2014, In progress)



Osca Moran, al centro, con ricercatrici del suo laboratorio

Background. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) is a membrane-integral protein that belongs to the ATP-binding cassette superfamily. Mutations in the cftr gene cause cystic fibrosis in which salt and water homeostasis are defective in various tissues.

Hypothesis and objectives. We aim to disclose the differences in the folding conformations between the wild type-(WT) and F508del-CFTR.

Methods. Recombinant human WT- F508del-CFTR were over-expressed in yeast, solubilised in the detergent LPG-14 and chromatographically purified to monodispersity. The detergent-CFTR complexes were studied by small-angle X-ray scattering (SAXS) Methods. using a water/sucrose solvent of variable density.

Results. The final result of the SAXS study of each type of particle is the numerical value of a set of parameters: molecular mass, volume and radius of gyration of the volume occupied by the particles, average electron density and second moment of the electron density fluctuations inside the particles. It is also shown that in the complex the centres of gravity of CFTR and of the detergent moiety are displaced relative to each other. The analysis of these parameters led to the determination of the size and shape of the volumes

occupied by protein and by detergent in the complex. We find WT-CFTR to be a very elongated molecule (maximum diameter ~12.4 nm) which spans a flat detergent micelle. The pair distance distribution function confirms that the WT-CFTR is elongated and with an internal inhomogeneous electronic density. The F508del-CFTR molecule is also elongated (with a similar diameter ~13.2 nm), but the associated detergent micelle hides a larger surface, plausibly related to an increased exposure of hydrophobic portions of the mutated protein. The corresponding pair distance distribution function is consistent with the presence of well defined domains, probably linked by flexible regions. These differences suggest that the full-length mutant F508del-CFTR has a detectably different conformation, in contrast to the minor differences observed for the isolated F508-containing NBD. We interpret the data in terms of an incomplete post-traslational assembly of the domains of the protein.

Possible impact for clinical research. This information may have to be considered when searching for CFTR-correctors, probing candidates that bind with CFTR, not limiting the search to the NBD1, but also in other, not well defined yet, regions of CFTR.

La struttura molecolare e la conformazione della proteina coinvolta nella fibrosi cistica (CFTR)

Contesto. La CFTR è una proteina di membrana integrale che appartiene alla super-famiglia ABC. Le mutazioni nel gene cftr causano la fibrosi cistica, in cui l'omeostasi dell'acqua e il sale sono difettosi in vari tessuti.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro scopo è di rilevare le differenze tra le conformazioni della CFTR normale (WT) e la mutazione F508del.

Metodi. CFTR WT e mutante sono state espresse in lievito, solubilizzate nel detergente GPL-14 e purificate chromatograficamente. I complessi detergente-CFTR sono stati studiati per dispersione di raggi-X a piccolo-angolo (SAXS), utilizzando un solvente acqua/saccarosio di densità variabile.

Risultati. Il risultato finale dello studio di ciascun tipo di molecola è il valore numerico di un insieme di parametri: massa molecolare, volume e il raggio di girazione del volume occupato dalle particelle, densità media di elettroni e secondo momento delle fluttuazioni della densità elettronica all'interno le particelle. Si osserva che nei complesso i centri di gravità della CFTR e del detergente sono spostati uno rispetto all'altro. L'analisi ha portato alla determinazione della dimensione e forma dei volumi occupati dalla proteine e dal detergente nei complessi. La CFTR-WT è una molecola molto allungata (diametro massimo ~12.4 nm), che si estende su una micella piatta di detergente. La funzione di distribuzione distanza conferma che il CFTR-WT è allungata e ha una densità elettronica interna disomogenea. Anche la CFTR-F508del è allungata (con un diametro simile ~ 3,2 nm), ma la micella di detergente associata ricopre una superficie maggiore, plausibilmente correlato a una maggiore esposizione di porzioni idrofobiche della proteina mutata. La funzione di distribuzione distanza corrispondente è coerente con la presenza di domini ben definiti, probabilmente legati da regioni flessibili. Queste differenze suggeriscono che, in contrasto con le piccole differenze osservate per il dominio NBD isolato contenente la mutazione in F508, la proteina completa CFTR con la mutazione F508del ha una conformazione diversa rilevabile. Noi interpretiamo i dati in termini di una incompleta assemblea post-traslazionale dei domini della proteina.

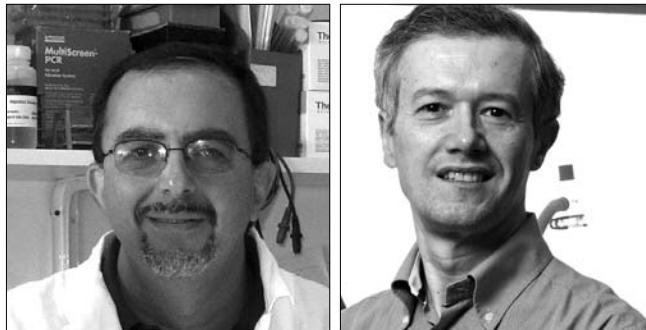
Possibili ripercussioni per la ricerca clinica. Queste informazioni devono essere considerate nella ricerca di correttori, non limitando la ricerca a candidati che si legano al NBD1, ma anche ad altre regioni della CFTR.

40. Task Force for Cystic Fibrosis

Galietta L¹, Bandiera T², Bertozzi F², Di Fruscia P², Giacomina F², Sorana F², Zaetta G², Pedemonte N¹, Pesce E¹, Tomati V¹, Scudieri P¹

1 Istituto "G. Gaslini", Genova; 2 Istituto Italiano Tecnologie (IIT), Genova

(FFC/TFCF/2014, In progress, see also poster session 21)



Luis Galietta, dell'Istituto "G. Gaslini", responsabile del progetto, (a sinistra) e Tiziano Bandiera, dell'Istituto Italiano di Tecnologie (IIT), partner

Background. F508del, the most frequent mutation among patients with cystic fibrosis (CF), causes defective maturation and early degradation of CFTR protein. The maturation defect can be treated with chemical compounds known as correctors. F508del and other mutations also show a gating defect that requires another type of compounds called potentiators. At the moment there are no F508del correctors with adequate efficacy. New potentiators are also required.

Hypothesis and objectives. Our project aims at identifying new correctors and potentiators for the functional rescue of mutant CFTR protein.

Methods. By screening a chemical library containing 11,334 compounds, we previously found correctors and potentiators with novel chemical scaffold. Functional and biochemical evaluation of these compounds and related analogs generated by synthesis has now led to the identifi-

cation of the most promising chemical classes.

Results. We have identified two classes of correctors and one class of potentiators that include compounds with significant activity on primary bronchial epithelial cells from CF patients. Work in progress aims at improving the efficacy and potency of these molecules. So far, more than 180 new compounds have been synthesized and tested.

Spin-off for research & clinical purposes. Compounds developed so far represent possible candidates to develop novel drugs for the correction of the CF basic defect.

Task Force for Cystic Fibrosis

Ragioni dello studio. F508del, la mutazione più frequente nei pazienti con fibrosi cistica (FC), provoca un difetto di maturazione della proteina CFTR che viene quindi degradata prematuramente. Il difetto di maturazione può essere ridotto con opportuni composti chimici chiamati correttori. F508del ed altre mutazioni presentano anche un difetto di attività che invece richiede un tipo diverso di composti chiamati potenziatori. Al momento non esistono correttori di F508del sufficientemente efficaci ed è opportuno trovare anche nuovi potenziatori.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro progetto si prefigge di trovare nuovi correttori e potenziatori per il recupero funzionale della proteina CFTR mutata.

Metodi. Attraverso lo screening su vasta scala di 11.334 composti abbiamo precedentemente trovato un pannello di correttori e potenziatori con nuova struttura chimica. L'analisi con saggi funzionali e biochimici di tali composti e di nuovi analoghi generati per sintesi ha permesso di identificare le classi chimiche più promettenti.

Risultati. Sono state identificate due famiglie di correttori e una famiglia di potenziatori che comprendono composti particolarmente attivi anche su cellule epiteliali bronchiali di pazienti FC. Il lavoro in corso mira a migliorare ulteriormente le proprietà di efficacia e di affinità di tali molecole. Finora, sono stati sintetizzati e valutati oltre 180 nuovi composti.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I composti finora sviluppati rappresentano possibili candidati per lo sviluppo di nuovi farmaci per la correzione del difetto di base nella FC.

PLENARY SESSION 3

Other approaches for correcting basic defect

41. Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental approaches for the read-through of PTCs in CF cells

Lentini L¹, Pibiri I¹, Melfi R¹, Tutone M¹, Pace A¹, Barone G¹, Di Leonardo A¹

¹Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies (STEBICEF), University of Palermo (FFC#1/2014, In progress)

Background. Cystic Fibrosis patients with nonsense-mutation in the CFTR gene generally make virtually no CFTR protein and thus often have a more severe form of CF. Recently, Ataluren (PTC124) was suggested to induce the read-through of premature termination codons mainly the UGA codon. However, despite promising results there is not a general consensus on efficacy and mechanism of action.

Hypothesis and objectives. The design of new small mol-



Laura Lentini, responsabile del progetto di ricerca, a sinistra, e Ivana Pibiri, dell'unità Partner.

ecules (PTC124 related) together with the understanding of their mechanism of action could lead to new pharmacologic approaches for the cure of CF. This project was aimed to implement and to evaluate the efficacy of the activity of some PTC124 derivatives (analogs) identified in our precedent FFC project. In

particular, the experiments will be done in different cell types: 1- human cells transfected with vectors containing PTCs in reporter genes; 2- primary human bronchial epithelial cells 3- immortalized epithelial cells of cystic fibrosis (CF) patients.

Methods. Design and synthesis of the new PTC's readthrough promoters was based on the results obtained in our precedent project FFC by a virtual screening approach. We used the *FLuc* assay and *IB3* cell lines to test the new identified products. Computational studies were aimed to model the interaction between the bioactive synthesized compounds and the possible cellular target to understand their mechanism of action.

Preliminary results. We synthesized 18 analogues of the PTC124 and tested some of them in three different biological models. Three of these new compounds showed high readthrough capacity.

Expected results and their significance. Identification of molecules displaying higher readthrough activity than Ataluren (PTC124). Understanding their mechanism of action for the PTC's readthrough.

Identificazione e validazione di nuove molecole ottenute da studi computazionali e saggi biologici per il superamento di codoni di stop prematuri in cellule FC

Ragioni dello studio. Pazienti affetti fibrosi cistica che presentano mutazioni non senso nel gene CFTR non possiedono alcuna forma della proteina e in generale il loro quadro clinico risulta essere più grave. Ataluren (PTC124), una piccola molecola aromatica, è in grado di indurre il "readthrough" (superamento) dei codoni di stop prematuri e non di quelli normali. Ma nonostante i buoni risultati iniziali esistono molte controversie sull'effettiva efficacia di tale molecola e inoltre non se ne conosce il meccanismo d'azione.

Ipotesi e obiettivi. In uno studio precedente finanziato dalla Fondazione Fibrosi Cistica, abbiamo sintetizzato e identificato alcune molecole che sembrano mostrare una migliore attività di readthrough rispetto a quella del PTC124. Scopo di questo progetto è quello di cercare di implementare i dati ad oggi ottenuti e cercare di estenderli a sistemi modello cellulari di fibrosi cistica. Un ulteriore obiettivo del progetto è il design e la sintesi di nuove molecole ad azione readthrough. Infine, mediante studi computazionali si sta cercando di generare dei modelli d'interazione tra i composti bioattivi sintetizzati e il loro possibile bersaglio cellulare.

Metodi. La progettazione e la sintesi di nuove molecole analoghe al PTC124 è stata fatta sulla base dei risultati ottenuti dal precedente progetto mediante uno screening virtuale su database pubblici e non. Per il test dei nuovi prodotti si è utilizzato il saggio con la luciferasi affiancato da esperimenti condotti su sistemi modello cellulari contenenti codoni di stop prematuri. Infine sono stati condotti studi computazionali finalizzati a valutare l'interazione tra i composti bioattivi sintetizzati e il bersaglio cellulare al fine di comprendere il possibile meccanismo d'azione di tali molecole.

Risultati preliminari. Abbiamo sintetizzato e saggiato 18 analoghi del PTC124 in tre diversi modelli biologici. Tre di questi nuovi composti hanno mostrato elevata capacità di readthrough.

Risultati attesi e loro significato. Il risultato che ci prefiggiamo è quello di ottenere molecole che mostrano un'elevata attività readthrough e la possibile identificazione del meccanismo di azione di tali molecole per migliorarne l'efficacia.

42. An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells

Pagani F

Human Molecular Genetics, International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Trieste, Italy (FFC#5/2014, In progress)



Franco Pagani, primo da sinistra, e il suo gruppo di ricercatori

Background. Aberrant splicing represents a common disease-causing mechanism in CF and exon skipping is one of the most frequent defect. We recently reported that modified U1 core spliceosomal components (named ExSpe U1), when specifically engineered to bind in the intron downstream the 5'ss rescues splicing of defective exons. This therapeutic activity can be observed in CFTR exon 13 and 5, where the modified U1s efficiently correct different splicing defects present either at the 5'ss or at the exonic splicing regulatory elements.

Hypothesis. The molecular mechanism of ExSpeU1 -mediated splicing enhancement and effect *in vivo* are largely unknown.

Methods. To investigate in detail the molecular mechanism we have characterized the composition of the modified particles by affinity purification, EMSA and RNA Immuno Precipitation and to evaluate the effect *in vivo* we developed a splicing competent minigene.

Results. Our results indicate that ExSpeU1 RNA is assembled into RNA-protein complexes with similar characteristic to endogenous U1snRNPs. In addition, through mutagenesis of RNA domains that form the particle, we identify associated proteins that are strictly required for their splicing rescue activity. Lastly, to explore the potential therapeutic effect of modified U1s we evaluated their effect on CFTR protein. In a novel cellular model based on splicing competent minigenes we show that ExSpe U1 rescues splicing and protein function. Modified U1s represent an interesting RNA-based therapeutic strategy to correct CFTR splicing mutations distributed along the CFTR gene.

Spin off for research. We have filed a patent for ExSpeU1 as therapeutic tools for splicing correction that apply to several rare diseases, including cystic fibrosis. Some of these molecules are under evaluation in a neurological mouse model.

Un approccio basato su piccoli RNA per la correzione dei difetti di splicing del gene CFTR: analisi delle efficacia in cellule primarie bronchiali

Ragioni dello studio. Identificare nuove strategie di correzione dei difetti di splicing nel gene CFTR

Ipotesi ed obiettivi. Dei piccoli RNA (U1 snRNAs) opportunamente modificati per legare sequenze geniche, sono in grado di correggere alcuni difetti di splicing presenti sul gene CFTR, in particolare quelli a carico dell'esone 13 e 5. La composizione di queste molecole chiamate ExSpeU1 *in vivo* e la loro efficacia in modelli cellulari non è nota.

Metodi. Per studiare in dettaglio i meccanismi molecolari, abbiamo caratterizzato la composizione delle particelle che vengono prodotte *in vivo* a partire da questi U1 modificati. Per esplorare il potenziale effetto terapeutico di ExSpeU1 ab-

biamo valutato il loro effetto sulla proteina CFTR in un nuovo modello cellulare.

Risultati. l'RNA U1 modificato è assemblato in complessi RNA-proteina con caratteristiche simili al U1snRNPs endogeno. Inoltre, mediante mutagenesi di domini RNA che formano la particella, abbiamo identificato proteine associate che sono strettamente necessarie per recuperare lo splicing aberrante. Infine mostriamo che ExSpe U1 recupera la sintesi della proteina CFTR Gli ExSpeU1 rappresentano un'interessante strategia terapeutica basata sull'RNA utile per la correzione di mutazioni di splicing distribuite lungo il gene CFTR.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Per favorire lo sviluppo commerciale le molecole sono state brevettate con indicazione allargata a numerose malattie rare, inclusa la CF. Attualmente sono in corso studi di efficacia e tollerabilità in un modello animale in una malattia neurologica. I dati provenienti da questo studio indicheranno la tollerabilità ed efficacia di questa nuova classe di molecole che saranno utili anche nella CF.

43. A systems biology approach to the correction of cystic fibrosis: from building a network of proteostasis regulatory pathways to combinatorial targeting

Hegde RN^{1,2}, Parashuraman S^{1,2}, Iorio F², Ciciriello F^{2,3,4}, Capuani F², Carissimo A², Carrella D², Belcastro V², Subramanian A¹, Bounti L¹, Persico M², Carlile G³, Galietta LJ⁵, Thomas DY³, Di Bernardo D^{2,6}, Luini A^{1,2}

¹Institute of Protein Biochemistry, National Research Council, Napoli, Italy; ²Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli (NA); ³Biochemistry Department, McIntyre Medical Sciences Building, McGill University, Montréal, Québec, Canada; ⁴Department of Biology and Biotechnology Charles Darwin, BBCD, Sapienza, Rome, Italy; ⁵U.O.C. Genetica Medica, Institute of Giannina Gaslini, Genova, Italy; ⁶Dept. of Electrical Engineering and Information Technology, University of Naples "Federico II", Napoli, Italy.
(FFC#2/2014, In progress)



Alberto Luini, quinto da sinistra, e il suo gruppo di giovani ricercatori

Background. Cystic fibrosis (CF) is a frequent and lethal genetic disease caused by mutations associated with the CF transmembrane regulator (CFTR), a chloride channel located in the apical membrane of epithelial cells lining the ducts. In nearly 70% of the CF patients, the mutation involved is a deletion of phenylalanine at position 508 of the protein (DFCFTR). The mutant protein cannot fold properly leading to its intracellular retention and degradation. Pharmacological screening approaches have identified small molecule "correctors" (which promote a modest level of DF-CFTR arrival at the plasma membrane), some of which are in clinical trials. Unfortunately, their mode of action is not known.

Hypothesis and objectives. We proposed to develop a ra-

tional basis for the pharmacological correction of DF-CFTR defects, by characterizing the mechanism of action of correctors, to identify molecular components and pathways involved in the correction and then targeting them by efficient ways.

Essential methods. We developed a novel bioinformatic method that we termed Fuzzy intersection of transcriptomes (FIT) to identify genes that commonly regulated by a set of drugs. We used this method to identify genes that are modulated by many of the corrector drugs (we analyzed the transcription profiles of 23 corrector drugs) to achieve their corrective action. These genes were then validated experimentally for their action on regulating DF-CFTR proteostasis.

Preliminary results. By using the FIT algorithm on the transcriptional profiles of 23 corrector drugs we arrived a set of 621 genes (219 downregulated and 402 upregulated genes) that we termed correction-relevant (CORE) genes. Out of these we selected 108 genes (based on bioinformatic criteria) to validate experimentally. Of these genes we found 47 to be active in regulating DF-CFTR proteostasis. These 47 genes were then arranged into potential signalling pathways based on KEGG pathway and STRING database, resulting in 8 signalling pathways/networks. Of these we further characterized one pathway that had as the central component MLK3. The known upstream and downstream kinases of the MLK3 pathway were validated experimentally to arrive at the MLK3 pathway that controls the proteostasis of DF-CFTR. The mechanism of MLK3 action on DF-CFTR proteostasis was then analyzed and we found that MLK3 pathway controls the endoplasmic reticulum associated degradation of DF-CFTR and also the plasma membrane quality control of DF-CFTR. Additionally small-molecule mediated inhibition of the MLK3 pathway was observed to potently rescue DF-CFTR and thus suggesting a potential pharmacological approach to the correction of DF-CFTR.

Expected results and their significance. A rational pharmacological basis of correction of DF-CFTR will be provided and potential novel, efficient and specific small molecule reagents that correct the basic defect of DFCFTR will be identified.

Un approccio razionale nello sviluppo di nuovi farmaci per il trattamento della fibrosi cistica

Introduzione. La Fibrosi Cistica (CF) è una malattia genetica rara e letale causata da mutazioni associate alla proteina (CFTR), localizzata sulla membrana apicale delle cellule epiteliali, la cui funzione è quella di regolare gli scambi dello ione cloro. In quasi il 70% dei pazienti la mutazione coinvolta è una delezione dell'aminoacido fenilalanina nella posizione 508 della proteina (F508del-CFTR). La proteina mutata non riesce a ripiegarsi correttamente con conseguente ritenzione intracellulare della stessa e successiva degradazione. Approcci di screening farmacologici hanno portato all'identificazione di piccoli "composti correttori" (che promuovono l'arrivo di una modesta quantità di proteina F508del-CFTR alla membrana plasmatica), alcuni dei quali sono in clinical trials. Sfortunatamente il loro meccanismo d'azione è ancora sconosciuto.

Ipotesi ed obiettivi. La nostra proposta è quella di individuare le basi razionali del trattamento farmacologico, per la correzione dei difetti associati alla DF-CFTR, mediante caratterizzazione del meccanismo d'azione di questi composti correttori. L'obiettivo è quello di rendere più specifico ed efficiente il loro utilizzo.

Metodi. Abbiamo sviluppato un innovativo approccio bioinformatico, denominato Fuzzy intersection of transcriptomes (FIT), in grado di identificare quei geni la cui funzione è regolata da un gruppo di "composti". Mediante tale approccio abbiamo analizzato i profili trascrizionali di 23 composti correttori al fine di valutare la loro azione. Questi geni sono stati, in seguito, validati sperimentalmente per osservare la

loro capacità nel regolare la proteostasi della F508del-CFTR.

Risultati preliminari. Analizzando i profili trascrizionali dei 23 composti correttori, mediante l'algoritmo FIT, siamo arrivati ad un set di 621 geni (219 dei quali sono downregolati e gli altri 402 upregolati) che abbiamo denominato geni rilevanti per la correzione (CORE). Di questi abbiamo selezionato 108 geni (in base a criteri bioinformatici) per convalidarli sperimentalmente. Tra i 108 geni esaminati ne abbiamo trovato 47 che sono attivi nel regolare la proteostasi della F508del-CFTR. Questi 47 geni sono stati organizzati in potenziali vie di trasduzione del segnale, basati sulla via di KEGG e sulla banca dati "STRING", portando all'individuazione di 8 vie/reti di trasduzione del segnale. Di questi, abbiamo ulteriormente caratterizzato una via che ha come elemento centrale MLK3. Le proteinchinasi conosciute, che si trovano a monte e valle nella via di MLK3, sono state validate sperimentalmente per delineare l'MLK3-pathway che controlla la proteostasi della F508del-CFTR. Abbiamo quindi analizzato il meccanismo d'azione della MLK3 sulla proteosiasi ed abbiamo trovato che questa via controlla sia la degradazione della proteina F508del-CFTR associata al reticolo endoplasmatico che la funzione "controllo-qualità" della stessa associata alla membrana plasmatica. In più l'inibizione della via di MLK3, mediante l'uso di piccole molecole, ha portato ad un forte recupero del fenotipo F508del-CFTR suggerendo un potenziale approccio farmacologico nella correzione del difetto legato alla mutazione della proteina CFTR.

Risultati attesi e loro significato. Il nostro intento è quello di utilizzare i risultati ottenuti per trovare e fornire una spiegazione razionale alla base del trattamento farmacologico, al fine di identificare quei composti che, in modo efficiente e specifico, siano in grado di correggere il difetto legato alla F508del-CFTR.

44. A kinase-directed approach to rescue functionality of F508del CFTR

Venerando A¹, Villella VR², Cozza G¹, Esposito S², Maiuri L², Pinna LA¹

¹Department of Biomedical Sciences, University of Padova, Italy; ²European Institute for Research in Cystic Fibrosis (IER-FC), Milan, Italy (FFC#7/2014, In progress)



Andrea Venerando, a destra nella foto a sinistra, e Valeria Rachela Villella, dell'unità Partner (foto a destra)

Background. CFTR F508 deletion (F508del) is the by far commonest mutation causative of Cystic Fibrosis (CF). F508delCFTR undergoes premature degradation subverting proteostasis regulation and generating fragments which have the potential to up-regulate the protein kinase CK2 that, in turn, can favour CFTR fragmentation and reduce CFTR stability.

Hypothesis & Objectives. The project provide the rationale and proof-of-concept for the design of an original and novel therapeutic strategy that restores CFTR channel func-

tion by targeting the specific context in which the mutant CFTR channel fails to traffic to the cell surface. Because, unlike Pharma/other academic groups, it focuses on the derailed CF proteostatic environment that is driven by the mutant channel, our strategy induces a selfsustained positive loop that ameliorates the CF phenotype by dampening overactive CK2 and inhibiting protein cross linking that blocks autophagy. The workflow is summarized in the following tasks: 1) Identification and functional characterization of endogenous CK2 targets whose phosphorylation is altered by F508del-CFTR; 2) In vivo confirmation of the CK2/CFTR functional link; 3) Analysis of known kinase modulators as a new class of molecules useful to rescue/stabilize F508del-CFTR; 4) In vivo validation of CK2/protein kinases modulators as reagents able to rescue CF phenotypes.

Essential Methods. In vitro and in vivo models of CF will be used to test whether treatment of CF cells as well as CF mice with potential CK2 modulators are able to play a role in the process leading to premature degradation of F508del-CFTR.

Preliminary results. This strategy has already shown promise by using two drugs, cysteamine and epigallocatechingallate, to reverse the key features of the disease. Phosphorylation level of lysates from human bronchial epithelial cells that express F508del-CFTR (CFBE) is higher than that obtained with lysates from 16-HBE cells. Moreover, the pharmacological inhibition of protein kinase CK2 prolongs the rescue effect of cysteamine after its washout

Expected Results & their Significance. Refining existing leads through a target-driven drug discovery approach thus identifying old/new and more efficacious compounds (or combination of compounds), either already approved drugs or new molecules with a known safety profile, which favours a better and longer rescue of mutant CFTR.

Un approccio chinasi-diretto per ristabilire la funzionalità di F508delCFTR

Ragioni dello studio. La mancanza di un amminoacido nella proteina CFTR (F508delCFTR) è la causa più comune della Fibrosi Cistica (FC). La proteina F508delCFTR viene degradata alterando la regolazione della proteostasi cellulare. I suoi frammenti aumentano l'attività delle protein chinasi, in particolare CK2, che a sua volta riducono la stabilità di CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Il progetto fornisce un razionale per una strategia terapeutica originale che ristabilisce la funzione della proteina CFTR andando a colpire lo specifico contesto in cui F508delCFTR non riesce a raggiungere la superficie della cellula dove svolge la sua normale funzione. A differenza di altri approcci, il nostro si focalizza sull'ambiente cellulare modificato causato da F508delCFTR. La nostra strategia innesca un circolo virtuoso che migliora il quadro clinico CF "spegnendo" l'enzima CK2 e inibendo le proteine che sono coinvolte in questo processo. Gli obiettivi si possono riassumere in: 1) Identificazione e caratterizzazione funzionale di quei substrati di CK2 la cui fosforilazione è alterata dalla presenza di CFTR mutato; 2) Conferma in vivo della relazione funzionale tra CK2 e CFTR; 3) Analisi di noti composti che modulano CK2 utilizzandoli come una nuova classe di molecole utili a recuperare/stabilizzare la proteina F508del-CFTR; 4) Validazione in vivo di questi modulatori dell'attività CK2 (o di altre chinasi) come farmaci capaci di recuperare fenotipi FC.

Metodi. Saranno utilizzati modelli di FC in vitro e in vivo per studiare in che modo il trattamento di cellule o topi FC con potenziali modulatori di CK2 siano capaci di intervenire nel processo che porta alla degradazione della proteina F508delCFTR.

Risultati preliminari. Questa nostra strategia si è già dimostrata promettente con l'uso di due molecole, cisteamina ed epigallocatechingallato, che sono capaci di contrastare gli

aspetti essenziali della malattia. Il livello di fosforilazione in cellule epiteliali bronchiali umane che esprimono F508del-CFTR (CFBE) è più alto rispetto a cellule sane (16-HBE). Inoltre l'inibizione farmacologica della protein chinasi CK2 allunga i tempi di efficacia della cisteamina.

Risultati attesi e loro significato. Ci auspiciamo un perfezionamento dei composti già testati attraverso un approccio computazionale bersaglio-diretto in modo da identificare composti già esistenti e di rapido utilizzo che favoriscano un migliore e più duraturo recupero della proteina F508delCFTR.

New diagnostic proposals

45. Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for Cystic Fibrosis and CFTR related-disorders

Castaldo G

CEINGE-Biotecnologie avanzate, Napoli
(FFC#7/2013, Concluded)



Giuseppe Castaldo, al centro, con collaboratori di ricerca

Background. CFTR gene sequencing enhances the detection rate of molecular analysis but it frequently identifies mutations of uncertain significance for which it is difficult to define the pathogenic role without complex functional studies that require *in vitro* expression of the mutation.

Hypothesis and objectives. Set up and validate the sampling, culture and analysis of nasal epithelial cells using a series of techniques to study the effect of mutations in a novel "ex-vivo" model specifically obtained from the patient bearing the novel mutation.

Methods. Nasal brushing. The project was approved by the Ethical Committee of the University Federico II (Naples). After nasal washings with physiological saline, nasal brushing was performed by a soft sterile interdental brush with 2.5 to 3 mm bristles (Paro-Isola) scraping along the middle portion of the inferior turbinate. Culture of nasal cells. The sample was cultured in serum-free bronchial epithelial cell growth medium BEGM (Clonetechs). At confluence of 60%, cells were passed in new flasks after count using Invitrogen (Italy) Cell Countess. Trypan blue test was used to establish total viable cells number and the percentage of viability. RT-PCR was used for quantitative analysis of CFTR mRNA to test the effect of mutations that potentially impair gene expression. RT-PCR followed by electrophoresis was used to test the effect of splicing mutations. Quantitative analysis of CFTR channel activity was performed by the halide-sensitive fluorescent system.

Results. Using nasal epithelial cells from patients, we analyzed:

- 9 mutations within the large promoter region of CFTR defining, for 6 of them, the pathogenic role.
- 15 mutations within the exon-intron boundaries of CFTR and defined the pathogenic role for 10 of them.
- the level of CFTR gating activity of 12 mutations assessing the level of the residual protein activity and correlating such data to the clinical expression.

Furthermore, combining the study on nasal epithelial cells with the *in vitro* expression analysis we defined the pathogenic role of three common complex alleles and studied genotype-phenotype correlations in 20 patients with such genotypes. Finally, we defined cut-off values for quantitative CFTR channel activity useful to discriminate between carriers and CF patients and to distinguish "severe" from "mild" mutations.

Spin-off for research & clinical purposes. Nasal epithelial cells is a scarcely invasive and low cost approach that can be routinely used to: i) define the pathogenic role of CFTR mutations of uncertain significance; ii) analyze the gating activity of CFTR to predict the severity of the disease; iii) test the effect of drugs on the gating activity of CFTR.

Cellule epiteliali nasali: un nuovo approccio per la diagnosi di fibrosi cistica e delle forme atipiche

Ragioni dello studio. Il sequenziamento del gene *CFTR* viene eseguito sempre più spesso per identificare le mutazioni responsabili di Fibrosi Cistica o di forme atipiche della malattia. È una tecnologia molto sensibile, tuttavia a volte identifica mutazioni nuove e per stabilirne l'effetto sul paziente si dovrebbe ricorrere a studi *in vitro* molto complessi e costosi.

Ipotesi ed obiettivi. Sviluppare e validare la tecnica del prelievo e della coltura delle cellule di epitelio nasale per poter studiare direttamente sulle cellule del singolo paziente l'effetto di nuove mutazioni.

Metodi. *Brushing nasale.* Il progetto è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università Federico II di Napoli. Il paziente effettua dei lavaggi nasali con soluzione salina nei giorni precedenti il prelievo. Quindi, viene sottoposto al prelievo mediante un piccolo spazzolino inserito nella narice e, mediante un leggero spazzolamento, si ottengono le cellule. *Cultura delle cellule nasali.* Per ottenere un numero sufficiente di cellule per l'analisi, esse vengono messe in coltura in mezzi dedicati; dopo alcuni giorni si controlla che le cellule si siano moltiplicate in modo adeguato e quindi sono pronte per l'analisi.

RT-PCR: questa tecnica viene usata per studiare l'effetto di mutazioni nelle regioni regolatorie del gene, che potrebbero far diminuire la sintesi della proteina CFTR. *RT-PCR seguita da elettroforesi:* questa tecnica viene usata per studiare mutazioni che possono far sintetizzare una proteina anomala, che contiene alcune regioni aggiuntive. *Analisi quantitativa dell'attività del canale CFTR mediante "halide-sensitive fluorescent system":* questa tecnica viene usata per misurare, sulle cellule, il grado di funzionalità della proteina CFTR.

Risultati. Utilizzando il modello delle cellule di epitelio nasale da paziente abbiamo analizzato: 9 mutazioni nella regione del promotore (una parte del gene che serve a regolare la sua attività e quindi a stabilire quanta proteina deve essere prodotta), per 6 di queste abbiamo stabilito che sono responsabili di malattia; 15 mutazioni che si trovano ai confini tra le zone codificanti e non codificant del gene, e che possono alterare lo splicing, cioè fanno sintetizzare una proteina più lunga del normale, che in genere non funziona. Per 10 di queste mutazioni abbiamo stabilito che sono responsabili di malattia; il livello di attività della proteina CFTR associato

a 12 mutazioni stabilendo, per ciascuna di esse, il grado di alterazione della proteina (correlando questi dati al grado di severità della malattia).

Inoltre abbiamo studiato tre "alleli complessi" abbastanza diffusi, cioè casi in cui sono presenti due o tre mutazioni (invece di una) sullo stesso cromosoma, stabilendo il grado di compromissione della proteina in questi pazienti. Infine abbiamo sviluppato un sistema quantitativo di analisi della funzione della proteina CFTR che può servire a distinguere tra portatori e pazienti, nonché a prevedere il grado di severità della malattia in base all'attività residua della proteina mutata.

Possibili ricadute per la ricerca. Il modello delle cellule di epitelio nasale da paziente è un sistema poco invasivo e poco costoso che potrà essere impiegato nella routine per: a) stabilire l'effetto di nuove mutazioni; b) analizzare l'attività residua della proteina CFTR mutata e contribuire a prevedere la gravità della malattia; c) valutare l'effetto di nuovi farmaci che potrebbero correggere o potenziare la proteina CFTR prima di sperimentarli sull'uomo.

46. Testing CFTR in epithelial organoids for drug development and diagnosis of cystic fibrosis

Caldrer S¹, Vercellone S¹, Sandri A, SoriO C¹, Rodella L³, Cerofolini A³, Lombardo F³, Catalano F³, Bernardoni L⁴, Buffelli M⁵, de Jonge H⁶, Assael B, Melotti P²

¹Medicine Dpt., Cystic Fibrosis Translational Research Lab Lissandrini, Univ, Verona; ²Cystic Fibrosis Center, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona, Italy; ³Endoscopic Surgery Unit, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, Italy; ⁴Gastroenterology & Digestive Endoscopy, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, Italy;

⁵Neurological & Movement Sciences, Physiology Sect. Univ, Verona, Italy; ⁶Gastroenterology & Hepatology, Erasmus Univ. Medical Center, Rotterdam, NL (FFC#3/2014, Concluded)



Paola Melotti, a sinistra, con il Partner di progetto Hugo de Jonge

Background. In vivo and ex vivo measurements of CFTR function in human cells and tissues is required for screening and monitoring new therapies and phenotyping controversial CFTR genotypes. We set up a technique enabling intestinal stem cells to expand into closed organoids containing crypt-like structures and an internal lumen lined by differentiated cells (Sato et al Gastroenterology 2011) for measuring CFTR function. 2011).

Hypothesis and objectives. This quantitative method could be useful to detect the effects of CFTR genetic variants/rare mutations as well as of drugs targeting specific CFTR. The combination with other functional tests could support controversial diagnosis and drug development.

Methods. Organoids, obtained from intestinal biopsies of CF and non CF subjects, were processed and tested as reported (J.F. Dekkers et al. Nature Medicine, June 2013).

We isolated organoids from 29 subjects (16 males and 13 female): 14 healthy donors and 15 patients affected by CF. Nasal Potential Differences (NPD) and Intestinal Currents measurements (ICM) were performed according to the ECFS SOPs. The membrane depolarization assay was performed on monocytes (Sorio C, et al. PLoS One. 2011).

Results. In non-CF organoids swelling was significantly enhanced following treatment with the potentiator Ivacaftor (VX770) and was completely blocked by the CFTR (inh)-172. Remarkably, in organoids from a CF patient carrying the W1282X/R117H CFTR genotype we observed swelling following exposure for 24h to the premature termination corrector Ataluren (PTC124). We also performed membrane depolarization assay in monocytes and detected restoration of CFTR function following 24h exposure to correctors alone or in combination with potentiators as VX770. ICM results were consistent with organoids swelling.

Spin-off for research & clinical purposes. This study proposes a combination of CFTR functional assays in several human tissues aiming at supporting diagnosis, new drugs development and monitoring of individual patients. This individualized approach can be developed for predicting as well as for monitoring effects of new drugs.

Studio del canale CFTR su strutture tridimensionali epiteliali per lo sviluppo di farmaci la diagnosi della fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Le misurazioni in vivo ed ex vivo della funzione CFTR nelle cellule e tessuti umani possono essere utilizzate per lo screening e il monitoraggio di nuove terapie oltre che e per la caratterizzazione di soggetti con diagnosi di Fibrosi Cistica (FC) controverse. Da cellule staminali intestinali abbiamo sviluppato strutture sferoidali definite organoidi con cavità interna rivestita da cellule epiteliali (Sato et al Gastroenterology, 2011) per misurare la funzione del canale cellulare difettoso in FC (CFTR) al fine di individuare effetti di mutazioni genetiche rare e di nuovi farmaci.

Ipotesi e obiettivi. Questo test quantitativo per misurare la funzione CFTR in organoidi potrebbe essere utile per rilevare l'effetto ex-vivo di varianti genetiche / mutazioni rare di CFTR, così come per valutare gli effetti farmaci per il difetto di base.

Metodi. Organoidi da biopsie intestinali di 15 soggetti CF e 14 non-CF sono stati valutati (J.F. Dekkers et al. Nature Medicine, 2013) con risultati sovrapponibili a quelli ottenuti negli stessi pazienti in mucosa nasale ed intestinale, cellule del sangue (Sorio C, et al. PLoS ONE. 2011).

Risultati. Il rigonfiamento degli organoidi non CF è reso possibile dall'attività della proteina CFTR e notevolmente aumentato dopo il trattamento con il potenziatore Ivacaftor (VX770); invece è viene completamente bloccato da un inibitore specifico del canale CFTR (inibitore -172). In organoidi di un paziente CF con mutazioni W1282X / R117H abbiamo ripristinato il rigonfiamento (non evidente in FC per malfunzionamento di CFTR) utilizzando per 24 ore Ataluren (PTC124), farmaco attivo su mutazioni stop (nonsense) che interrompono precocemente la produzione della proteina CFTR. Anche nei monociti abbiamo recuperato la funzione CFTR in seguito all'esposizione per 24h a correttori di CFTR utilizzati da soli o in combinazione con VX770. Inoltre la combinazione di test della funzione di CFTR effettuati in diversi tessuti ha facilitato diagnosi controverse.

Ricadute per ricerca e clinica. Questo studio combina saggi relativamente semplici e robusti in diversi tessuti e propone un esempio di possibile applicazione individuale come supporto per la diagnosi. Questo studio quindi propone la cooperazione di saggi funzionali volti a sostenere la diagnosi, lo sviluppo di nuovi farmaci e il monitoraggio dei singoli pazienti.

Advances in clinical microbiology

47. Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiome based therapy

Bevvino A¹, Mengoni A², Taccetti G³, Fiscarelli EV⁴, De Alessandri A⁵

¹ENEA Casaccia Research Center, Rome, Italy; ²University of Florence, Department of Biology, Florence, Italy; ³Cystic Fibrosis Center, Meyer Hospital, Florence, Italy; ⁴Cystic Fibrosis Center, Gaslini Hospital, Genoa, Italy; ⁵Children's Hospital and Research Institute Bambino Gesù, Rome, Italy (FFC#10/2014, Concluded – FFC#14/2015, New)



Annamaria Bevvino, terza da destra, con partner e collaboratori di ricerca

Background. Cystic fibrosis (CF) is characterized by a progressive decline in lung function. Despite antibiotic treatment, patients with CF may show a rapid and severe decline in lung function. In the previous project (FFC#8/2012), we found changes in CF airway microbiota associated with a severe decline in lung function (Paganin, Fiscarelli et al. PLoS ONE 10(4): e0124348). Moreover a large set of metagenomic and metabarcoding data were produced allowing to identify additional novel biomarkers for factors responsible for the seriously decline in lung function.

Hypothesis and objectives. The starting hypothesis is that a number of hidden pathogens/biomarkers from non-cultivable bacteria may be present in patient's airways of cystic fibrosis and could be used as predictive markers of severe decline in lung function, allowing earlier intervention and improving health care treatment of CF patients. The main objectives of the study, which follows a pilot project supported by the FFC (FFC#8/2012) are: i) to characterize the airway microbiome of substantial decliners (SD) and stable (S) patients with CF, by bioinformatics analysis of airway metabarcoding and metagenomic sequences obtained in the previous project; ii) to identify additional biomarkers (non-cultivable pathogens and gene functions) of the serious decline in lung function; iii) to characterize the changes over time in the composition of the airway microbiome of S and SD patients.

Methods. This is a two steps project: 1. Bioinformatic analysis with ad-hoc pipelines softwares of Next Generation Sequencing (NGS) data (16S rRNA metabarcoding and full-genome shotgun metagenomics analysis) obtained in the previous project (FFC#8/2012). 2. Beginning of a longitudinal metagenomic study where specific individual patients will be followed at regularly scheduled CF clinic visits at 2-months intervals.

Results. A sharp difference in the structure and composition of airway microbiota between S and SD patients was found, especially in patients with severe lung disease, where *Pseudomonas* represented the most abundant genus. A co-occurrence network analysis showed that microbial communities were less complex in SD patients than in S ones. Moreover, an inverse relationship between bacterial community diversity and disease severity was found. Additionally significant differences in antibiotic resistance genes and metabolic pathways of the microbiome between normal/mild and severe lung disease FEV₁ groups were found.

Spin-off for research and clinical purpose. The analysis of the meta-community dynamics can give us a set of tools to unlock the potential of microbiome-based personalized medicine in major disease areas including CF.

Indagine del microbioma delle vie aeree nei pazienti con fibrosi cistica che presentano un severo declino della funzione polmonare: un'opportunità per una terapia personalizzata basata sul microbioma

Per "microbioma" delle vie aeree dei pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) si intende l'insieme dei microrganismi e dei loro genomi che coesistono nelle vie respiratorie dei pazienti FC.

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica è caratterizzata da un progressivo declino della funzione polmonare. Alcuni pazienti FC possono presentare, nonostante il trattamento terapeutico convenzionale, un declino più rapido e una diminuzione più severa della funzione respiratoria. Nel corso del precedente progetto (FFC#8/2012), è stato dimostrato che il microbiota presente nelle vie aeree dei pazienti FC cambia con il peggioramento della funzione polmonare (Paganin, Fiscarelli et al. PLoS ONE 10(4): e0124348).

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi di partenza è che un certo numero di agenti patogeni nascosti /biomarcatori possano essere presenti nelle vie aeree dei pazienti FC e possano essere utilizzati come marcatori predittivi del severo declino della funzione polmonare, permettendo un intervento precoce e migliorando il trattamento terapeutico dei pazienti FC. I principali obiettivi dello studio, che fa seguito al progetto pilota (FFC#8/2012) sono: i) caratterizzare il microbioma delle vie respiratorie in pazienti FC con un severo declino della funzione polmonare (SD) e in pazienti FC stabili (S), mediante analisi bioinformatica delle sequenze di metabarcoding e metagenomiche ottenute nel corso del progetto FFC #8/2012; ii) identificare nuovi biomarcatori (microrganismi e geni che li caratterizzano) associati al severo declino della funzione polmonare; iii) caratterizzare le variazioni nel tempo nella composizione delle comunità microbiche del tratto respiratorio di pazienti S e SD.

Metodi. Il progetto si sviluppa in due fasi: 1. Analisi bioinformatica dei dati di sequenziamento ultramassivo ottenuti nel corso del precedente progetto. 2. Inizio di uno studio longitudinale che prevede l'analisi metagenomica di campioni seriali di sputo da pazienti SD and S seguiti a intervalli regolari di due mesi.

Risultati. L'analisi bioinformatica ha rilevato una netta differenza nella struttura e composizione dei microbiomi dei pazienti S e SD, con le maggiori differenze tra i pazienti con una malattia polmonare severa, nei quali *Pseudomonas* rappresenta il genere più abbondante. Nei pazienti S è presente un microbioma con una maggiore diversità microbi-

ca e un maggiore grado delle interconnessioni tra le specie microbiche rispetto ai pazienti SD. Inoltre, è stato osservato che la diversità microbica diminuisce con l'aumentare della severità della funzione polmonare. Infine, l'analisi metagenomica ha rivelato una differenza significativa dei geni legati all'antibiotico resistenza e un differente arricchimento dei geni coinvolti in alcuni pathway metabolici tra i pazienti con un differente grado di severità polmonare.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. L'analisi dell'intero microbioma e l'identificazione di biomarcatori può fornire un set di strumenti per approcci futuri di medicina personalizzata basata sul microbioma in importanti malattie quali la FC.

48. Anti-virulence therapy against *Pseudomonas aeruginosa*: identification of antibiofilm drugs and development of inhalable Niclosamide and Flucytosine formulations

Leoni L¹, Ungaro F², Imperi F³, Ficarelli E⁴

¹University Roma Tre, Rome; ²University of Naples "Federico II"; ³Sapienza University of Rome; ⁴Children's Hospital "Bambino Gesù", Rome (FFC#10/2013, Concluded)



Livia Leoni, quarta da sinistra, con partner e collaboratori di ricerca

Background. Early aggressive and maintenance antibiotic therapies prolong cystic fibrosis (CF) patient life, but are not able to eradicate *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. Anti-virulence drugs represent a promising therapeutic option in CF. These drugs could alleviate the severity of the infection, reduce lung inflammation, and help antibiotics in eradicating the *P. aeruginosa* infection. The long times and high costs required for the development of "brand new" anti-virulence drugs can be saved by repurposing "old" drugs already used in humans for different diseases. We have recently shown that the antimycotic drug flucytosine and the anthelmintic drug niclosamide can be repurposed to suppress *P. aeruginosa* virulence in vitro and in animal models of infection. However, the old drugs need to be reformulated for the new application in CF therapy.

Hypothesis and objectives. 1) To develop and validate inhalable formulations of flucytosine and niclosamide for CF therapy. 2) To discover additional drugs with anti-virulence activity against *P. aeruginosa*.

Essential Methods. Inhalable formulations of flucytosine and niclosamide have been developed through the adequate combination of available technologies and excipients for inhaled drugs and characterized in vitro and in vivo for their activity and toxicity.

Bioluminescent-based biosensors targeting the GacS-GacA system and the c-di-GMP system of *P. aeruginosa*, crucial for biofilm development, have been used for the screening of 1600 "old" drugs.

Results. 1) Flucytosine and niclosamide inhalable formulations have been successfully developed. These formulations are: i) active against *P. aeruginosa* strains isolated from CF patients; ii) easily delivered through advanced nebulizers and breath-actuated dry powder inhalers available to CF patients for drug inhalation; iii) display low toxicity in vitro and in animal models. Flucytosine administered as inhalable liquid formulation is active in protecting mice from the *P. aeruginosa* lung infection. Further experiments in animal models of infection aimed at testing the developed flucytosine dry powder for inhalation and the inhalable niclosamide liquid formulation are in progress. 2) The screening with the biosensors described above gave no promising results.

Spin-off for research & clinical purposes. 1) The efficacy of flucytosine and niclosamide formulations needs to be confirmed by the on going studies in animal infection models before starting phase I clinical trials.

Terapie anti-virulenza contro *Pseudomonas aeruginosa*: identificazione di farmaci anti-biofilm e sviluppo di formulazioni inalatorie di Niclosamide e Flucitosina.

Ragioni dello studio. L'infezione polmonare cronica causata da *Pseudomonas aeruginosa* nelle persone con fibrosi cistica (FC) non può essere eliminata con gli antibiotici, soprattutto a causa della formazione di biofilm.

Una promettente strategia anti-*pseudomonas* prevede l'utilizzo di farmaci "anti-virulenza", che inibiscono la capacità del batterio di causare infezione e formare il biofilm. Lo sviluppo ex novo di un farmaco anti-virulenza richiede tempo e costi, che possono essere in parte risparmiati identificando una nuova attività collaterale anti-virulenza in medicinali già usati per la cura di altre malattie. In precedenza abbiamo dimostrato che i farmaci flucitosina e niclosamide, rispettivamente usati contro le micosi ed i vermi intestinali, inibiscono la virulenza di *P. aeruginosa*.

Ipotesi ed obiettivi. 1) Sviluppo e validazione di formulazioni inalabili di flucitosina e niclosamide adatte alla terapia FC. 2) identificazione di "nuove" attività anti-biofilm in "vecchi" farmaci.

Metodi. 1) Sviluppo di formulazioni inalabili di flucitosina e niclosamide, in forma liquida o in polvere, rispondenti agli standard di qualità imposti dall'attuale normativa europea. 2) Utilizzo di biosensori bioluminescenti per l'identificazione di nuove attività anti-biofilm in una collezione di 1600 farmaci già usati nell'uomo per la cura di altre malattie.

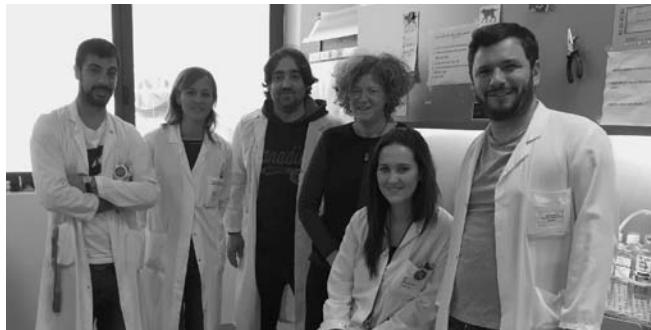
Risultati. 1) Esperimenti in modelli *in vitro* ed in modelli animali hanno dimostrato che le formulazioni di flucitosina e niclosamide: i) possono essere somministrate attraverso i dispositivi per inalazione comunemente impiegati dai pazienti FC; ii) non mostrano effetti tossici in acuto; iii) sono attive contro ceppi di *P. aeruginosa* isolati da pazienti FC. L'efficacia di una formulazione liquida per aerosol di flucitosina è stata dimostrata in un modello animale di infezione polmonare. Le formulazioni in polvere di quest'ultima, come anche le formulazioni liquide per l'inalazione di niclosamide, sono attualmente in corso di studio nello stesso modello di infezione. 2) I biosensori utilizzati hanno identificato una potenziale attività contro il biofilm di *P. aeruginosa* in alcuni farmaci. Tuttavia, tale attività non è abbastanza elevata per inibire efficacemente il biofilm.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Se l'attività anti-*Pseudomonas* delle formulazioni inalatorie di flucitosina e niclosamide sviluppate in questo progetto fosse ulteriormente validata in modelli di infezione animale, si potrebbe passare rapidamente agli studi clinici.

49. Infections in cystic fibrosis patients: effect of PTX3 genetic variants on endogenous PTX3 production and function

Garlanda C¹, Jaillon S¹

¹Fondazione Humanitas per la Ricerca, Rozzano, Milano
(FFC#15/2014, Concluded)



Cecilia Garlanda, terza da destra, con collaboratori di ricerca

Background. PTX3 is a component of innate immunity involved in resistance to infections. In previous research projects funded by Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica, our group demonstrated the therapeutic potential of PTX3 in *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus fumigatus* infections and showed that specific PTX3 genetic variants are associated to *P. aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients and in *A. fumigatus* infection. Both in infectious and inflammatory conditions, PTX3 behaves as a potential diagnostic and prognostic biomarker. PTX3 is under development for the transfer to the clinic as therapeutic tool for opportunistic infections and as diagnostic/prognostic marker in inflammatory conditions.

Hypothesis and objectives. The main objectives were to investigate whether PTX3 plasma levels and PTX3 production by leukocytes could represent a novel diagnostic and prognostic marker of inflammation and infection in CF patients and/or a marker of defective functional activity of leukocytes.

Essential methods. PTX3 levels were analysed in plasma and breath samples of CF patients and in monocytes in response to LPS stimulation.

Results. PTX3 plasma levels were analysed in *P. aeruginosa* infected CF patients at admission to the hospital for revaluation and antibiotic treatment, and end of hospitalization. Results obtained indicate that PTX3 levels were increased in all patients, in comparison to the value considered normal in healthy donors, however, the analysis did not reveal statistical significant associations between PTX3 levels and clinical parameters. In only one patient PTX3 levels were below the normal value (2 ng/ml) both at admission and discharge, suggesting defective PTX3 production. PTX3 levels were not detectable in breath samples. The analysis of the production of PTX3 and IL-8 by monocytes collected from CF patients showed that most patients (7/9) poorly responded to LPS and did not produce increased levels of PTX3 upon stimulation. Unresponsiveness to LPS also included the production of IL-8 in 4 out of 9 patients. These results are in agreement with previous studies suggesting a state of tolerance to LPS of CF monocytes.

Spin-off for research & clinical purposes. The analysis of PTX3 plasma levels is potentially useful in identifying defective production of PTX3 in CF patients and improving the transfer to the clinic of PTX3 as therapeutic molecule.

Infezioni nei pazienti con fibrosi cistica: analisi della produzione di PTX3 *in vivo* e *in vitro*.

Ragioni dello studio. PTX3 è una molecola dell'immunità

innata coinvolta nella resistenza alle infezioni. Nei progetti di ricerca precedenti finanziati dalla Fondazione Fibrosi Cistica il nostro gruppo ha dimostrato il potenziale terapeutico di PTX3 nelle infezioni causate da *Pseudomonas aeruginosa* e *Aspergillus fumigatus* e ha dimostrato che specifiche varianti genetiche di PTX3 sono associate a infezioni nei pazienti con fibrosi cistica (FC). PTX3 è in fase di sviluppo per il trasferimento alla clinica come strumento terapeutico per infezioni opportuniste e come marcatore diagnostico e prognostico in condizioni infiammatorie.

Ipotesi e obiettivi. Gli obiettivi principali erano di indagare se i livelli plasmatici di PTX3 e la produzione di PTX3 nei leucociti circolanti possono rappresentare un marcatore diagnostico e prognostico di infiammazione e infezione nei pazienti con FC o di attività funzionale difettiva dei leucociti.

Metodi. Livelli di PTX3 sono stati analizzati in campioni di plasma e nei monociti in risposta alla stimolazione microbica *in vitro*.

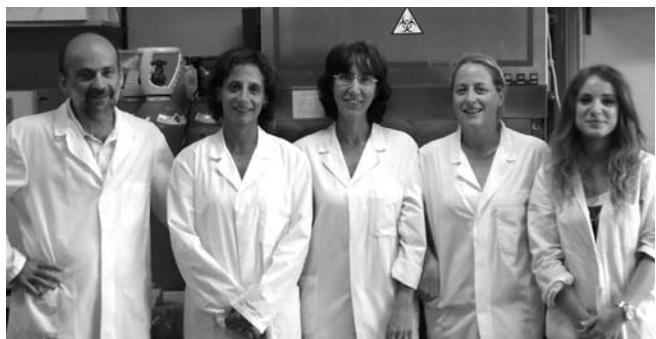
Risultati. I livelli plasmatici PTX3 sono stati analizzati in pazienti FC infettati da *P. aeruginosa* al momento del ricovero in ospedale per la rivalutazione e il trattamento antibiotico e alla dimissione. I risultati ottenuti indicano che i livelli di PTX3 sono aumentati in tutti i pazienti, in confronto al valore considerato normale in donatori sani, tuttavia, l'analisi non ha rivelato significative associazioni statistiche tra i livelli PTX3 e i parametri clinici. In un solo paziente i livelli di PTX3 erano inferiori al valore normale al momento del ricovero e alla dimissione, cosa che suggerisce una produzione difettosa di PTX3. L'analisi della produzione di PTX3 e della molecola IL-8 nei monociti raccolti da pazienti FC ha dimostrato che la maggior parte dei pazienti rispondono scarsamente ad una stimolazione microbica, producendo bassi livelli di PTX3 o di IL-8. Questi risultati sono in accordo con precedenti studi che suggeriscono che i monociti dei pazienti FC sono in uno stato di tolleranza verso molecole microbiche.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. L'analisi dei livelli plasmatici di PTX3 è potenzialmente utile per identificare una produzione difettiva di PTX3 in pazienti FC e migliorare il trasferimento alla clinica di PTX3 come molecola terapeutica nelle infezioni opportuniste dei pazienti FC.

50. Targeting extracellular Protein Disulphide Isomerase to control *Burkholderia cenocepacia* lung infections

Pacello F

Dip. di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata"
(FFC#13/2014, In progress)



Francesca Pacello, al centro, assieme ai ricercatori che collaborano al progetto

Background. We have shown that the interaction between *Burkholderia cenocepacia* and lung epithelial cells is mediated by redox sensitive enzymes of the protein disulphide isomerase (PDI) family, in particular by ERp57. In fact, either

thiol reactive agents (DTT, GSH, and DTNB) and ERp57 inhibitors are able to drastically reduce the adhesion and the invasion of *B. cenocepacia* into epithelial cells and to attenuate the pro-inflammatory response elicited by bacteria. These observations suggest that defects in GSH export in the airway surface liquid, which are typically observed in CF patients, may favour *B. cenocepacia* infection.

Hypothesis and objectives. ERp57 inhibitors, in particular epigallocatechin-3-gallate, the most abundant green tea catechin, could be useful in therapies aimed to control *Burkholderia cenocepacia* lung infection in cystic fibrosis patients. To this aim we want to evaluate: 1) the efficacy of EGCG in protecting also primary cell monolayers from *Burkholderia* infections; 2) if the ability of EGCG to modulate intracellular oxidative stress and autophagy influences bacterial intracellular replication; 3) the efficacy of EGCG *in vivo* in an animal model of lung infection.

Methods. The effects of EGCG on *B. cenocepacia* infections is under investigation either in cell cultures and in a mice model of infection.

Preliminary results. We have obtained convincing evidence that ERp57 plays a role in *Burkholderia* infections that is specific to respiratory epithelial cells. In fact, we have not observed any involvement of PDI in the uptake and intracellular survival of *B. cenocepacia* into differentiated monocytes. Within these cells, *Burkholderia* survives and replicates by evading autophagy through the inhibition of the autophasgolysosome formation and the alteration of the phosphorylation state of mTOR and S6Kinase. Moreover, we have demonstrated that EGCG is able to strongly reduce IL-8 and IL-6 release and IL-8, IL-1 β and TNF β expression levels in epithelial cells infected by *Burkholderia*. In addition, we have carried out preliminary studies to develop a *Burkholderia* infection protocol and to set up the conditions of EGCG administration by intratracheal instillation.

Spin-off for research & clinical purposes. This research is expected to evaluate the possibility to use EGCG in therapies aimed at the control of *B. cenocepacia* in CF patients. This study will also provide useful information to understand the consequences of GSH dyshomeostasis in CF lung disease.

Utilizzo di inibitori della proteina Disolfuro Isomerasi extracellulare per controllare le infezioni polmonari di *Burkholderia cenocepacia*.

Ragioni dello studio. L'infezione delle cellule epiteliali respiratorie con *Burkholderia cenocepacia* è mediata da una proteina di membrana, ERp57, dotata di tioli sensibili a ossidanti/riducenti. Questa proteina appartiene alla famiglia delle disolfuro isomerasi (PDI). Abbiamo osservato che la presenza durante l'infezione di inibitori di ERp57 o di molecole che reagiscono con tioli riducono drasticamente l'infettività di *B. cenocepacia* in cellule epiteliali respiratorie in coltura, nonché la conseguente risposta infiammatoria. Queste osservazioni suggeriscono che un'alterazione nella capacità di esporto del GSH nel liquido che riveste le vie aeree, un difetto tipico della FC, possa favorire le infezioni di *Burkholderia*.

Ipotesi e obiettivi. Inibitori di ERp57 ed in particolare l'epigallocatechina-3-gallato (EGCG), la principale catechina del tè verde, potrebbero essere utilizzati come terapie contro le infezioni polmonari da *Burkholderia*. A tal fine vogliamo valutare:

- 1) l'efficacia di EGCG su monostriati di cellule primarie;
- 2) se EGCG influenzi la sopravvivenza di *Burkholderia* nelle cellule infettate alterando l'autofagia e/o lo stress ossidativo;
- 3) l'efficacia di EGCG *in vivo* in modelli di infezione animale.

Metodi. Stiamo valutando gli effetti di EGCG sia in cellule in coltura che in modelli di infezione murina.

Risultati preliminari Abbiamo confermato che ERp57 è coinvolta in modo specifico nell'infezione delle cellule epiteliali, in quanto inibitori di PDI non hanno alcun effetto sulla fagocitosi e sulla sopravvivenza di *Burkholderia* nei monociti differenziati. All'interno di queste cellule *Burkholderia* sopravvive e replica evadendo il processo autofagico e bloccando la formazione dell'autofagolisosoma deputato alla rimozione del patogeno. Il blocco dell'autofagia è probabilmente ottenuto alterando lo stato di fosforilazione di mTOR e S6chinas. Abbiamo dimostrato che EGCG è in grado di ridurre fortemente l'espressione delle citochine TNF β , IL-8 e IL-1, oltre a limitare il rilascio di IL-8 e IL-6 dalle cellule epiteliali infettate con *Burkholderia*. Stiamo infine mettendo a punto sia protocolli di infezione di topi con *Burkholderia*, sia le modalità di somministrazione dell'EGCG per via intracheale.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Questa ricerca si propone di valutare possibili terapie delle infezioni da *B. cenocepacia* in pazienti FC, basate su EGCG e di comprendere gli effetti dell'alterata concentrazione del GSH nella malattia polmonare in FC.

PLENARY SESSION 5

State of the art and future challenges in CF Microbiology

Chairman: Gianmaria Rossolini

Lecture by **Eshwar Mahenthiralingam** (University of Cardiff, UK)

PARALLEL POSTER SESSIONS

3. Microbiology

51. Anti-inflammatory and anti-bacterial activity of bovine lactoferrin administered by aerosol in airway infections of pre-clinical wt and CF mouse models

Berlotti F

Department of Public health and Infectious Diseases, Sapienza University of Rome, Rome, Italy (FFC#12/2015, New), See Plenary Session 6, Abstract n. 77

52. Cystic fibrosis modifier genes related to Pseudomonas aeruginosa lung disease

Lorè NI¹, Mott R², Iraqi F³, Bragonzi A¹

¹Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS - San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy; ² Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, Oxford, England; ³ Department of Clinical Microbiology and Immunology, Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel (FFC#9/2014, In progress)



Alessandra Bragonzi, al centro, con collaboratrici

Background/Rationale. The remarkable heterogeneity among CF patients in the time of onset as well as in the severity of *P. aeruginosa* lung disease raised the question whether other genetic loci in addition to the CFTR can contribute to the clinical variation. Recently, Collaborative Cross (CC) mouse population has been generated as an innovative and powerful source to model the diversity of the human population.

Hypothesis and objectives. By using the CC lines as a novel and high genetically diverse mouse resource population, this project aims to identify genetic factors that may influence the severity of *P. aeruginosa* respiratory infections in CF.

Methods. Phenotypic response of CC lines for susceptibility to *P. aeruginosa* infection was carried out during the first year of the project. We have challenged and assessed about 244 mice of 48 CC lines with *P. aeruginosa* and recorded disease phenotypic traits of morbidity and mortality, as markers for disease progression. Quantitative trait locus (QTL) mapping associated with host susceptibility to *P. aeruginosa* was performed.

Preliminary results. Our results showed that CC mice covered a wider phenotypic response to *P. aeruginosa* infection when compared to classical inbred strains, including the most deviant clinical phenotypes (e.g. resistant and susceptible). Comprehensive analysis of CC mice showed that initial

variables including, body weight, age and gender have a limited influence on *P. aeruginosa* outcome, emphasizing the role of complex genetic traits in the severity of infection. Survival time and weight lost were considered markers for mortality and morbidity as associated disease phenotypic traits, and subsequently were used for QTL mapping. Based on our genome wide search analysis, a significant QTL was identified and designated, *Prll1* for *Pseudomonas* respiratory infection resistant locus 1, with a genomic interval consists about 100 coding sequences.

Spin-off for research & clinical purposes. Our results demonstrate that widely marked differential response to *P. aeruginosa* infection is affected by host genetic factors reproducing the variable responses of disease severity observed in humans during *P. aeruginosa* pneumonia. Our efforts have resulted on mapping a QTL, *Prll1*, that is responsible of the severity for the respiratory infection, including suggested candidates within the mapped region. These candidate genes will be essential for the validation in CFTR-KO mice as potential modifier genes in progression of CF lung disease pathology.

Geni modificatori legati alla malattia polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è una malattia monogenica recessiva causata da mutazioni nel gene codificante per un canale del cloro transmembrana, il CFTR. La malattia polmonare, caratterizzata da bronchiectasie, presenza di muco nelle vie aeree e distruzione parenchimale dovuta ad infezioni da *P. aeruginosa*, è responsabile della mortalità dei pazienti. Nonostante i notevoli progressi compiuti nella comprensione della fisiopatologia della FC a livello cellulare e molecolare, il nesso di causalità tra il difetto primario, la mancanza cioè di CFTR funzionale, e l'insorgenza della malattia polmonare FC non è ancora delineato. Esiste una notevole eterogeneità nell'insorgenza dell'infezione batterica e nella gravità della malattia polmonare in pazienti FC.

Ipotesi e obiettivi. L'assenza di una malattia polmonare nei topi CFTR-KO solleva la questione se altri loci genetici al di fuori del CFTR possono indurre variazioni nella risposta immunitaria a *P. aeruginosa* e nella gravità della malattia. L'obiettivo principale del progetto è definire i fattori genetici che influenzano la gravità della mutazione CFTR, utilizzando una nuova popolazione di topi caratterizzati da un'alta variabilità genetica, i Collaborative Cross (CC). Questi animali sono considerati un importante strumento per rappresentare la popolazione umana.

Metodi. I topi CC sono stati caratterizzati per la suscettibilità all'infezione da *P. aeruginosa* ed utilizzati per mappare i determinanti genetici associati alla malattia FC.

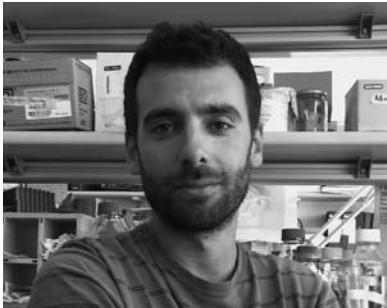
Risultati preliminari. I nostri risultati mostrato che i topi CC riproducono risposte altamente variabili, dalla resistenza alla suscettibilità, rispetto alla gravità della malattia durante la polmonite da *P. aeruginosa*. Le variabili iniziali, tra cui il peso corporeo, età e sesso hanno mostrato una limitata influenza sul potenziale rischio di infezione da *P. aeruginosa*, sottolineando il ruolo dei tratti genetici complessi nella gravità dell'infezione nel nostro modello. Quando l'ereditabilità di caratteri fenotipici è stata valutata abbiamo confermato l'influenza dei fattori genetici piuttosto che fattori ambientali tra le linee CC durante l'infezione da *P. aeruginosa*. Nel loro insieme, i nostri risultati dimostrano per la prima volta che la risposta all'infezione da *P. aeruginosa* è influenzata principalmente da fattori genetici dell'ospite.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Questi risultati forniscono una base per la mappatura delle regioni genomiche responsabili per la suscettibilità dell'ospite alle infezioni da *P. aeruginosa*.

53. Genetically diverse mice as innovative model for cystic fibrosis

Lorè NI¹, Sipione B¹, Iraqi F², Bragonzi A¹

¹Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS - San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy; ² Department of Clinical Microbiology and Immunology, Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel (FFC#11/2015, New)



Nicola Ivan Lorè

Background. Clinical evidences suggest that the outcome of the respiratory infections may be extremely variable among cystic fibrosis (CF) patients. In addition to the CF transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene defect, the progression and severity of pulmonary disease seems to correlate also to other genetic factors. In mouse models, the critical importance of host genetic Background in determining CF-phenotype has been neglected. So far, several CF mouse models were generated by using redundant genetic Backgrounds which do not represent the heterogeneity of the human population. Recently, Collaborative Cross (CC) mouse population has been generated as a powerful source to model the diversity of the human population and overcoming the limitation of existing resources.

Hypothesis and objectives. The underlying hypothesis guiding our proposal is that the disruption of *CFTR* in populations with genetic diversity may cause different pathological alterations in the lung when compared to genetic Backgrounds of the common laboratory strains. Thus, this project will take advantage of unique CC mice and existing CF mouse model ($\Delta F508/-$) to generate new $\Delta F508/-$ murine lines in CC genetic Background with different susceptibility to airway infection.

Essential methods. Through experimental genetic approaches, the $\Delta F508/-$ mice will be backcrossed in different CC Background.

Preliminary results. Preliminary results, obtained in the CC population, showed a widely-marked differential response to *P. aeruginosa* respiratory infection, ranging from mild to severe. Evidence that the host genetic diversity influences the outcome of bacterial airway infection and disease phenotype have been achieved. Based on these results, $\Delta F508/-$ mice will be backcrossed using selected CC lines with deviant phenotypic airway disease and different genetic Background..

Expected results and their significance. The major result of this project will be the generation of new CF mouse models with airway disease heterogeneity, at least for *P. aeruginosa* infection. The proposed research project will impact on different areas of CF research including: i) study on pathophysiology of $F508/-$ airway disease; ii) identification of new CF modifier genes/ prognostic markers.

Nuovi modelli murini di fibrosi cistica con diversi profili genetici

Ragioni dello studio. Evidenze cliniche indicano che l'esito delle infezioni respiratorie può essere estremamente variabile negli individui a rischio. In fibrosi cistica (FC), in aggiunta al difetto del gene *CFTR*, la progressione e la gravità della malattia polmonare sembrano correlare con altri fattori genetici che possono influenzare l'esito della malattia respiratoria. Nei modelli murini, è stata trascurata l'importanza del profilo genetico nel determinare la gravità della malattia FC. Finora, sono stati generati diversi modelli murini FC, utilizzando profili genetici ridondanti che non rappresentano l'eterogeneità della popolazione umana. Recentemente è stata generata una popolazione murina, chiamata 'Collaborative Cross' (CC), che mira a rispecchiare la diversità genetica della popolazione umana.

Ipotesi e obiettivo. L'ipotesi di fondo che guida la nostra proposta è che il difetto del canale *CFTR* in popolazioni con profili genetici diversi può causare diverse alterazioni patologiche nel polmone. Pertanto, l'obiettivo di questo progetto è quello di generare modelli murini con mutazione $\Delta F508$ in profili genetici aventi diversa suscettibilità alle infezioni delle vie respiratorie.

Metodi essenziali. Attraverso approcci di genetica, le linee murine della nuova popolazione CC verranno incrociate con un modello già esistente di topo FC ($\Delta F508/-$) per generare nuovi modelli animali omozigoti per lo studio della patogenesi polmonare in FC.

Risultati preliminari. Risultati preliminari ottenuti nella popolazione CC, mostrano linee murine con limitata o severa gravità alla infezioni respiratorie. Recentemente è stato dimostrato che il profilo genetico dell'ospite influenza la severità del processo infettivo da parte di *P. aeruginosa*. Sulla base di questi risultati preliminari, linee murine della popolazione CC, aventi diversi profili genetici, sono state selezionate al fine di poter generare nuovi modelli murini che potenzialmente manifestino la malattia polmonare FC con diversa gravità.

Risultati attesi e loro significato. Il risultato principale di questo progetto sarà la generazione di nuovi modelli murini di FC con ridotta e alta suscettibilità alle infezioni polmonari, i quali avranno un impatto su diverse aree di ricerca FC. In particolare i) sullo studio della fisiopatologia delle vie respiratorie in soggetti con la mutazione $\Delta F508$; ii) sull'identificazione di potenziali geni modificatori o marcatori prognostici in FC.

54. Role of small RNA-based regulatory systems in cystic fibrosis airways infection by *Pseudomonas aeruginosa*: a new frontier in the identification of molecular targets for novel antibacterials

Bertoni G

Dipartimento di Bioscienze – Università degli Studi di Milano (FFC#13/2015, New)

Background/Rationale. The comprehension of molecular mechanisms underlying CF airways infection by *Pseudomonas aeruginosa* is instrumental to the design of novel clinical protocols of antibacterial treatment. Emerging candidates as molecular regulators of infection and virulence in *P. aeruginosa* are small RNAs (sRNAs), which in other bacterial pathogens have been shown to play key roles in modulating cellular processes linked to pathogenesis.



Giovanni Bertoni con le collaboratrici del progetto

Objective. From this perspective, the main objective of this project is the evaluation of the impact on *P. aeruginosa* virulence and infection of a selected panel of new sRNAs identified in our lab.

Essential methods. This goal will be achieved through three specific strategies: 1. the test of sRNA mutants for virulence on CF cell lines; 2. the challenge of sRNA mutants in animal models of airways infection; 3. the analysis of sRNA expression in clinical *P. aeruginosa* strains. These approaches are flanked by others, which are underway in our lab, aimed to screen for sRNA targets and to validate and characterize the sRNA/target interactions.

Expected results and their significance. This project addresses in two ways the FFC priority area of "Infections in CF". On one hand, it proposes basic research on *P. aeruginosa* pathogenesis focusing on the frontier area of regulatory sRNAs. On the other hand, the achievements of this project have the potential to foster the development of innovative antimicrobial strategies. In fact, illuminating the functional roles of sRNAs in host/pathogen interaction can provide the fundamental knowledge for the development of next-generation antibiotics using sRNAs as novel targets. The information resulting from mechanistic studies on the interactions of sRNAs with targets will be invaluable for identifying drug molecules that can bind and inhibit sRNA functions. Due to their specificity, sRNA-targeting drugs would preserve CF patient healthy commensal flora, thus preventing secondary opportunistic infections.

Ruolo di sistemi regolati da piccoli RNA non codificanti nell'infezione di *Pseudomonas aeruginosa* delle vie aeree di malati di fibrosi cistica: una nuova frontiera nell'identificazione di bersagli molecolari per antibatterici innovativi.

Ragioni dello studio. La comprensione dei meccanismi molecolari alla base dell'infezione polmonare di *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti affetti da CF è fondamentale per progettare nuovi protocolli clinici di terapia. Piccoli RNA non codificanti (sRNA), che in altri batteri patogeni hanno dimostrato di giocare un ruolo chiave nella modulazione di processi legati alla patogenesi, sono candidati emergenti per il ruolo di regolatori molecolari della virulenza in *P. aeruginosa*.

Obiettivo. In questa prospettiva, l'obiettivo principale di questo progetto è la valutazione dell'impatto sull'infezione e la virulenza di *P. aeruginosa* di un pannello di nuovi sRNA identificati nel nostro laboratorio.

Metodi essenziali. Questo obiettivo verrà raggiunto attraverso tre strategie specifiche: 1. la valutazione della virulenza su linee cellulari CF di ceppi di *P. aeruginosa* mutanti negli sRNA; 2. l'uso di questi mutanti in modelli animali di infezione cronica ed acuta; 3. l'analisi degli sRNA in ceppi clinici di *P. aeruginosa*. Questi approcci si aggiungono ad altri in corso nel nostro laboratorio, che consistono nello screening di target degli sRNA e nella validazione e caratterizzazione delle interazioni sRNA/target.

Risultati attesi e loro significato. Questo progetto ha un duplice impatto nell'area prioritaria FFC delle infezioni in CF. Da un lato, propone una ricerca di base sulla patogenesi di *P. aeruginosa*, focalizzandosi su una tematica di punta come quella degli sRNA. Dall'altro, i risultati di questo progetto hanno la potenzialità di favorire lo sviluppo di strategie antimicrobiche innovative. Infatti, lo studio del ruolo funzionale degli sRNA nell'interazione ospite/patogeno può fornire conoscenze fondamentali per il disegno di antibatterici di nuova generazione che usino gli sRNA come bersagli. L'informazione derivante dagli studi meccanistici sulla interazione sRNA/target è importantissima per identificare molecole che leggono specificamente gli sRNA e ne inibiscono la funzione. Infine, va sottolineato il fatto che molecole antibatteriche che hanno come bersaglio gli sRNA, data la loro specificità d'azione su *P. aeruginosa*, preservano la normale flora batterica, prevenendo quindi infezioni secondarie di altri opportunisti.

55. Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiome based therapy

Bevilino A¹, Mengoni A², Taccetti G³, Fiscarelli EV⁴, De Alessandri A⁵

¹ENEA Casaccia Research Center, Rome, Italy; ²University of Florence, Department of Biology, Florence, Italy; ³Cystic Fibrosis Center, Meyer Hospital, Florence, Italy; ⁴Cystic Fibrosis Center, Gaslini Hospital, Genoa, Italy; ⁵Children's Hospital and Research Institute Bambino Gesù, Rome, Italy (FFC#14/2015, Extension) See Plenary Session 4, abstract n. 47

56. Impact of anti-*Staphylococcus aureus* treatment on *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung damage

Cirillo DM¹, Baldan R¹, Bragonzi A¹, Cigana C¹, De Simone M¹, Riva C¹

¹IRCCS Ospedale San Raffaele Milano (FFC#15/2015, New)



Daniela Maria Cirillo, responsabile del progetto

Background. The incidence and prevalence of *S. aureus* (SA) is still increasing in the CF population, with methicillin-resistant SA (MRSA) being on the rise. However, the benefit of SA eradication is still debated. Most children with *P. aeruginosa* (PA) have prior infections with SA. The impact of SA eradication and treatment on CF lung disease progression and subsequent PA colonization needs to be defined.

Objectives. Our main objectives are: 1) To set up eradication protocols of SA infection in mouse models and establishing the impact of SA treatment on restoring lung function 2)

To define the impact of SA treatment on PA colonization and on the progression of lung disease.

Design and essential Methods. In this project, eradication protocols of SA infection will be set-up in murine model of chronic lung infection, using reference, clinical methicillin-susceptible SA (MSSA) and MRSA strains derived from CF patients. The pathogenic potential of MSSA/MRSA strains will be assessed by bacterial count and the impact of treatment on restoring lung function will be determined evaluating inflammation and tissue remodelling. The benefit of SA treatment and its impact on subsequent PA colonization will be established analysing PA infection, inflammation and tissue remodelling.

Preliminary results. Competition experiments with SA reference strain and PA strains in planktonic co-culture and mouse pneumonia model were performed: PA reference and early strains, isolated at the onset of chronic infection, out-competed SA in *in vitro* and *in vivo* models of co-infection. Late PA strains (isolated after several years of chronic infection) instead showed a reduced capacity to outcompete SA. A collection of SA strains isolated from CF patients was tested in a mouse chronic pneumonia model showing that all the isolates induced chronic pneumonia with severe pulmonary lesions. We also showed that SA pre-infection modulated subsequent PA virulence by increasing its capacity to establish chronic infection in the mouse model of co-infection.

Expected results and their significance. As a main outcome we will: 1) establish the influence of MSSA and MRSA infection on the progression of PA chronic lung disease 2) define the impact of early MSSA and MRSA treatment on restoring lung physiology and on the progression of PA chronic lung disease 3) inform novel strategies for treatments of CF infections. Understanding how SA treatment impacts on subsequent PA induced lung damage will provide new hints on management of infections in CF.

Impatto del trattamento anti- *Staphylococcus aureus* sul danno polmonare indotto da *Pseudomonas aeruginosa*.

Ragioni dello studio. Le infezioni polimicrobiche nei pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) hanno un ruolo chiave nella progressione della malattia. *S. aureus* (SA) è uno dei primi batteri a colonizzare i polmoni di pazienti con FC, causando infezioni ricorrenti e recidivanti, che spesso precedono l'infezione da *P. aeruginosa* (PA). È possibile che l'infezione da SA cauci delle lesioni al polmone che favoriscono la colonizzazione da parte di PA. Considerando questa sequenza di eventi, è necessario comprendere se il trattamento anti-SA possa incidere sia sulla colonizzazione di PA sia sul danno d'organo.

Obiettivi. Gli obiettivi principali sono: 1. mettere a punto dei protocolli di eradicazione di ceppi di SA e valutare se la terapia è in grado di ripristinare la fisiologia polmonare in modelli animali di infezione cronica; 2. valutare il ruolo del trattamento precoce anti-*S. aureus* nella colonizzazione da parte di PA e nella progressione della malattia.

Disegno e metodi essenziali. Si utilizzeranno ceppi di riferimento e clinici di SA isolati da pazienti con FC, inclusi ceppi meticillino-resistenti (MRSA), e di PA in un modello murino di superinfezione polmonare cronica.

Verrà messo a punto un protocollo per l'eradicazione di SA nel modello murino e verrà valutata la risoluzione dell'infezione, lo stato infiammatorio e il danno al polmone in presenza o assenza di trattamento antibiotico. Il protocollo e i ceppi selezionati in questa prima fase verranno utilizzati in un modello murino di coinfezione cronica che prevede una superinfezione da PA successivamente all'infezione da SA. Verrà valutato l'impatto del trattamento anti SA sulla colonizzazione da *Pseudomonas* e sulla conseguente patologia pol-

monare, analizzando parametri di infezione, infiammazione e danno polmonare.

Risultati attesi e loro significato. I risultati ottenuti con questo progetto contribuiranno a 1) chiarire l'impatto dell'infezione da *S. aureus* sulla malattia polmonare; 2) aumentare la nostra conoscenza sulle conseguenze del trattamento anti *S. aureus* sul decorso della colonizzazione e della patologia polmonare causata da *P. aeruginosa*. La comprensione di come il trattamento di *S. aureus* influenzi la successiva colonizzazione da *P. aeruginosa* e i suoi effetti patogenici può fornire nuovi spunti utili ai clinici per migliorare/reindirizzare la terapia dei pazienti FC infetti con *S. aureus*.

57. Development of metallo-enzyme inhibitors to overcome *Pseudomonas aeruginosa* antibiotic-resistance in cystic fibrosis patients

Gemma S¹, De Luca F², Brindisi M¹, Brogi S¹, Docquier JD²

¹Department of Biotechnology, Chemistry, and Pharmacy,

²Department of Medical Biotechnology, University of Siena (FFC#16/2015, New)



Sandra Gemma, responsabile del progetto, e Jean-Denis Docquier, partner di ricerca

Background. In CF patients, the treatment of chronic *P. aeruginosa* lung infections represents a clinical challenge. Anti-pseudomonal β -lactams are the mainstay of therapy but, unfortunately, this pathogen becomes increasingly resistant to available antibiotics.

Hypothesis and objectives. Acquired metallo- β -lactamases (MBLs) are important resistance factors in *P. aeruginosa*, conferring resistance to most β -lactams, including the last-resort carbapenems. Considering the increasing prevalence of MBL-producing strains in CF patients (as high as >50% in some settings), our goal is to perform the preclinical investigation and optimization of MBLs inhibitors to be used in combination with currently-available β -lactam antibiotics.

Essential methods. Preclinical investigation of our hit compound will involve assessment of a series of drug-like properties including solubility, chemical and microsomal stability, toxicity and genotoxicity. Optimization of these properties, together with a potent activity against clinically-relevant MBLs will require a combined effort involving computational and synthetic chemistry, molecular biology, and microbiology and will lead to the selection of a candidate to be studied in animal models of lung infections.

Preliminary results. The proponents already discovered compound NF1810 as an inhibitor of the VIM-2 and NDM-1 acquired MBLs. NF1810 potentiates the activity of β -lactams antibiotics (synergistic activity) in microbiological assays.

Expected results and their significance. The expected outcome of the project will be the selection of preclinical candidates to establish the proof-of-concept for novel combinations therapies for the treatment of lung infections in CF patients, that could show a better efficacy for the treatment of antibiotic-resistant *P. aeruginosa* strains.

Sviluppo di inibitori di metallo-enzimi per combattere i meccanismi di resistenza ai farmaci di *P. aeruginosa* nei pazienti affetti da fibrosi cistica.

Ragioni dello studio. Le infezioni polmonari causate da batteri come *P. aeruginosa* in pazienti affetti da fibrosi cistica sono particolarmente difficili da trattare e hanno la tendenza a diventare croniche. Nonostante la terapia antibiotica sia generalmente efficace nel trattamento di queste infezioni, l'uso eccessivo di antibiotici spesso provoca la selezione di batteri che possono sopravvivere alla terapia in quanto sono diventati resistenti ai farmaci.

Ipotesi e obiettivo. Alcuni enzimi chiamati metallo- β -lattamasi sono capaci di distruggere le penicilline e antibiotici dotati dello stesso meccanismo di azione, rendendo inefficaci tali farmaci. Lo scopo del nostro studio è quello di sviluppare dei composti in grado di inibire le metallo-beta-lattamasi. Tali composti, somministrati insieme agli antibiotici, saranno in grado di disattivare i meccanismi di resistenza di *P. aeruginosa*, rendendolo nuovamente suscettibile al trattamento con antibiotici.

Metodi essenziali. Affinché una piccola molecola possa diventare un farmaco deve avere una serie di proprietà fisico-chimiche adeguate. In questo progetto valuteremo la solubilità, la capacità di attraversare le membrane, la tossicità di una serie di inibitori di metallo-beta-lattamasi che abbiamo già identificato e che sintetizzeremo attraverso una progettazione razionale. Lo scopo di questo studio preliminare sarà quello di selezionarne una molecola da sottoporre a studi microbiologici contro *P. aeruginosa* (anche in modelli animali di infezione polmonare).

Risultati preliminari. Il gruppo di ricerca ha già individuato una molecola, NF1810 che è capace di inibire due tipi diversi di metallo-beta-lattamasi comunemente espresse da ceppi di *P. aeruginosa* resistenti ai farmaci. NF1810 ha una attività sinergica con gli antibiotici beta-lattamici in test effettuati su batteri.

Risultati attesi e loro significato. Inibitori selezionati delle metallo-beta-lattamasi verranno testati in vivo per valutare l'efficacia in combinazione con terapie antibiotiche. Se i composti dimostreranno efficacia in questi modelli in vivo, questo rappresenterà il primo passo per lo sviluppo di terapie innovative utili per il trattamento di pazienti affetti da fibrosi cistica che non rispondono alle terapie antibiotiche attuali.

58. Phage Therapy against *Pseudomonas aeruginosa* Infections in Cystic Fibrosis Patients

Ghisotti DE

Dipartimento di Bioscienze - Università degli Studi di Milano (FFC#17/2015, New)

Background. *Pseudomonas aeruginosa* infection, common in cystic fibrosis (CF) patients, is successfully treated with antibiotics. Now, the alarming diffusion of isolates of *P. aeruginosa* multi-resistant to the antibiotics currently in use makes urgently need to develop new antibacterial therapies. Phage therapy can be considered as a therapeutic alternative or a complementary treatment to antibiotics. Advantages on antibiotic therapy are that bacteriophages: 1) multiply at the infection site, increasing their number, whereas antibiotics are metabolized and eliminated from the body; 2) target only specific bacteria, with no effect on commensal flora, contrary to antibiotics that kill most bacterial species; 3) can adapt to resistant bacteria; contrary to antibiotics that are defined chemical molecules, phages can mutate and overcome bacterial resistance; 4) have the capacity to reach bacteria trapped inside biofilms, the matrix that acts as a shield for pathogenic bacteria in the CF patients lungs.

Objective. Aim of this project is the isolation of novel



Daniela Erica Ghisotti

phages able to infect *P. aeruginosa* Italian clinical strains. Moreover, to evaluate the ability of the phages to dissolve the biofilms formed by *P. aeruginosa* clinical strains.

Preliminary results. In the first months of this project we have created a panel of clinical *P. aeruginosa* strains, isolated from Italian CF patients, on which the phages will be tested. Several clinical strains were kindly provided by Dr. Cariani from the Ospedale Policlinico and by Dr. Bragonzi from the San Raffaele Hospital in Milano. We have isolated new phages able to infect *P. aeruginosa* strains from wastewater samples, collected from Nosedo and Peschiera Borromeo Treatment Plant. Phage plaques have been obtained both on the laboratory strain PAO1 and on other clinical strains of our collection. Plaques were isolated and phage ability to grow on *P. aeruginosa* confirmed. Each isolated phage was characterized for the ability to grow on the different *P. aeruginosa* clinical strains. Furthermore, some phages obtained from the Eliava Institute Collection in Tbilisi were also tested on the Italian *P. aeruginosa* clinical strains. A test for detecting the ability of phages to infect and kill *P. aeruginosa* bacteria that grow in biofilm is also in progress.

Expected results and their significance. At the end of this project, we expect to have a collection of well characterized phages that could be used for preclinical testing in CF lung infections caused by *P. aeruginosa*.

Terapia fagica per combattere le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica.

Ragioni dello studio. *Pseudomonas aeruginosa*, il batterio più comune nelle infezioni di pazienti con fibrosi cistica, viene combattuto con la terapia antibiotica. Tuttavia, negli ultimi anni, si stanno diffondendo ceppi batterici multi-resistenti agli antibiotici, che rendono inefficace la cura. Di conseguenza, in tutto il mondo, si cercano nuove terapie capaci di sostituirli.

Nemici naturali dei batteri sono i fagi, virus che infettano in modo specifico le cellule batteriche, causandone la morte. I vantaggi principali dell'uso dei fagi per combattere l'infezione sono molteplici. Innanzitutto i fagi sono capaci di infettare indifferentemente i batteri sensibili o resistenti agli antibiotici e quindi possono agire contro i batteri multi-resistenti. Altra caratteristica dei fagi è quella di essere presenti e aumentare di numero dove ci sono batteri da infettare. Caratteristica questa che li distingue nettamente dagli antibiotici che vengono metabolizzati ed eliminati dall'organismo. Inoltre i fagi sono estremamente specifici nella loro infezione, che colpisce solo i batteri nocivi, al contrario degli antibiotici, che colpiscono molte specie batteriche, andando ad alterare la flora commensale. Alcuni fagi inoltre riescono a penetrare ed a volte anche distruggere il biofilm, una matrice all'interno della quale si proteggono, anche dagli antibiotici, molti batteri patogeni.

Obiettivo. Lo studio si propone di isolare nuovi fagi in grado di infettare ceppi clinici italiani di *P. aeruginosa*. Inoltre

intende valutare l'attitudine dei fagi a dissolvere i biofilm formati da ceppi clinici di *P. aeruginosa*.

Risultati preliminari. Nei primi mesi di questo nuovo progetto stiamo raccogliendo alcune decine di ceppi clinici di *P. aeruginosa*, isolati da pazienti italiani affetti da FC, in modo da costituire una collezione su cui saggiare i nostri fagi. Inoltre, stiamo isolando nuovi fagi capaci di infettare *P. aeruginosa*, partendo dalle acque reflue di Milano. I fagi isolati vengono caratterizzati prima di tutto per la loro capacità di infettare la collezione di batteri. In seguito cercheremo di verificare la capacità dei fagi di infettare e uccidere *P. aeruginosa* che cresce sotto forma di biofilm. La ricerca proseguirà con la completa caratterizzazione dei fagi isolati, comprensiva della sequenza del genoma di quelli che ci appaiono più interessanti a fini terapeutici, e della creazione di cocktail (miscele) di fagi diversi, che ne aumentino la capacità infettiva.

Risultati attesi. Scopo finale è quello di ottenere un buon numero di fagi efficaci da utilizzare in terapia contro le infezioni da *P. aeruginosa*.

59. Antimetabolite drugs as inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm growth and virulence: potential chemotherapics and tools in target identification for new antimicrobials

Landini P

Dipartimento di Bioscienze - Università degli Studi di Milano
(FFC#18/2015, New)



Paolo Landini, secondo da destra, con i collaboratori di ricerca

Background. The lack of new antibiotics active against bacterial infections by *P. aeruginosa* is a significant problem in cystic fibrosis patients. For this reason, a new strategy in the search for new antimicrobial agents has turned to the identification of targets involved in the production of virulence factors and in biofilm formation. In other words, given the difficulty of eliminating the bacteria, therefore trying to "disarm" it and make it harmless. Molecules of the antimetabolite class, which interfere with nucleotide synthesis, have been shown to possess an unexpected potential as inhibitors of virulence factors in *P. aeruginosa*. In particular, one of these compounds, flucytosine, although devoid of antibiotic activity, is very effective in blocking the infection by *P. aeruginosa* in a mouse model. This activity depends on flucytosine ability to inhibit production of virulence factors, such as pyoverdin and exotoxin A.

Objective. We propose to evaluate the ability of other antimetabolite drugs to block *P. aeruginosa* infections.

Preliminary results. We have already identified two antimetabolites (fluorouridine and trimethoprim) that are able to inhibit biofilm formation, an important factor in chronic colonization of the patient, and that exhibit synergistic activity with aminoglycoside antibiotics.

Design and methods. We propose to carry out a program of exploratory research, very focused, and low budget, to better evaluate the real potential of these compounds, before moving on to a more demanding stage such as experimental infections in mouse models. We will test these compounds on a panel of *P. aeruginosa* isolates from CF patients. We will test their antimicrobial and anti-biofilm activities, as well as their ability to inhibit the production of virulence factors and to synergise with antibiotics.

Expected results. Another important goal of our project is the identification of the targets of antimetabolite drugs, which could lead to the rational design of novel inhibitors endowed with less toxicity and increased effectiveness as antimicrobials.

Farmaci antimetaboliti come inibitori della virulenza e della formazione di biofilm in *Pseudomonas aeruginosa*.

Ragioni dello studio. La mancanza di nuovi antibiotici attivi contro le infezioni batteriche da *P. aeruginosa* costituisce un enorme problema nei pazienti di fibrosi cistica. La ricerca di nuovi agenti antimicrobici sta esplorando nuove strategie, che mirano all'identificazione di nuovi bersagli, legati alla capacità del batterio di produrre fattori di virulenza che determinano l'insorgenza dell'infezione. In altri termini, vista la difficoltà di eliminare il batterio, si cerca pertanto di "disarmarlo" e renderlo inoffensivo. Studi effettuati in questa direzione hanno dimostrato che molecole della classe degli antimetaboliti, in grado di interferire con la sintesi dei costituenti del DNA, hanno un insospettabile potenziale come inibitori dei fattori di virulenza in *P. aeruginosa*. In particolare, uno di questi composti, la flucitosina, sebbene priva di attività antibiotica, si è dimostrata molto efficace nel bloccare l'infezione da *P. aeruginosa* nel topo. Questa attività dipende dalla sua capacità di inibire la produzione di alcuni fattori di virulenza prodotti dal batterio, quali la pioverdina e l'esotossina A.

Obiettivi. Ci proponiamo di valutare la capacità di altri composti della classe degli antimetaboliti di bloccare l'infezione da *P. aeruginosa*.

Risultati preliminari. In studi preliminari, abbiamo già identificato altri due composti (fluorouridina e trimetoprim) in grado di inibire la formazione del biofilm, un fattore importante nella colonizzazione cronica del paziente, e, se somministrati con antibiotici della classe degli aminoglicosidi, di migliorarne l'attività antimicrobica.

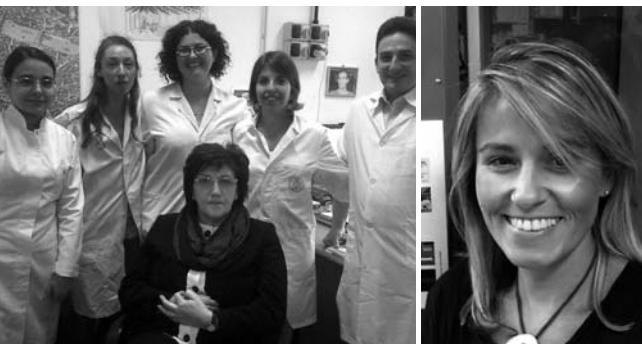
Disegno e metodi. Nel programma di ricerca da noi proposto, valuteremo quindi i due antimetaboliti da noi trovati, da soli ed in combinazione con altri antibiotici, su un pannello di ceppi di *P. aeruginosa* isolati da pazienti CF e saggeremo la loro attività antimicrobica, anti-biofilm, e la capacità di inibire la produzione di fattori di virulenza. Un altro aspetto importante del nostro progetto è l'identificazione del meccanismo di azione e dei bersagli specifici di questi composti, anche per superare il problema della loro tossicità.

Risultati attesi e loro significato. Le proteine bersaglio di antimetaboliti possono essere molto interessanti per lo sviluppo di nuovi inibitori con ridotta tossicità e ancor maggiore efficacia.

60. Inhalable formulations of new molecules effective against *Burkholderia cenocepacia*: from *in vitro* to *in vivo* applications

Riccardi G¹, Ungaro F²

¹Lab. Microbiologia molecolare, Dip. Biologia e Biotecnologia "Lazzaro Spallanzani", Pavia; ²Dip. Farmacia, Università degli Studi di Napoli "Federico II" (FFC#19/2015, New)



Giovanna Riccardi, al centro, con le collaboratrici di progetto, e Francesca Ungaro responsabile dell'unità Partner

Background. *Burkholderia cenocepacia* is a serious opportunistic pathogen for Cystic Fibrosis (CF) patients, resistant to numerous antibiotics. Besides new antimicrobials, advanced formulation strategies are mandatory as pulmonary administration is an ideal way to locally treat the infections.

Two new molecules have been shown to be effective against *B. cenocepacia*: a pyridine compound (11026103) and a benzothiadiazol derivative (10126109). The two compounds are mainly soluble in DMSO, thus, for translation *in vivo*, they need to be adequately formulated.

Hypothesis and objectives. 1. To study the mechanism of action of the two compounds; 2. to develop safe and effective inhalable formulations allowing a prompt translation in animal models; 3. to test the efficacy of drug formulations against the wild type and clinical isolates and to perform a pilot study on bronchial epithelial cells to assess their toxicity; 4. to test the formulations in mouse models of *B. cenocepacia* infection.

Essential methods. target identification of the compounds 11026103 and 10126109 will be pursued through preparation of genomic libraries and a conditional growth mutant library. The formulation approach will range from basic aqueous drug formulations to advanced dry powders for inhalation. Drug formulations will be tested *in vitro* against *B. cenocepacia* wt and Bcc clinical isolates through the microdilution method, while cytotoxicity will be checked through a pilot MTT cell viability assay. *In vivo* administration of drug formulations to wt and CF mice will be performed to test their efficacy on acute and chronic *B. cenocepacia* infection.

Preliminary results. The compound 11026103 has a Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of 16 microgram/ml, while the 10126109 one has a MIC of 8 microgram/ml. A low frequency of spontaneous resistant mutants has been observed for both molecules, indicating that the probability to develop resistant strains once the drugs enter clinical use is very low. 11026103 is effective also against the other Bcc belonging species, *B. cenocepacia* cells grown in biofilm, and other CF pathogens. Partner 1 has already demonstrated that it is possible to produce inhalable formulations for delivery of poorly soluble actives to be used in the treatment of CF lung infections.

Expected results and their significance. Two drug formulations effective against *B. cenocepacia*, not toxic, administrable and effective *in vivo* with the comprehension of their mechanism of action to improve and extend CF patient lives.

Formulazioni inalabili di nuove molecole attive contro *Burkholderia cenocepacia*: dalle applicazioni *in vitro* a quelle *in vivo*.

Ragioni dello studio. *Burkholderia cenocepacia* è un grave patogeno per i pazienti affetti da Fibrosi Cistica (FC), resistente a molti antibiotici. La mancata capacità di debellare le infezioni batteriche nei pazienti FC porta a danni polmonari progressivi e morte prematura. Oltre a nuovi antimicrobici è necessario trovare anche formulazioni avanzate che consent-

tano la somministrazione polmonare, ideale per trattare localmente le infezioni. Due nuove molecole sono attive contro *B. cenocepacia*: 11026103 e 10126109. Tali molecole, tuttavia, necessitano di una adeguata formulazione per poter essere somministrate *in vivo*.

Ipotesi e obiettivi. Lo studio mira a migliorare due nuove molecole efficaci contro *B. cenocepacia* attraverso formulazioni che ne permettano un'applicazione nei trials pre-clinici attraverso: 1. lo studio del loro meccanismo d'azione; 2. lo sviluppo di formulazioni inalabili sicure ed efficaci; 3. test sui ceppi batterici e uno studio pilota su cellule bronchiali epiteliali; 4. test in modelli di infezione di *B. cenocepacia* nei topi.

Metodi essenziali. Il bersaglio dei composti 11026103 e 10126109 sarà identificato attraverso la preparazione di librerie genomiche. Allo stesso tempo saranno preparate le formulazioni mediante diverse strategie tecnologiche. Le formulazioni saranno, quindi, testate contro *B. cenocepacia* ed isolati clinici e ne sarà controllata la citotossicità. Le due migliori formulazioni saranno somministrate a topi per testarne l'efficacia contro le infezioni da *B. cenocepacia* acute e croniche.

Risultati attesi e loro significato. Identificazione di due formulazioni attive contro *B. cenocepacia*, non tossiche, somministrabili ed efficaci *in vivo* e comprensione del loro meccanismo d'azione per migliorare ed estendere la vita dei pazienti FC.

61. Exploiting the potential of gallium for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection

Visca P¹, Peri F², Sorrentino R³

¹Dip. Di Scienze, Università Roma Tre, Lab. Microbiologia; ²Di- partimento di Biotecnologie e Bioscienze, Milano; ³Dip. Farmacia, Università di Napoli "Federico II" (FFC#21/2015, New)



Paolo Visca, primo in alto, con il suo gruppo di ricerca

Background. The increasing antibiotic resistance in cystic fibrosis (CF) pathogens and the disappointingly low discovery rate of new antibiotics have prompted research on alternatives to conventional antibiotics. Iron uptake represents a vital process for *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) and a vulnerable target for novel antibacterial drugs. Gallium (Ga³⁺) inhibits bacterial growth by acting as an iron mimetic, and is available as FDA-approved drug (Canite®) for the treatment of non-infectious diseases. The pharmacological properties of Ga³⁺ rely on the chemical resemblance with ferric (Fe³⁺) ions.

Hypothesis and objectives. Pa is unable to discriminate between Ga³⁺ and Fe³⁺, this erroneously incorporates Ga³⁺ instead of Fe³⁺ into redox enzymes, impairing vital functions. Based on results of the previously granted FFC#14/2010 project, we aim at developing Ga³⁺ compounds that can specifically and selectively be directed to Pa in the lung of CF patients via inhalable formulations.

Essential methods. We will capitalize upon expertise in

organic synthesis, microbiology and pharmacology to: 1) de novo synthesize gallium complexes; 2) generate new vehicles for in vivo administration; 3) determine their pharmacological properties and antibacterial activity. The antibacterial properties of Ga³⁺ will be potentiated by conjugation with ligands that facilitate the delivery to Pa, lowering the therapeutic dosage. Inhalable Ga³⁺ formulations will be developed to facilitate administration to CF patients. The pharmacological properties of the new formulations will be assessed by: 1) inhibition of Pa growth in vitro; 2) lack of toxicity in cellular and animal systems.

Preliminary results. The PI's team has shown that the antibacterial activity of Ga³⁺ can be potentiated by complex formation with suitable ligands. Partner 1 and Partner 2 have developed novel carriers for drug inhalation in CF, and hold the expertise to evaluate them in preclinical animal models.

Expected results and their significance. We expect to generate new Ga³⁺ formulations endowed with more potent antibacterial properties, good bioavailability, low toxicity, and suited for aerosol administration. In the worrying scenario of increasing antibiotic resistance in Pa, the identification of new antimicrobials, such as gallium-based compounds, is highly desirable. These compounds hold great promise for the progression into drugs with potential clinical applicability in the short-medium perspective.

Utilizzo del gallio come antibatterico nel trattamento delle infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa*.

Ragioni dello studio. I pazienti con fibrosi cistica (FC) incorrono in una sequenza di infezioni polmonari, causate principalmente da *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), che cronizzano e compromettono la loro funzionalità respiratoria. La preoccupante tendenza verso l'antibiotico-resistenza in Pa è oggi aggravata dalla mancanza di nuovi antibiotici. Il gallio (Ga³⁺) inibisce la crescita batterica agendo da ferro-mimetico, ed è già utilizzato in medicina (Ganite®) per il trattamento di patologie non infettive. Le sue proprietà farmacologiche si basano sulla somiglianza chimica tra lo ione Ga³⁺ e lo ione ferrico (Fe³⁺).

Ipotesi e obiettivo. Pa è incapace di distinguere Ga³⁺ e Fe³⁺, e quindi incorpora erroneamente Ga³⁺ al posto di Fe³⁺ in molecole vitali per il suo metabolismo, rimanendo ucciso. Il nostro obiettivo è quello di ottenere dei derivati del Ga³⁺ opportunamente veicolati al fine di renderne possibile la somministrazione inalatoria nei pazienti FC.

Metodi essenziali. Combineremo competenze in chimica organica, microbiologia e farmacologia per sintetizzare ex novo complessi del Ga³⁺, generare veicoli per la loro somministrazione in vivo e determinarne le proprietà antibatteriche e farmacologiche. Legheremo Ga³⁺a vettori capaci di penetrare nelle cellule di Pa al fine aumentare l'attività antibatterica e ridurre la dose terapeutica. Prepareremo formulazioni inalabili di Ga³⁺, in modo da renderne più efficace ed agevole la somministrazione. L'attività farmacologica dei nuovi composti sarà valutata in base alla loro capacità di: 1) inibire la crescita di Pa in vitro; 2) non causare tossicità in sistemi cellulari ed animali.

Risultati preliminari. Evidenze preliminari hanno mostrato che l'attività antibatterica del Ga³⁺ può essere potenziata dal legame a chelanti attivamente internalizzati da Pa. Inoltre, i gruppi collaboratori hanno sviluppato dei sistemi per veicolare farmaci per via inalatoria in pazienti FC.

Risultati attesi e loro significato. Prevediamo di ottenerre nuove formulazioni di Ga³⁺ dotate di più potente attività antibatterica, maggiore biodisponibilità, minore tossicità, e somministrabili per aerosol, quindi pronte per una valutazione dell'efficacia clinica. In una prospettiva di ineluttabile aumento dell'antibiotico-resistenza in Pa, è auspicabile che siano sviluppati approcci antimicrobici innovativi, come la terapia con Ga³⁺, con la speranza che questa possa essere trasferita dal laboratorio alla clinica nel breve-medio termine.

62. Targeting extracellular Protein Disulphide Isomerase to control *Burkholderia cenocepacia* lung infections

Pacello F

Dip. di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata"
(FFC#13/2014, In progress), See Plenary Session 4, abstract n. 50

63. Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung infections

Mangoni ML

Dip. di Scienze Biochimiche, Università "La Sapienza", Roma
(FFC#11/2014, In progress), See Plenary Session 7, Abstract n. 80

4. Epidemiology and clinical research

64. CF Clinical guidelines

Braggion C

Dip. Medicina Pediatrica, Centro Fibrosi Cistica, Ospedale dei Bambini "A. Meyer" Firenze (FFC#25/2015, New)

Background. In the Cystic Fibrosis (CF) world Scientific Societies, Foundations, Hospitals and Universities publish guidelines to give recommendations on diagnosis, therapy and organization of care for the health-care professionals.

Hypothesis and objectives. Since the quality of the guidelines can vary considerably, the aims of this project are to evaluate the CF guidelines, classifying them according to their methodological quality and reliability.

Methods. Clinical practice CF guidelines on lung disease, therapy and prevention of airway infections, gastroenterology and nutrition, chest physiotherapy and CF-related diabetes will



Cesare Braggion

be retrieved from different databases. Each selected guideline will be analyzed using the AGREE II instrument by 3 indepen-

dent assessors to provide the quality grading. Tables will be set up comparing the recommendations from different guidelines with the aim to answer to relevant questions for practice.

Results. About 60 practice guidelines will be analysed and graded in high, medium and low level of quality. For the selected clinical areas synoptic tables will be set up using a "question-driven" method with the aim to compare guidelines for evidences, strength of recommendations and their agreement.

Spin-off for research & clinical purposes. Health-care professionals can have the awareness of the reliability of CF guidelines, in order to improve daily practice of evidence-based recommendations and to promote further studies in cases of uncertainty.

Analisi delle linee guida per la fibrosi cistica (FC). Dalla qualità metodologica ai contenuti

Ragioni dello studio. Le società scientifiche, le Fondazioni, gli Ospedali e le Università producono delle linee guida allo scopo di fornire agli operatori sanitari raccomandazioni sulla diagnosi, la terapia e l'organizzazione delle cure. Ciò si verifica anche per la FC. La loro qualità può peraltro variare anche considerevolmente.

Ipotesi e obiettivi. Lo scopo del progetto è perciò di classificare la qualità delle linee guida prodotte nell'ambito della FC e di compararne l'affidabilità.

Metodi. Considerando diversi fonti, saranno identificate le linee-guida pratiche sulla malattia polmonare, la prevenzione e la terapia delle infezioni respiratorie, sulla gastroenterologia e nutrizione, la fisioterapia e riabilitazione respiratoria, il diabete associato alla FC. Ciascuna linea guida sarà analizzata da 3 valutatori indipendenti utilizzando un apposito strumento metodologico, denominato AGREE II, in modo da definirne la qualità, secondo diversi criteri. Saranno costruite delle tabelle allo scopo di comparare le raccomandazioni che emergeranno sui diversi argomenti, a partire da domande concrete che si pongono gli operatori sanitari nella loro prassi quotidiana.

Risultati. Saranno valutate circa 60 linee guida ed a ciascuna sarà attribuito il grado di qualità, secondo un livello alto o medio o basso. Le Tabelle su ciascun quesito clinico avranno lo scopo di comparare le raccomandazioni delle diverse linee guida, evidenziandone le contraddizioni o le convergenze rispetto alle evidenze o la forza delle raccomandazioni.

Possibili ricadute per la ricerca e la pratica clinica. Il conoscere l'affidabilità delle linee guida offre agli operatori sanitari la possibilità di scegliere quelle da utilizzare nella pratica clinica. Laddove emergessero contraddizioni o punti deboli si potranno pianificare ulteriori studi per superarli e perciò migliorare la pratica clinica.

65. Outcomes of spontaneous application of carrier screening for cystic fibrosis: follow-up of its effects on birth prevalence, neonatal screening and reproductive behaviour of carrier couples

Castellani C

Centro fibrosi cistica, AOUI Verona (FFC Project#26/2015, New), See Plenary Session 1, abstract n. 2

66. Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations

Cirilli N¹, Raia V², De Gregorio F², Di Pietro M², Tosco A¹, Salvadori L², Sepe A¹, Buzzetti R³.

¹Centro Fibrosi Cistica, Dipartimento Materno-Infantile, Ospedali Riuniti, Presidio Salesi, Ancona; ²Dipartimento di

Scienze Mediche Traslazionali, Centro Regionale Pediatrico di riferimento per la Fibrosi cistica, Università "Federico II", Napoli; ³Epidemiologo, Bergamo (FFC#27/2015, New)



Natalia Cirilli, responsabile del progetto (foto sinistra), e Valeria Raia con una collaboratrice dell'unità Partner (foto a destra)

Background. The sweat test remains the main test for cystic fibrosis diagnosis and it is now also used to evaluate the function of the CFTR protein in basal conditions and under the influence of CFTR modulators. However it is not yet well-defined the biological variability of the test, both among different individuals (inter-individual) that within the same individual at different times and under different conditions (intra-individual).

Hypothesis and objectives. The project aims to study intra-individual sweat chloride biological variability (i.e. independent variables related to the collection or analysis of sweat) and determine whether this variability is related to factors such as diet, season and menstrual cycle.

Essential methods. 36 subjects aged 6 to 18 years will be selected and enrolled and divided into 3 cohorts: patients with classic CF, patients with atypical CF, healthy volunteers. Each subject will perform 8 sweat tests at different times to evaluate the effect of the season, with and without low salt diet regimen (except CF patients) and, in menstruating females, at the beginning and in the middle of the menstrual cycle. The statistical analysis of the data collected will clarify the edges of the intra-individual variability for each group of subjects.

Preliminary results. A total of 331 sweat tests were previously analysed in 64 patients with classic FC at two CF Centres. Each patient performed an average of 4.9 sweat tests (range 2-10) with a range of sweat chloride values between 43 and 161 mEq/L. The average of intra-individual variability in patients with CF was 31.7 mEq/L, with a range between 0 to 82 mEq/L and a standard deviation (SD) of 18.9 mEq/L. The intra-individual coefficient of variation (CV) ranged between 0% and 37%. In addition, 13% of patients showed at least one sweat chloride value > 60 mEq/L and one <60 mEq/L.

Expected results and their significance. As preliminary results show a high sweat chloride intra-individual variability in patients with classic CF, the definition of this biological variability is needed to assess the role of this analysis as a diagnostic test for CF related to specific conditions and the potential of this test in clinical trials as a measure of CFTR modulators effectiveness.

Studio della variabilità biologica intra-individuale del cloro nel sudore.

Ragioni dello studio. Il test del sudore rimane il gold standard per la diagnosi di fibrosi cistica ed oggi è usato anche per valutare la funzione della proteina CFTR, in condizioni basale e sotto effetto dei nuovi farmaci modulatori di CFTR. Tuttavia non è stata ancora ben definita la variabilità biologica dei risultati del test, sia fra individui diversi (inter-individuale) che nell'ambito dello stesso individuo in tempi e condizioni diverse (intra-individuale).

Obiettivi. Il progetto ha l'obiettivo di studiare la variabi-

lità biologica (cioè indipendente da variabili di tipo tecnico legate alla raccolta o all'analisi del sudore) intra-individuale del cloro nel sudore e stabilire se è correlata con fattori quali la dieta, la stagione e il ciclo mestruale.

Metodi essenziali. Saranno selezionati ed arruolati 36 soggetti di età compresa tra 6 e 18 anni, suddivisi in 3 gruppi: soggetti con FC classica, soggetti con FC atipica, volontari sani. Ogni soggetto eseguirà 8 test del sudore in tempi diversi per valutare l'effetto della stagione, con e senza dieta a basso contenuto di sale (tranne i soggetti FC) e, nelle femmine menstruate, prima e a metà del ciclo mestruale. L'analisi statistica dei dati raccolti potrà chiarire i margini della variabilità intra-individuale per ogni gruppo di soggetti.

Risultati preliminari. Sono stati analizzati in totale 331 test del sudore relativi a 64 pazienti con FC classica, che hanno effettuato in media 4,9 test del sudore (range 2-10). L'analisi dei dati ha mostrato un range dei valori di cloro tra 43 e 161 mEq/L. La variabilità intra-individuale nei pazienti con Fibrosi Cistica è risultata essere in media di 31,7 mEq/L, con un range tra 0 a 82 mEq/L e una deviazione standard (DS) di 18,9 mEq/L. Il coefficiente di variazione intra-individuale (CV) è oscillato tra 0% e 37%. Inoltre, il 13% dei pazienti ha mostrato almeno un valore di cloro >60 mEq/L ed un valore <60 mEq/L.

Risultati attesi e loro significato. Poiché i risultati preliminari evidenziano una elevata variabilità intra-individuale dei valori di cloro del test del sudore nei pazienti con FC classica, la definizione della variabilità biologica intra-individuale del cloro nel sudore è necessaria per definire il ruolo di tale analisi come test diagnostico per la FC correlata a specifiche condizioni, nonché la possibile applicazione in studi clinici come misura di efficacia di farmaci modulatori della proteina CFTR.

67. Cystic fibrosis and meconium ileus: a multicentric study on risk factors for adverse outcome in infancy

Padoan R

Centro Regionale di Supporto per la Fibrosi Cistica, Clinica Pediatrica, Ospedale dei Bambini, AO Spedali Civili Brescia (FFC#28/2015, New)



Rita Padoan

Background. Meconium ileus (MI) is recognized as a risk factor for poor outcome in Cystic Fibrosis (CF) patients. Long term observational studies indicated that MI patients suffer of a more severe disease. However, more recent experiences, from Europe and Australia, showed that outcomes in MI patients may be not different than that reached in screened infants. There are no study about clinical status of Italian CF patients presenting with MI at birth.

Hypothesis and objectives. We suggest that risk factors associated to poor clinical outcomes might be identified in patients with MI, and eventually they might be modifiable. The first aim of the study is to identify risk factors associated

to poor clinical outcomes in the first year of life in MI infants. Secondary aims are to calculate frequency of MI patients negative to newborn screening program and to describe complications presented in early age.

Essential methods. Our survey will include CF infants born in the years 2009-2014, presenting MI, recruited in 19 CF care Centers participating in the study. All subjects will be evaluated according to gender, genotype, pancreas status, ethnicity, age at diagnosis, age at start of therapy; clinical data will be collected from zero to 36 months. Data/information will be collected on: prenatal diagnosis of intestinal obstruction, medical or surgical treatment of intestinal occlusion, length of resection, presence of stomas (and their duration), parenteral nutrition, length of neonatal hospitalization. All data will be recorded by research assistants (monitors) trained in audit visits. Patients with poor outcomes will be identified and risk factors for such outcomes evaluated.

Preliminary results. Previous our 2012 survey of CFNBS in Italy (FFC#19/2012) included 427 CF infants, born in 2009-2011 and diagnosed within the first year of life. Among them 56 infants presented meconium ileus, and about 40% of them showed poor outcome (failure to thrive, *Pseudomonas aeruginosa* infection) at one year of age.

Expected results and their significance. We expect to identify the causes of poor clinical outcomes in MI patients, to recognize modifiable factors, in order to improve clinical and care practices. We expect to write recommendation for CF Centers and Neonatal surgeons as regard the diagnostic-therapeutic protocols in infants with neonatal obstruction.

Fibrosi cistica ed ileo da meconio: studio multicentrico sui fattori di rischio per esiti avversi durante l'infanzia

Ragioni del progetto. L'ileo da meconio (IM) è un importante fattore di rischio per una prognosi negativa, come cresciuta e come funzione respiratoria. Studi clinico-epidemiologici indicano in questi pazienti una malattia più grave. Tuttavia, alcune esperienze, europee ed australiane, mostrano come anche nei pazienti con IM possa essere raggiunta una crescita ed una funzione respiratoria pari a quella dei pazienti con Fibrosi Cistica (FC) diagnosticati per screening. Non esistono dati epidemiologici o clinici per i pazienti italiani con IM.

Ipotesi e obiettivo. L'ipotesi è che possano esistere fattori di rischio per prognosi negativa nel primo anno di vita nei pazienti con IM, e che alcuni di questi fattori possano essere modificabili. L'obiettivo dello studio è identificare i fattori di rischio associati a risultati clinici insoddisfacenti nel primo anno di vita in soggetti con IM.

Metodi essenziali. Vengono arruolati nello studio i soggetti con IM, nati negli anni 2009-2014, seguiti nei 19 Centri FC partecipanti al progetto. Per ogni soggetto vengono raccolti dati riguardanti la vita prenatale, neonatale (età gestazionale, peso alla nascita, risultato dello screening neonatale), dati clinici (ileo da meconio medico o chirurgico, semplice o complesso), dati anagrafici (luogo di nascita, sesso, genotipo, etnia), età alla diagnosi di FC, trattamenti medici e chirurgici, ospedalizzazioni e loro durata. Vengono inoltre raccolti i dati clinici (peso/altezza, infezioni respiratorie, complicanze) da zero a 36 mesi. Verranno confrontati i soggetti con risultati clinici non soddisfacenti (mancata crescita e/o infezione da *Pseudomonas aeruginosa*) con i soggetti che presentano risultati clinici soddisfacenti.

Risultati preliminari. In un precedente studio (FFC #19/2012), il 40% dei soggetti con IM presentava ad 1 anno un evento avverso (mancata crescita o infezione da *Pseudomonas aeruginosa*).

Risultati attesi e loro significato. Il nostro studio permetterà di identificare i principali fattori di rischio per una prognosi negativa nei bambini che presentano alla nascita IM. Permetterà

inoltre di identificare i fattori suscettibili di interventi dal punto di vista sia medico che chirurgico. Sarà quindi possibile pianificare azioni correttive per migliorare la pratica medica e chirurgica, e quindi la prognosi dei pazienti. Tale studio permetterà di redigere in collaborazione con i chirurghi pediatri raccomandazioni per il miglior trattamento dei soggetti con FC e IM.

68. Testing CFTR repair in cystic fibrosis patients carrying nonsense and channel gating mutations

Sorio C¹, Averna M²

¹Department of Medicine, Cystic Fibrosis Translational Research Laboratory "Daniele Lissandrini", University of Verona, Italy; ²Department of Experimental Medicine-Section of Biochemistry, University of Genova, Genova, Italy (FFC#29/2015, New)



Claudio Sorio con le collaboratrici di progetto (foto sinistra) e Monica Averna, partner, seconda da sinistra (foto destra)

Background. Our previous studies (projects FFC#26/2011 and FFC#6/2013) and our studies published in peer-reviewed journals confirmed the possibility to evaluate CFTR function in peripheral blood cells. Now it is time to evaluate the capability of this approach to measure the effect of new drugs capable to correct CFTR defect in patients undergoing programmed clinical trials in Rotterdam and Verona, with the contribution of the University of Genoa.

Hypothesis and objectives. Our project aim at the validation of new Methods, suitable for the functional evaluation of CFTR channel in CF patients as well as the response to drugs targeting the basic defect.

Essential methods. We will evaluate for the first time a group of patients with the diagnosis of CF and that present with class III (responsive to Ivacaftor), and class I (responsive to PTC124) mutations. Additional patients carrying other gating mutations will be evaluated. The assays rely on the measure of the amount of CFTR on the cell surface, the measure of CFTR activity by two Methods.: patch clamp (selected cases) and on the Iodine-dependent change of fluorescence of a reporter protein. Iodine can in fact be effectively transported by CFTR channel instead of chloride ions.

Expected results and their significance. We expect to evaluate whether the measure CFTR expression/function in leukocytes will represent a novel and effective approach for the evaluation of the efficacy of a pharmacological treatment capable to correct the function of a mutated CFTR ion channel. This approach might represent an innovative and convenient CFTR functional assay.

Analisi della correzione del difetto del canale CFTR in pazienti con mutazioni nonsenso e difetti di apertura del canale

Ragioni dello studio. Risulta sempre più importante esse-

re in grado di evidenziare e misurare l'effetto dei nuovi farmaci in grado di correggere il difetto di CFTR

Ipotesi e obiettivo. Il nostro progetto si propone la valutazione di nuovi metodi sperimentali per la misura dell'attività del canale CFTR su leucociti di soggetti affetti da FC e la risposta di tali cellule a farmaci che abbiano come bersaglio il difetto di base della Fibrosi Cistica.

Materiali, pazienti, metodi. Lo studio si baserà sulla disponibilità di pazienti sottoposti a studi clinici programmati in due centri europei: Rotterdam e Verona, con il contributo dell'Università di Genova. Valuteremo per la prima volta un gruppo di pazienti con diagnosi di Fibrosi Cistica che presentano mutazioni di classe III (che rispondono a Ivacaftor) e pazienti portatori di mutazioni nonsenso (classe I) a cui verrà somministrata la molecola sperimentale PTC124. I saggi che intendiamo utilizzare si basano sulla analisi della espressione di CFTR sulle cellule mediante citofluorimetria, e la misura della funzione del canale mediante la metodica "patch clamp" e una metodica basata sulla capacità di una proteina in grado di emettere fluorescenza di modificare l'emissione di luce in funzione alla concentrazione di iodio in soluzione. Lo iodio può, infatti, essere trasportato efficientemente dal canale CFTR in sostituzione degli ioni cloro.

Risultati preliminari. I nostri studi, sviluppati nel corso dei precedenti progetti FFC#26/2011 e FFC#6/2013, e pubblicati su riviste internazionali confermano la possibilità di poter valutare la funzionalità del prodotto del gene CFTR in cellule del sangue.

Risultati attesi e loro significato. Ci attendiamo di riuscire a determinare se la espressione e/o funzione del canale CFTR misurata nei leucociti possa rappresentare un nuovo, rapido e più semplice approccio per la valutazione dell'efficacia di un trattamento farmacologico atto a ripristinare la funzione del canale CFTR.

69. GSH inhalation therapies in CF: how useful, how safe? Set-up of a CF murine model for monitoring of inflammation in vivo and assessment of convenient alternatives

Corti A

Dip. di Ricerca Traslazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa (FFC#18/2014, In progress)



Alessandro Corti

Background. Among antiinflammatory therapies, inhalation (aerosol) treatments with glutathione (GSH) have gained interest among CF patients. GSH is a primary antioxidant whose levels are significantly decreased in lungs during inflammatory processes. However the results attained so far remain disappointing, and it is not clear why. One of the possible reasons of such inefficiency may lie in the fact that CF lungs often present with increased levels of gamma-glutamyltransferase (GGT), an enzyme secreted by inflammatory cells, capable of degrading GSH.

Preliminary Results. It has been shown (in cultured cells) that GSH degradation – besides consuming GSH – also originates metabolites having (paradoxically) a pro-inflammatory and harmful action. Moreover, we have demonstrated that GGT levels in sputum of CF patients are inversely correlated with respiratory function (FEV1). On the other hand, the same enzyme also catalyzes the metabolism of S-nitrosoglutathione (GSNO), a compound provided with antiinflammatory properties.

Hypothesis & Objectives. It is of importance to clarify whether GSH inhalation therapies are truly beneficial, useless or even – in selected conditions – potentially dangerous. For the first time this study will try to clarify whether the presence of GGT activity in lung fluids of patients may represent a contraindication to GSH-based therapies. It will also be verified whether the inhibition of GGT may suppress the proinflammatory effects and restore the antioxidant/beneficial action of GSH.

Essential methods. A pioneering CF animal model will be employed (mice with a mutation causing a disease equivalent to human CF and transiently transgenized with a reporter gene system allowing to “visualize” the activation of inflammation in the living animal). In addition, suitable laboratory analyses will be carried out on samples obtained from CF patients during GSH inhalation treatment. All biochemical processes (beneficial or potentially harmful) involved will be evaluated in the animal model.

Expected results and their significance. It will be elucidated if and in which selected CF patients the GSH inhalation is really safe and potentially beneficial. On the other hand elements will be collected in order to identify patients liable to suffer from undesired effects of the treatment. It will also be verified whether a valuable alternative to GSH for inhalation therapies may be represented by GSNO, a GGT substrate possibly exerting a more efficient antiinflammatory action.

Terapie inalanti con glutazione in fibrosi cistica: quanto sono utili, quanto sicure? Messa a punto di un modello murino di fibrosi cistica per il monitoraggio dell’infiammazione in vivo e la valutazione di trattamenti alternativi

Ragioni dello studio. Tra le terapie antiinflammatorie, quelle inalanti (aerosol) miranti a ricostituire nei fluidi bronchiali le riserve di glutazione (GSH) si sono diffuse da tempo tra i pazienti FC. Il GSH è infatti un antiossidante che viene consumato durante i processi infiammatori. I risultati ottenuti finora rimangono però deludenti e non è chiaro perché. Uno dei motivi può essere il fatto che i polmoni FC spesso presentano elevati livelli di gammaglutamiltransferasi (GGT), un enzima secreto dalle cellule infiammatorie capace di degradare il GSH.

Risultati preliminari. È stato dimostrato (in cellule coltivate) che tale degradazione – oltre a consumare il GSH – può dare origine a metaboliti ad azione (paradossalmente) proinflammatoria e dunque nociva! Abbiamo inoltre dimostrato che i livelli di GGT in campioni di escreto FC correlano inversamente con il parametro di funzionalità respiratoria FEV1. D’altro canto, la GGT catalizza anche il metabolismo del S-nitrosoglutazione (GSNO), un composto che invece è dotato di azione antiinflammatoria.

Obiettivi principali. È importante chiarire se la terapia inalatoria con GSH sia realmente benefica, del tutto inutile o se – in determinate condizioni – possa risultare pericolosa. Per la prima volta verrà verificato se la presenza nei fluidi polmonari di GGT può costituire controindicazione all’impiego di terapia inalatoria con GSH. Verrà inoltre verificato se l’inibizione dell’enzima GGT possa ovviare agli effetti proinflammatori e ripristinare gli effetti antiossidanti/benefici del GSH.

Metodi. Verrà utilizzato un modello animale d’avanguardia (topini con malattia equivalente alla FC umana, “preparati” con una procedura biologico-molecolare che permette di “visualizzare” l’attivazione del processo infiammatorio

nell’animale vivente) e saranno inoltre condotte adeguate indagini di laboratorio su campioni ottenuti da pazienti FC in corso di terapia inalatoria con GSH. Saranno verificati tutti i processi biochimici in gioco, benefici (antiinfiammatori) o potenzialmente nocivi.

Risultati attesi. Verrà chiarito se e in quali pazienti specifici il trattamento con GSH è veramente sicuro e potenzialmente utile. Viceversa saranno poste le basi per identificare i pazienti in cui lo stesso trattamento può invece suscitare reazioni avverse. Sarà verificato se una valida alternativa al GSH possa essere rappresentata dal GSNO, anch’esso substrato della GGT ma probabilmente dotato di azione antiinflammatoria più efficace.

70. *Pseudomonas aeruginosa eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicentre study comparing classic treatment protocols with classic treatment combined with antibiotic treatment of upper airways*

Taccetti G

Dip. Medicina Pediatrica, Ospedale dei Bambini “A. Meyer” Firenze (FFC#30/2015, New)



Giovanni Taccetti

Background. Chronic pulmonary infection due to *P. aeruginosa* is a negative prognostic factor for cystic fibrosis (CF) patients. The eradication of *P. aeruginosa* in CF patients has been one of the major areas of treatment success in the last 10 years. Early antibiotic treatment can eliminate the bacteria in 70% of cases and delay the development of chronic infection. Currently there is no gold standard treatment protocol.

Hypothesis and objectives. It has been demonstrated that patients can be reinfected by *P. aeruginosa*. Recent data indicate that the paranasal sinuses are an initial site of the infection and serve as a reservoir for subsequent reinfection. It has also been hypothesized that *P. aeruginosa* undergoes genetic adaptation in the respiratory tract of CF patients.

The main objective of this study is to compare the efficacy of two types of treatment: the classic eradication protocol used until now, versus the classic protocol together with nasal lavage with colistin. The role of the paranasal sinuses in the development of *P. aeruginosa* infection will be studied microbiologically.

Essential methods. CF patients will be randomized to receive either the classic or the experimental treatment, which will last 4 weeks in both groups. Eradication success will be defined as 3 negative, successive *P. aeruginosa* cultures within 6 months. Possible differences in the time required before *P. aeruginosa* recolonization will also be studied. The *P. aeruginosa* strains isolated both from the sinuses and the lower respiratory tract of the patients will be investigated microbiologically to evaluate genetic mutations.

Preliminary results. The trial has been submitted to the

Ethic Committee of Meyer Hospital. No patients have yet been recruited.

Expected results and their significance. The combination of classic eradication therapy together with nasal lavage could prove to be a simple and useful method for further delaying the reappearance of *P. aeruginosa* in the lungs of CF patients. This study will help to focus on the role of the sinuses and reveal the possible utility of a different approach to *P. aeruginosa* infection in CF patients.

Studio randomizzato multicentrico sull' eradicazione di *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica: confronto tra il trattamento eradicante classico e il trattamento classico associato con la terapia delle alte vie respiratorie

Ragioni dello studio. L'infezione polmonare cronica da *P. aeruginosa* è un fattore prognostico negativo in Fibrosi Cistica (FC). L'eradicazione di *P. aeruginosa* è stata nell'ultimo decennio uno dei maggiori progressi nella terapia della FC. Il trattamento antibiotico precoce elimina il germe dalle vie aeree nel 70% dei casi e ritarda notevolmente lo sviluppo dell'infezione cronica. Attualmente non esiste un protocollo di trattamento eradicante migliore degli altri.

Ipotesi e obiettivo. È stato visto che molti pazienti possono ripresentare delle infezioni da *P. aeruginosa*. Alcuni dati hanno evidenziato che i seni paranasali possono essere la sede iniziale dell'infezione e avere un ruolo anche nei successivi episodi infettivi. È inoltre ipotizzabile che a livello dei seni si verifichi un progressivo adattamento genetico di *P. aeruginosa* alle vie aeree del paziente FC. Questo studio ha come obiettivo quello di comparare l'efficacia di due tipi di trattamento per l'eliminazione di *P. aeruginosa* dalle vie aeree nelle fasi iniziali dell'infezione. Verrà inoltre studiato dal punto di vista microbiologico il ruolo dei seni paranasali nello sviluppo dell'infezione da *P. aeruginosa*.

Metodi essenziali. I pazienti verranno assegnati, da un software informatico apposito, ad uno dei due gruppi di trattamento (classico o sperimentale) in modo casuale. Al gruppo classico verranno prescritti i farmaci finora usati dal centro, al gruppo sperimentale verranno prescritti gli stessi farmaci con l'aggiunta di lavaggi nasali con antibiotico in soluzione fisiologica. Il trattamento durerà 4 settimane in entrambi i gruppi. L'eradicazione viene definita come 3 risultati colturali negativi

successivi nell'arco di 6 mesi. Verranno inoltre precise eventuali differenze nel tempo di reinfezione da *P. aeruginosa*.

Risultati preliminari. Il trial è stato presentato al Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Meyer. Ancora non sono stati arruolati pazienti

Risultati attesi e loro significato. Lo studio ci permetterà di capire se agendo anche a livello dei seni paranasali è possibile eliminare *P. aeruginosa* in modo più efficace rispetto al trattamento classico. Il laboratorio di microbiologia inoltre, con i campioni raccolti durante le visite, studierà il ruolo dei seni paranasali nello sviluppo dell'infezione da *P. aeruginosa*.

71 Transmissibility and clinical significance of *Mycobacterium abscessus* in patients with cystic fibrosis

Tortoli E¹, Cariani ML², Di Serio C³, Niemann S⁴

¹Unità Patogeni Batterici Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele; ²Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano; ³CUSSB-Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano; ⁴Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel, Germany (FFC Project#27/2014, In progress), See Plenary Session 1, Abstract n. 6

72. In vitro study of potential pro-fibrotic effect of Everolimus in different human airway cell lines. Searching for new biomarkers to optimize MTOR-inhibitor immunosuppressive treatment of cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation

Tomei P¹, Masola V¹, Granata S¹, Chilosì M², Lupo A¹, Zaza G¹

¹Renal Unit, Department of Medicine, University of Verona; ²Department of Pathology and Diagnostics, Laboratory of Molecular Pathology, University-Hospital of Verona, Italy (FFC#28/2014, In progress), See Plenary Session 1, Abstract n. 5

PLENARY SESSION 6

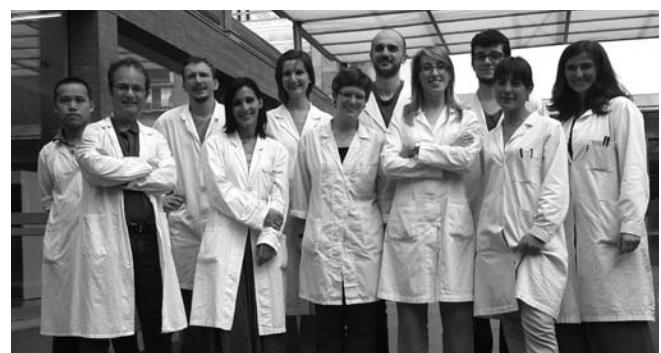
New targets for anti-inflammatory therapies

73. Targeting PI3Kγ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis

Hirsch E¹, Laudanna C², Ghigo A¹

¹Dip. Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Centro di Biotecnologie Molecolari, Torino; ²Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona, Lab. di Traffico Cellulare e Trasduzione del segnale (FFC #25/2014, concluded - FFC#23/2015, extension)

Background. The underlying cause of cystic fibrosis (CF) is a mutation in the gene encoding the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), a cyclic AMP (cAMP)-stimulated chloride channel. The ensuing CFTR hypofunction primarily affects the respiratory system, in which the reduced activity of the channel ultimately leads to respiratory failure



Emilio Hirsch (secondo da sinistra) con il suo team di ricerca

and death in 80% of CF patients. A number of CFTR correctors and potentiators, restoring membrane expression and cAMP-mediated gating of the channel, have been developed,

but their efficacy appears to be unsatisfactory and to strictly rely on elevated concentrations of intracellular cAMP.

Hypothesis and objectives. Given the well-established role of phosphoinositide 3-kinase (PI3K γ) as negative regulator of cAMP, we intend to explore the therapeutic potential of PI3K γ inhibition in cell-based and pre-clinical models of CF.

Preliminary results. Our preliminary data indicate that, in airway epithelial cells, PI3K γ primarily serves as a scaffold protein that anchors cAMP-degrading enzymes (PDE) to their activator, protein kinase A (PKA) and ultimately promotes cAMP clearance. A compound disrupting PI3K scaffold function (Patent pending N°TO2014A001105) lowers PDE4 activity and enhances cAMP-mediated phosphorylation and activation of F508del CFTR. Intriguingly, this molecule also promotes cAMP-mediated inactivation of leukocytes and cAMP-dependent relaxation of airway smooth muscles.

Essential Methods. We intend to investigate whether inhibition of PI3K γ scaffold activity is a suitable approach to simultaneously enhance cAMP signaling in the multitude of cell types that critically contributes to CF pathogenesis. In particular, we plan to evaluate the effects of the molecule (i) on CFTR conductance in CF rectal biopsies; (ii) on smooth muscle cell relaxation in tracheal explants and (iii) on adhesion/migration of human primary professional phagocytes. Finally, we will explore the ability of the compound to alleviate disease severity in preclinical models of (i) CF-like and (ii) CF lung disease.

Expected results and their significance. We anticipate that a compound targeting PI3K γ scaffold activity stimulates cAMP-dependent events in airway epithelial, smooth muscle and immune cells and thus provides three independent therapeutic benefits in CF models by: (i) restoring CFTR conductance, (ii) limiting airway obstruction and (iii) reducing lung neutrophilic inflammation.

PI3K γ : un nuovo bersaglio terapeutico per riattivare il CFTR e ridurre l'infiammazione e l'ostruzione delle vie aeree nella fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La causa della fibrosi cistica (FC) è una mutazione nel gene CFTR, che codifica per un canale espresso prevalentemente in cellule epiteliali secretorie, chiamato regolatore di conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR). I pazienti con FC hanno gravi complicazioni cliniche che colpiscono diversi organi, tra cui l'intestino, il pancreas e il fegato. Il bersaglio più colpito è tuttavia il sistema respiratorio, in cui la riduzione dell'attività del canale causa l'ostruzione delle piccole vie aeree che, insieme con l'infiammazione delle stesse ed infezioni, può condurre a insufficienza respiratoria e morte nel 80% dei pazienti FC.

Ipotesi ed obiettivo. L'ipotesi fondante di questo progetto è che l'enzima fosfoinositide 3-chinasì (PI3K γ) costituisca un regolatore chiave dei diversi tipi cellulari che contribuiscono all'insorgenza ed alla progressione della patologia. Pertanto, intendiamo valutare se l'inibizione di questo enzima rappresenti un valido approccio terapeutico nel trattamento della FC, efficace nel correggere il difetto primario della malattia, la disfunzione del canale CFTR, e nel limitare le manifestazioni cliniche associate, quali l'infiammazione e l'ostruzione delle vie aeree.

Metodi essenziali e risultati preliminari. A tal scopo, analizzeremo i potenziali effetti terapeutici di un inibitore di PI3K γ , recentemente identificato nel nostro laboratorio e in attesa di brevetto (n°TO2014A001105), in modelli cellulari ed animali di FC. In particolare, esamineremo la capacità di tale molecola di potenziare l'attività del canale CFTR mutato negli epitelii bronchiali. Inoltre, ci proponiamo di esplorare se lo stesso inibitore riduce efficacemente l'attivazione leucocitaria, limitando quindi l'infiammazione polmonare incontrollata che caratterizza i pazienti con FC. Infine, si intende

valutare la capacità della molecola di funzionare come broncodilatatore e alleviare pertanto l'iperreattività bronchiale associata alla FC.

Risultati attesi e loro significato. Prevediamo che questo inibitore di PI3K γ possa produrre tre benefici terapeutici indipendenti nel trattamento della FC, agendo come (i) attivatore del canale CFTR mutato, (ii) agente anti-infiammatorio e (iii) broncodilatatore.

74. Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation

Romani L

Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Perugia
(FFC#22/2014, In progress)



Luigina Romani, terza da sinistra, con il suo gruppo di ricerca

Background. In patients with Cystic Fibrosis (CF), the progressive decline of pulmonary function is due to a vicious cycle of airways infection and inflammation. Inflammation can be more damaging than the insult itself if uncontrolled, excessive, or prolonged. Building upon the results from our past projects –indicating how the application of a system biology approach and new findings from the laboratory may translate into the development of new therapeutics and rationales for their use–we are proposing preclinical evaluation study of Anakinra, a recombinant, non-glycosylated version of human IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) in CF. Since 2001, anakinra has proved to be efficacious in a broad spectrum of auto-inflammatory diseases with a remarkable record of safety.

Hypothesis and objectives. Evaluation of the efficacy of anakinra in experimental and preclinical models of CF: 1. definition of the molecular mechanisms underlying anakinra activity, with emphasis on the reciprocally regulated processes, inflammasome and autophagy; 2. screening of CF patients for IL-1Ra deficiency and the definition of anakinra-responsive signatures through microarray gene expression profiling.

Methods. The project includes experimental and human studies consisting of: 1. fungal or bacterial infections in selected, genetically-modified mice treated with anakinra; 2. *in vitro* studies on ex-vivo purified immune and non-immune cells from mice and human bronchial epithelial cells (HBE) from CF and non-CF patients; 3. screening of CF patients for IL-1RA deficiency and microarray gene expression profiling.

Preliminary Results. In this study we determined the relative contribution of different inflammasomes to infections and inflammation in mice with CF. We found that, both NLRP3 and NLRC4 contributed to IL-1 β production and neutrophil recruitment in *A. fumigatus* and *P. aeruginosa* infections. Pathogenic NLRP3 activity was observed in murine and human CF and correlated with defective IL-1Ra production and NLRC4 activation. Our results indicate that anakinra inhibited inflammasome-dependent inflammation in the lungs and

could be a promising therapy of inflammation in CF.

Spin-off for research & clinical purposes. This study will provide the foundation for repurposing a drug approved for other indications for the treatment of CF.

Antagonisti della risposta infiammatoria mediata dai linfociti Th17 nella Fibrosi Cistica: valutazione preclinica dell'efficacia di anakinra

Ragioni dello studio. Nei pazienti con Fibrosi Cistica (FC), il progressivo declino della funzione polmonare è causa di un circolo vizioso tra infezione ed infiammazione delle vie aeree. Qualora l'infiammazione sia non controllata, eccessiva o prolungata, questa può risultare più dannosa che l'insulto stesso. Il complesso infiammatorio chiamato "inflammasoma" appare sempre più coinvolto nei meccanismi di attivazione, regolazione e cronicizzazione dell'infiammazione. Questo progetto prevede lo studio preclinico di anakinra (un ricombinante antagonista di IL-1R), un farmaco bloccante l'inflammasoma, già usato nel trattamento di varie patologie umane su base auto-infiammatoria, di ottima tollerabilità e scarsa tossicità.

Ipotesi e obiettivi. In questo progetto proponiamo di: 1. valutare l'efficacia di anakinra in vivo come nuovo agente anti-infiammatori; 2. valutare l'impatto di anakinra su l'inflammasoma; 3. valutare, attraverso lo screening dei polimorfismi (SNPs) potenzialmente associati con l'attività dell'"inflammasoma", la suscettibilità alla patologia polmonare dei pazienti CF.

Metodi. Lo studio ha previsto l'utilizzo di modelli in vivo ed in vitro utili a valutare l'impatto di anakinra su infezioni ed infiammazione polmonari.

Risultati. Il nostro studio ha svelato il contributo relativo dei vari componenti dell'inflammasoma (NLRP3 e NLRC4) nel processo infettivo e/o infiammatorio che si verifica in corso di infezione polmonare in CF. Nella fattispecie, l'attivazione esagerata ed incontrollata di NLRP3 correlava con una esagerata produzione di IL1 β e, pertanto, con una severa infiammazione polmonare. L'attivazione di NLRC4, al contrario, si associa ad abbondante produzione di IL-1Ra e, pertanto, al blocco dell'asse NLRP3/IL1b e dell'infiammazione polmonare. Essendo il funzionamento dell'asse NLRC4/IL-1Ra difettoso in CF, sia nel topo che nelle cellule bronchiali umane, i nostri dati fornivano le basi razionali per l'impiego di anakinra in condizioni di difettosa produzione di IL-1ra, quale quella osservata in CF. I nostri risultati hanno chiaramente indicato che anakinra potentemente inibiva l'eccessiva attivazione di NLRP3, in vitro ed in vivo, e pertanto ne suggeriscono l'impiego in CF.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Anakinra ha tutte le premesse di un farmaco potenzialmente efficace anche in FC e questo studio intende fornire tutte le informazioni necessarie per uno studio pilota con anakinra in pazienti FC.

75. Pathophysiological relevance of glycosaminoglycans in *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infections and validation of new therapeutic approaches to modulate inflammation and tissue remodelling

Riva C¹, Lorè NI¹, Sipione B¹, Veraldi N², Cariani L³, Girelli D³, De Fino I¹, Nonis A⁴, Scalzi E², Spagnuolo L¹, Bragonzi A¹, Colombo C⁵, Naggi A², Cigana C¹

¹ Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy; ²Istituto di Ricerche Chimiche e Biochimiche "G. Ronzoni", Milano, Italy;

³ Cystic Fibrosis Microbiology Laboratory, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy; ⁴ Universi-

sity Center for Statistics in the Biomedical Sciences (CUSSB), Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy; ⁵ Cystic Fibrosis Center, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy (FFC#14/2013, Concluded)



Foto sinistra: Cristina Cigana, responsabile del progetto, al centro. Foto centrale e destra: Annamaria Naggi e Carla Colombo, partner di progetto

Background. *P. aeruginosa* chronic colonization of CF airways is associated to physical changes, characterized by mucus hypersecretion, degradation of extracellular matrix, and high levels of sulphated glycosaminoglycans (sGAG).

Hypothesis and objectives. We hypothesized that during *P. aeruginosa* chronic lung infection there is an increasing concentration and sulphation of different sGAG, contributing to inflammation and tissue damage. Thus the objectives of this project were to establish the role of sGAG during *P. aeruginosa* chronic infection and to modulate the vicious inflammation-damage cycle using modified polysaccharides (PS) derived from heparin.

Methods. *P. aeruginosa* clinical strains were used in vitro and to induce acute and chronic lung infection in CF and non-CF mice. sGAG were quantified by dyebinding assay in murine lungs and sputum from CF patients and correlated to biochemical and clinical markers. The high performance liquid chromatography-mass spectrometry was used to distinguish different sGAG species in murine lungs. PS were ad-hoc synthesized and tested subcutaneously in mice during *P. aeruginosa* lung infection.

Results. During chronic colonization, mice infected with *P. aeruginosa* showed higher levels of sGAG and, in particular, heparin/heparan sulfate compared to control mice. Interestingly, CF mice showed the presence of different heparin/heparan sulphate chains. C23, a compound selected from a library of PS with attenuated anticoagulant properties, inhibited markers of inflammation and tissue damage induced by *P. aeruginosa* acute and chronic lung infection in murine models. Analysis in human respiratory samples showed that sGAG are present in the airways of CF patients and they correlate with markers of airways disease progression and with the length of *P. aeruginosa* colonization.

Spin-off for research & clinical purposes. These findings prompt to further investigate the potential use of sGAG as non-invasive prognostic biomarkers of lung injury in CF patients. In addition, these data support the further evaluation and pre-clinical testing of the compound C23 as a novel therapeutic molecule to counteract excessive inflammation and tissue damage induced by *P. aeruginosa* pulmonary infections in CF patients.

Rilevanza fisiopatologica dei glicosaminoglicani nelle infezioni croniche da *Pseudomonas aeruginosa* e validazione di nuovi approcci terapeutici per modularne l'attività infiammatoria e di danneggiamento del tessuto polmonare

Ragioni dello studio. I cambiamenti strutturali delle vie respiratorie FC, in seguito ad infezione cronica da *P. aerugino-*

sa, sono caratterizzati da ipersecrezione di muco, degradazione della matrice strutturale e alti livelli di glicosaminoglicani (GAG), tra i principali costituenti del tessuto polmonare.

Ipotesi e obiettivi. Abbiamo ipotizzato che ci sia un aumento della concentrazione e della solfatazione di differenti GAG che contribuiscono all'infiammazione e al danno tessutale durante le infezioni da *P. aeruginosa*. Lo scopo di questo progetto è, quindi, di stabilire il ruolo dei GAG nel sovvertimento della struttura del tessuto polmonare, e di interferire in questo processo con farmaci appropriati.

Metodi. Ceppi clinici di *P. aeruginosa* sono stati utilizzati per infettare cellule e topi FC e non-FC in modelli di infezione acuta e cronica per valutare la quantità e la composizione dei GAG. Sono stati selezionati alcuni composti appartenenti al gruppo dei polisaccaridi solfatati, provenienti da modificazione chimica di un noto farmaco anticoagulante, l'eparina, aventi anche effetti sull'infiammazione. Questi composti competono con i GAG, perciò sono stati testati nei modelli murini di infezione polmonare da *P. aeruginosa* per individuare quelli capaci di esercitare un'azione benefica, con minime conseguenze a livello della coagulazione.

Risultati. L'infezione cronica con *P. aeruginosa* induce un aumento dei GAG solfati nei polmoni murini. Tra i derivati testati in modelli di infezione acuta e cronica con *P. aeruginosa*, il composto C23 ha mostrato risultati promettenti inibendo in modo significativo marcatori di infiammazione e danno tessutale indotti da *P. aeruginosa*. Le analisi dei campioni respiratori umani mostrano che i GAG aumentano nei polmoni di pazienti FC con la persistenza di *P. aeruginosa* e correlano con marcatori associati alla progressione della patologia respiratoria.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I risultati ottenuti dimostrano che alcuni specifici PS modificati, in particolare il C23, competono con i GAG nel tessuto polmonare inibendo sia l'infiammazione e il rimodellamento tessutale, sia la capacità di *P. aeruginosa* di organizzarsi in biofilm, un aggregato di batteri e loro prodotti che li protegge sia dalle difese dell'ospite sia dagli antibiotici. Questi dati supportano ulteriori analisi precliniche di questi composti come potenziali nuove terapie per i pazienti con FC affetti da infezioni polmonari con *P. aeruginosa*.

76. Sphingolipid targeting in inflammation and fungal infection

Caretti A¹, Perdoni E², Falleni M³, Tosi D³, Casas J⁴, Fabrias G⁴, Ghidoni R¹, Borghi E², Signorelli P¹

¹University of Milan, Dept. Health Sciences, Biochemistry & Mol. Biology Lab.; ²University of Milan, Dept. Health Sciences, Microbiology Lab; ³University of Milan, Dept. Health Sciences, Anatomical Pathology Lab; ⁴Research Unit On Bioactive Molecules, Department of Biomed. Chem., IQAC/CSIC, Barcelona, Spain (FFC#20/2013, Concluded)

Background. The sphingolipid mediator ceramide accumulates in chronic inflammatory diseases, such as Cystic Fibrosis and COPD, promoting inflammation and favoring infection. Sphingolipids (SPLs) are essential components of fungal membranes and signaling. Myriocin (Myr) inhibits SPLs synthesis in both human and fungi. We previously demonstrated that Myr loaded nanocarriers (SLN) reduces CF mice lung inflammation, ceramide content and *P. aeruginosa* infection (Caretti et al BBA 2014).

Hypothesis. We hypothesize that Myr modulation of SPLs synthesis, by lowering ceramide expression level, could reduce *A. fumigatus* infection and inflammation in both *in vitro* and *in vivo* CF models.

Methods. To assess the anti-inflammatory and antifungal potential of sphingolipids metabolism inhibition, we infected



Paola Signorelli, seconda da destra, con il suo gruppo di ricerca

CF (IB3) and the WT (C38) human respiratory epithelial cells line with *A. fumigatus* w/o Myr treatment and we evaluated by RT-PCR and ELISA the cytokines expression level. Moreover, we treated CF mice model by intra-tracheal injection (by means of PennCentury micronebulisation) of SLN loaded with Myr, followed by infection with *A. fumigatus*, evaluating the inflammatory mediators as for airway epithelial cells. Sphingolipids analysis was performed by LC-MS spectrometry. Morphological studies on biofilm and *A. fumigatus* structure were done by TEM analysis while immunohistochemistry staining of lung tissue sections was used to localize and characterize *A. fumigatus*.

Results. We here demonstrate the antifungal activity of Myr against both planktonic *A. fumigatus* and preformed biofilms *in vitro*. TEM studies show important morphological alterations in *A. fumigatus* structure, such as invaginations of the cell membrane, modification in the vacuolar system and presence of multilamellar bodies, in some cases within vacuoles. From *in vivo* studies in murine model of pulmonary infection, we demonstrate that myriocin intratrachea administration, via drug loaded nanocarriers, is able to reduce lung fungal invasion and its derived inflammation.

Spin-off for research & clinical purposes. We speculate that inhibition of sphingolipid synthesis could represent a new target to fight *Aspergillus fumigatus* biofilm related drug resistance in chronic inflammatory disease such as CF.

Gli sfingolipidi come bersaglio terapeutico nell'infezione fungina polmonare.

Ragioni dello studio. Il ceramide, componente strutturale e mediatore del segnale appartenente alla classe degli sfingolipidi, si accumula nelle patologie infiammatorie croniche quali la Fibrosi Cistica (FC) e la COPD, promuovendo lo stato infiammatorio e favorendo l'insorgenza di infezioni. Gli sfingolipidi sono componenti essenziali della membrana dei funghi e partecipano alla trasmissione dei segnali intra/extracellulari. La Miriocina inibisce la produzione degli sfingolipidi sia nell'uomo che nel fungo. Il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato che nano-particelle contenenti Miriocina sono efficaci nel ridurre l'infiammazione, il contenuto di ceramide e l'infezione da *P. aeruginosa* (Caretti et al BBA 2014).

Ipotesi e obiettivi. Il nostro progetto si propone di verificare se la modulazione della sintesi di sfingolipidi mediante Miriocina, che abbassa i livelli di ceramide, possa ridurre l'infezione da *A. fumigatus* e l'infiammazione associata in modelli *in vitro* ed *in vivo* di Fibrosi Cistica.

Metodi. Al fine di verificare il potenziale anti-infiammatorio ed anti-fungino degli inibitori della sintesi degli sfingolipidi, abbiamo infettato cellule epiteliali del tratto respiratorio provenienti da pazienti affetti FC (cellule IB3) e da soggetti sani (cellule C38) con *A. fumigatus*, con e senza trattamento con Miriocina. Abbiamo valutato mediante RT-PCR e analisi ELISA l'espressione delle citochine infiammatorie. Inoltre, dopo aver trattato modelli murini di FC con nano-particelle contenenti Miriocina, somministrata intra-trachea mediante

un micro-nebulizzatore (PennCentury) prima di infettare i topi con *A. fumigatus*, abbiamo valutato i mediatori infiammatori. L'analisi degli sfingolipidi è stata effettuata mediante spettrometria di massa. Gli studi della morfologia del biofilm e della struttura del fungo sono stati svolti mediante microscopia elettronica mentre colorazioni istologiche di sezioni di polmone dei topi FC e sani sono state utilizzate per localizzare e caratterizzare il fungo.

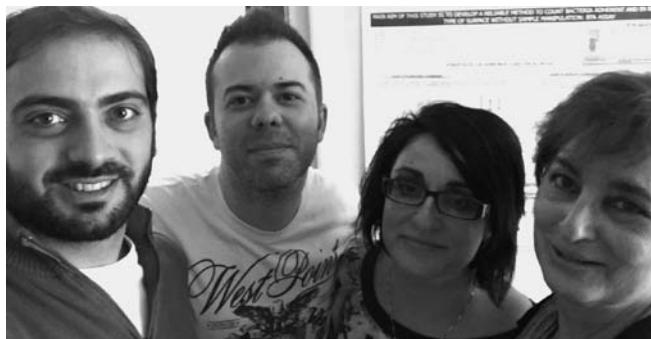
Risultati. I risultati di questo progetto indicano che la Miriocina esplica attività antifungina verso *A. fumigatus* anche in forma di film preformato. Le analisi in microscopia elettronica evidenziano significative alterazioni morfologiche nella struttura del fungo, quali invaginazioni della membrana, modificazione del sistema delle vescicole e presenza di corpi multilamellari, a volte all'interno delle medesime vescicole. Gli studi su modelli murini di infezione polmonare hanno mostrato che la Miriocina somministrata intra-trachea in forma di nano-particelle, è efficace nel ridurre l'invasione del fungo e l'infiammazione che ne deriva.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. In conclusione, l'utilizzo di inibitori della sintesi degli sfingolipidi rappresenta un valido approccio per combattere la farmaco-resistenza dell'*Aspergillus fumigatus* ai trattamenti terapeutici in malattie infiammatorie croniche come la CF.

77. Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airways

Berlotti F

Department of Public health and Infectious Diseases, Sapienza University of Rome, Rome, Italy (FFC#16/2014, Concluded – FFC#12/2015, Extension)



Francesca Berlotti, prima a destra, e il suo gruppo di ricerca

Background. CF airway inflammation is related to genetic CFTR defect and to dysregulation of iron homeostasis and it can precede bacterial infection. Bacterial infections are favored by iron overload thus worsening inflammation and cell damage. A dangerous vicious circle involving inflammation damage, bacterial infection, and dysregulation of iron homeostasis, is established in CF airways.

Hypothesis and objectives. We hypothesize that lactoferrin (Lf), an iron-chelating glycoprotein of the innate immunity of human secretions, could be a key molecule exerting anti-inflammatory and anti-microbial activities interrupting the vicious circle. Our results show that Lf administered by aerosol reduces inflammation and infection in pre-clinical mouse models of acute and chronic lung infection. Since in airways secretions Lf activity can be reduced by proteolytic enzymes, Lf-liposomes have been prepared to protect Lf against proteolytic activity.

Our aims are: to confirm the anti-inflammatory and anti-bacterial effects of aerosol administration of Lf in wild type

and CF mice with *P. aeruginosa* lung infections. Moreover, we intend to optimize the preparation protocol and to fully characterize Lf-loaded liposomes to be administered by aerosol in mouse models of *P. aeruginosa* lung infection.

Essential methods. Milk-derived bovine Lf (bLf) is used as it shows similar structure and functions of human Lf, it is generally recognized as a safe substance by FDA (USA), and it has been successfully employed in clinical trials. Acute and chronic *P. aeruginosa* lung infections will be established in the airways of wt and CF mice. BLf loaded-liposomes (bLf-LIPOs) will be fully characterized.

Preliminary results. In WT mice bLf reduced significantly the inflammatory response both of acute and chronic infections and the bacterial load even if at not significant levels. BLf is efficiently entrapped in liposomes and protected against the activity of trypsin. BLf-LIPOs were no cytotoxic on CFBE cells.

Expected results and their significance. We expect to consolidate the data on the effect of bLf in WT mice and to evaluate the bLf effects on CF mice. Moreover, we aim to analyse the effect of aerosolized bLf-LIPOs in pre-clinical animal models. This study represents the basis for the development of product to be administered in humans as aerosol formulation in the treatment of CF airway infection.

Attività antinfiammatoria ed antibatterica della lattoferrina somministrata per aerosol nelle infezioni delle vie aeree di modelli murini non FC e FC

Ragioni dello studio. Nelle vie aeree dei soggetti con FC, l'infiammazione è correlata al difetto genetico e all'alterazione dell'omeostasi del ferro. L'infezione cronica da *P. aeruginosa* è favorita dal sovraccarico di ferro e induce un aumento dell'infiammazione con conseguente danno cellulare. Si stabilisce un pericoloso circolo vizioso tra infiammazione/infezione/sovraccarico del ferro.

Ipotesi e obiettivo. La lattoferrina (Lf), una proteina che lante il ferro dell'immunità innata presente nelle secrezioni delle vie aeree, rappresenta un promettente approccio terapeutico per le sue attività antinfiammatorie e antibatteriche. I risultati fin qui raggiunti indicano che la Lf, somministrata per aerosol, riduce l'infiammazione e l'infezione in topi con infezione polmonare acuta e cronica. Nelle vie aeree l'azione della Lf è ridotta dall'attività degli enzimi proteolitici. Per proteggere la Lf, sono stati preparati dei liposomi carichi di Lf (Lf-LIPO).

Obiettivi. Confermare l'attività antibatterica/antinfiammatoria della Lf in topi normali e FC con infezione polmonare acuta e cronica; ottimizzare la preparazione dei Lf-LIPO; valutare l'azione dei Lf-LIPO somministrati per aerosol in modelli murini d'infezione polmonare.

Metodi essenziali. Sarà impiegata la Lf derivante da latte bovino (bLf) poiché già usata con successo e senza effetti indesiderati o collaterali in molte sperimentazioni cliniche. La bLf sarà somministrata per aerosol in topi normali e con FC con infezione polmonare acuta e cronica per verificarne l'attività anti-infiammatoria e anti-batterica. Saranno caratterizzati i liposomi carichi di bLf (bLf-LIPO). Sarà valutata l'attività dei bLf-LIPO in modelli murini d'infezione polmonare.

Risultati preliminari. La somministrazione per aerosol della bLf in topi con infezione polmonare acuta e cronica da *P. aeruginosa* riduce la carica batterica e diminuisce significativamente la risposta infiammatoria. I bLf-LIPO intrappolano efficientemente la bLf e la proteggono dalle proteasi. Inoltre, i bLf-LIPO non mostrano attività citotossica.

Risultati attesi e loro significato. Ci aspettiamo di confermare l'attività antinfiammatoria/antibatterica rispettivamente della bLf in topi con infezione polmonare. Inoltre ci

proponiamo di verificare una simile attività dei bLF-LIPO. Questo studio rappresenta la base per lo sviluppo di un prodotto per uso umano. In quest'ottica è stata interessata l'organizzazione ILO per la ricerca di un partner industriale.

78. Development of a CF, IL-8/NF-KB transgenic mouse model for the *in vivo* long-term monitoring of the inflammatory response induced by bacteria treated or not with azithromycin

Lleò MM

Department of Pathology and Diagnostics, Section of Microbiology, University of Verona (FFC#18/2013, Concluded – FFC#10/2015, Extension)



Maria Lleò

Background. The possibility of monitoring the inflammatory response in a IL-8 transgenic WT and CF non invasive animal model has been demonstrated in this project. Experimental support has been provided for the proposal that azithromycin (AZM) acts by inhibiting the synthesis of bacterial metalloproteases (MPs) thus causing a mitigation of the lung inflammation. The possibility of further take advantage of the CF mouse model to analyze the possible anti-inflammatory activity of other antibiotics with mechanism of action similar to that of AZM and that of inhibitors of human metallo-proteases appears of high interest.

Objectives and methods. The objectives of this new part of the project are i) to use the IL-8 transgenic CF mouse model to monitoring the expected significant reduction of the pro-inflammatory response induced by *Pseudomonas* MPs by using protease inhibitors such as Galardin and other approved drugs for human use, namely Marimastat and the antibiotic Doxycycline and ii) to analyze the possible anti-inflammatory activity of other antibiotics with mechanism of action similar to that of AZM and used in CF such as claritromycin (CLAR) and tobramycin (TOB). To this end, our main action will be 1) to perform preliminary tests to evaluate the activity of inhibitors of human proteases ((Galardin, Marimastat, doxycycline) on bacterial metallo-proteases and to calculate sub-lethal doses of tobramycin and claritromycin to treat *P. aeruginosa*; 2) to prepare culture supernatants from *Pseudomonas* grown with and without the selected drugs and 3) to instillate the prepared Sns in WT and CF

transgenic mice and monitoring the inflammatory response by measuring BIL in mouse lungs.

Expected results and their significance. 1) Further knowledge on the mechanism of action of a number of drugs and on the role of bacterial products in the inflammatory response in CF: antibiotic treatment personalized for the specific patients, design of new therapeutic molecules against targeted bacterial products; 2) The transgenized IL-8, CF mouse model will be further validated. This might reveals an interesting tool to the monitoring of the inflammatory process in CF induced by infective and non-infective causes and to test *in vivo* the antibacterial/anti-inflammatory effect of candidate molecules to be used in cystic fibrosis.

Sviluppo di un modello di topo con fibrosi cistica, transgenico per IL-8, per il monitoraggio *in vivo* della possibile attività anti-infiammatoria di molecole inibitorie delle metalloproteasi umane e di antibiotici con meccanismo di azione simile a quello della azitromicina.

Ragioni dello studio. La possibilità di monitorare la risposta infiammatoria in un modello *in vivo* di topo WT e FC, transgenici per IL-8 è stata dimostrata nello studio corrispondente al progetto #18/2013. È stato anche fornito supporto esperimentale a favore della ipotesi che la AZM agisca inibendo la sintesi di metalloproteasi batteriche e quindi mitigando l'infiammazione polmonare. Viene proposto un ulteriore e interessante impiego del modello CF murino per analizzare la possibile attività anti-infiammatoria di molecole inibitorie delle proteasi umane e di antibiotici con meccanismo di azione simile a quello della azitromicina

Obiettivi e metodi. 1) utilizzare il modello murino FC per monitorare *in vivo* l'attesa riduzione della risposta infiammatoria indotta da MPs di *Pseudomonas aeruginosa* (PA) utilizzando inibitori delle MP umane quali Galardin e altri farmaci per uso umano quali Marimastat e l'antibiotico doxiciclina e 2) analizzare la possibile attività anti-infiammatoria di antibiotici con meccanismo d'azione simile a quello della azitromicina e utilizzati in FC come claritromicina e tobramicina in quanto possibili modulatori della sintesi di fattori di virulenza di *Pseudomonas aeruginosa*. A tale scopo ci proponiamo di condurre saggi preparatori per valutare l'attività degli inibitori delle proteasi umane su metallo-proteasi batteriche e per calcolare dosi sub-letali di tobramicina e claritromicina su *P. aeruginosa*. Inoltre, saranno preparati surnatanti culturali di PA coltivata in presenza o assenza degli antibiotici da saggiare e verranno aggiunti ai surnatanti coltivati normalmente l'inibitore delle proteasi da saggiare. Si prevede inoltre di iniettare i surnatanti nei topi WT e FC e monitorare *in vivo* la risposta infiammatoria misurando la bioluminescenza nel polmone murino e di valutare l'effetto dei vari farmaci come possibili agenti anti-infiammatori

Risultati attesi e loro significato. 1) validare ulteriormente il modello nuovo di topo con FC. Esso si potrebbe rivelare uno strumento interessante per monitorare il processo infiammatorio in FC da cause infettive e non infettive e per saggiare *in vivo* l'effetto antibatterico/antiinfiammatorio di molecole candidate al trattamento delle infezioni in FC e 2) capire meglio il meccanismo di azione di alcuni farmaci e del ruolo di prodotti batterici nella risposta infiammatoria in FC.

Antimicrobial peptides

79. Preclinical development of the antimicrobial peptide M33 and onset of regulatory procedures for clinical trials

Pini A

Dip. di Biotecnologie Mediche, Università di Siena
(FFC#12/2013, Concluded)



Alessandro Pini con le ricercatrici del progetto

Background. This is a project aimed at the pharmaceutical development of a new antimicrobial peptide (M33) discovered at the University of Siena. M33 showed a strong activity *in vitro* and *in vivo* against a panel of bacteria generally involved in CF infections.

Hypothesis and objectives. Before arriving to human experimentation, a new drug must be developed preclinically and this includes the study of pharmacokinetic, bio-distribution and toxicity profiles in animals. This project was exactly designed for the evaluations of these issues. At the end of pre-clinical procedures of development, regulatory documents for the request of a Clinical Trial Authorization will be submitted to competent authorities.

Methods. Specific collaboration with CRO and public institutions were set up in order to conclude preclinical development currently in progress. Good Laboratory Practice (GLP) procedures have been followed for both M33 manufacture and animal experiments.

Results. Efficacy tests *in vivo*, pharmacokinetic analyses, biodistribution, along with anti-inflammatory and immunomodulatory activity has been evaluated with promising results for the set up of a new drug against Gram-negative bacteria, especially *P. aeruginosa* strains with multiresistant profile. The molecule resulted no genotoxic and apparently with a toxicity *in vivo* compatible for clinical application when administered systemically. Last toxicity evaluations *in vivo* and *in vitro* are in progress for the final set up of therapeutic index.

Expected results and their significance. Results obtained from this project allowed to move forward the preclinical characterizations necessary to the development of a new antibiotic drug. At the end of the project, when final results from toxicity and manufacturing will be available (few months), we will have the final information about the possible experimentation in humans of a novel antibiotic for severe infections in CF patients.

Sviluppo preclinico del peptide antimicrobico M33 ed inizio delle procedure regolatorie per la sperimentazione nell'uomo

Ragioni dello studio. Questo progetto di ricerca riguarda lo sviluppo farmaceutico di un nuovo peptide antimicrobico isolato all'Università di Siena e chiamato M33. Questa molecola è stata studiata in passato per la sua attività biologica *in vitro* ed *in vivo* risultando particolarmente attiva contro specie batteriche di origine clinica isolate da pazienti di Fibrosi Cistica.

Ipotesi ed obiettivi. Ogni molecola che viene sviluppata per la produzione di un nuovo farmaco necessita di una fase di sviluppo preclinico in cui si valutano negli animali i principali aspetti relativi alla persistenza in circolo, alla distribuzione negli organi e alla possibile tossicità. Questo progetto, finanziato in parte dalla Fondazione Fibrosi Cistica e in parte da altre istituzioni private e pubbliche, è finalizzato alla valutazione di questi elementi, e, al momento che le procedure di sviluppo preclinico saranno concluse, alla preparazione della documentazione regolatoria necessaria alla sperimentazione clinica, cioè nell'uomo.

Metodi. Per lo svolgimento di questo progetto sono state instaurate specifiche collaborazioni con aziende specializzate per la finalizzazione degli esperimenti secondo le linee guida di Buone Pratiche di Laboratorio, sia per la manifattura delle necessarie quantità di molecola da utilizzare, sia per la sperimentazione animale.

Risultati. Questo progetto ha consentito l'avanzamento dello sviluppo preclinico del peptide antimicrobico M33. Tale sviluppo ha riguardato studi di efficacia in modelli animali di infezioni polmonari con patogeni coinvolti nelle più importanti infezioni riscontrate in Fibrosi Cistica, studi di farmacocinetica e biodistribuzione, di genotossicità e di valutazione dell'attività anti-infiammatoria e immunomodulatoria. Tutti i risultati fin qui ottenuti, anche in comparazione con molecole antibiotiche già usate nell'uomo, mostrano forti compatibilità con l'utilizzo nell'uomo. Gli ultimi studi di tossicità attualmente in corso e saranno conclusi entro pochi mesi.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. I risultati fin qui ottenuti candidano il peptide M33 come nuovo farmaco antibiotico contro i più importanti patogeni Gram-negativi presenti nelle infezioni di pazienti con Fibrosi Cistica. Non appena saranno conclusi gli ultimi studi di tossicità i documenti regolatori per la sperimentazione clinica saranno sottomessi agli organi preposti all'immissione in commercio dei farmaci.

80. Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung infections

Mangoni ML

Dip. di Scienze Biochimiche, Università "La Sapienza", Roma
(FFC#11/2014, In progress)

Background. *Pseudomonas aeruginosa* is the predominant microbial pathogen in the lungs of patients with cystic fibrosis (CF). It is quite difficult to eradicate because of its acquired resistance to most available antibiotics and because of its ability to form sessile communities, or biofilms, characterized by a protective and adhesive extracellular matrix of polymeric substances.

Hypothesis and objectives. The project aims at developing Esc(1-21), a short-sized antimicrobial peptide (AMP) from frog skin, for treatment of *P. aeruginosa* lung infections



Maria Luisa Mangoni, al centro, con il suo gruppo di ricerca

after delivery in the airways. Beside an *in-vitro* analysis of the antibacterial, anti-inflammatory and wound healing properties of Esc(1-21) and its diastereomer containing both L and D amino acids, the project aims at performing preclinical testing to establish both the peptides' safety profiles and therapeutic dosages. Furthermore, the best strategies to improve the pulmonary stability/bioavailability of the selected AMPs and to optimize their delivery in the lung tissue will be screened.

Methods. For that purpose, a multidisciplinary approach combining biochemical, cell biology, microbiological techniques, as well as murine models of *P. aeruginosa* acute and chronic lung infections are used.

Preliminary results. We discovered that Esc(1-21) rapidly kills planktonic *P. aeruginosa* cells and eradicates its biofilm communities with a membrane-perturbing activity as a plausible mode of action. In addition, the peptide limits the induction of bacterial resistance and neutralizes the toxic effect of *P. aeruginosa* lipopolysaccharide. By replacing only two L amino acids of Esc(1-21) with the corresponding D enantiomers, the resulting diastereomer is significantly more stable and less cytotoxic than the wild-type molecule and with a more pronounced *in vitro* antibiofilm and wound healing activities. Importantly, it shows a better efficacy than Esc(1-21) in reducing the number of bacterial cells in the lung and bronchoalveolar lavage fluid of murine models of *P. aeruginosa* lung infections, without showing any lung toxicity, upon intratracheal instillation.

Spin-off for research and clinical purposes. Overall this Project has high potential to yield a non-expensive AMP to use for future medical preparations against *P. aeruginosa* lung infections in CF, by local administration. The results of our studies will also assist to the future development of a peptide-based formulation for direct release of the peptide to the site of infection at effective concentrations with minimal side-effects.

Sviluppo e test preclinico di un nuovo peptide antimicrobico per il trattamento di infezioni polmonari indotte da *Pseudomonas aeruginosa*.

Ragioni dello studio. *Pseudomonas aeruginosa* è il microrganismo patogeno predominante nei polmoni di pazienti con fibrosi cistica (FC). È molto difficile da debellare a causa della sua acquisita resistenza agli antibiotici correnti e perché in grado di formare comunità sessili, o biofilm, contraddistinte da una matrice extracellulare protettiva di sostanze polimeriche.

Ipotesi e obiettivi. Il progetto si propone di sviluppare Esc(1-21), un peptide antimicrobico (AMP) da pelle di anfibio e di piccole dimensioni (21 amminoacidi), per il trattamento delle infezioni polmonari da *P. aeruginosa* in seguito a somministrazione nelle vie aeree. Oltre ad approfondire la nostra conoscenza sulle proprietà antibatteriche, anti-infiammatorie e cicatrizzanti di Esc(1-21) e del suo diastereomero contenente sia L che D amino acidi, il progetto si propone

di eseguire test preclinici che serviranno a stabilire sia il profilo di tollerabilità e sicurezza dei peptidi che la loro dose terapeutica. Inoltre, saranno studiate le migliori strategie per migliorare la stabilità/biodisponibilità polmonare degli AMP e per ottimizzarne la veicolazione nel tessuto polmonare

Metodi. Impiego di un approccio multidisciplinare coinvolgente tecniche biochimiche, microbiologiche e modelli animali di infezione polmonare acuta e cronica da *P. aeruginosa*

Risultati. Il peptide Esc(1-21) è dotato di una rapida velocità di cessione della forma libera e sessile di *Pseudomonas* contemporaneamente ad una rapida azione membranolitica. Inoltre, è in grado di limitare l'induzione di resistenza batterica e di neutralizzare l'effetto tossico del lipopolisaccardo di *P. aeruginosa*. Sostituendo due soli L amminoacidi nel peptide Esc(1-21) con i corrispettivi enantiomeri di tipo D, il risultante diastereomero si è rivelato essere di gran lunga più stabile e meno citotossico del peptide originale e con una più pronunciata attività antibiofilm e attività di riepitelizzazione *in vitro*. Inoltre ha una migliore efficacia rispetto al peptide Esc(1-21) nel ridurre il numero di cellule batteriche nel polmone e liquido broncoalveolare di modelli murini di infezione polmonare da *P. aeruginosa*, dopo instillazione intratracheale, senza provocare alcun danno a livello polmonare

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Nel complesso questo progetto ha elevate potenzialità di produrre un AMP a basso costo per la preparazione di nuovi farmaci da somministrare localmente contro le infezioni polmonari da *P. aeruginosa* in FC. I risultati ottenuti permetteranno anche di guidare il futuro sviluppo di una formulazione a base peptidica che consenta un rilascio diretto del peptide al sito di infezione a concentrazioni efficaci e con minimi effetti indesiderati.

81. Development of BMAP18 as a peptide drug in the lung bacterial infections: a study to improve its effectiveness in the CF-pulmonary environment

Mardirossian M¹, Degasperi M¹, Guida F¹, Scocchi M¹

¹Dept. of Life Science, University of Trieste (FFC#14/2014, Concluded)



Marco Scocchi, secondo da destra, con i collaboratori del progetto

Background. Cystic fibrosis (CF) patients must deal with pulmonary bacterial infections by antibiotic-resistant pathogens. A weapon that could be used against pulmonary infections are antimicrobial peptides (AMPs), natural molecules with antibiotic activity. The BMAP18 peptide has a potent antibacterial *in vitro* activity, however it could not protect mice with *P. aeruginosa* infection and showed quite toxic side effects.

Hypothesis & objectives. Because of these problems which are common to many others AMPs, BMAP18 could not be directly used in clinic. Our aim was to investigate the

reasons of toxicity and scarce activity of BMAP18 in mice model of infection to optimize the molecule for its usage in the particular lung environment of CF patients. Tobramycin and colistin antibiotics have been used for comparison.

Methods. Specific conditions have been used in order to mimic the amount of DNA and mucin of the CF lung and a mice broncho-alveolar lavage, to evaluate the antimicrobial activity of BMAP18 and its stability in this specific environment. A modified peptide, D-BMAP18, has been synthesized. It has been tested for its antimicrobial activity and stability and then *in vivo* administered to healthy mice to evaluate its toxicity and to mice with a pulmonary infection to assess its therapeutic potential.

Results. We detected a reduced activity of BMAP18 and tobramycin due to DNA and mucin. In addition, we observed that the peptide is degraded in the lung bronchoalveolar lavage in mice, explaining the scarce antimicrobial effect previously observed *in vivo*. For this reason a stereoisomeric form of the peptide, D-BMAP18, resistant to proteolytic degradation was prepared and tested. D-BMAP18 maintained its *in vitro* activity, and when used on a pulmonary acute infection healthy mice or with acute pulmonary infection by a *P. aeruginosa* stain the peptide showed to be almost active as tobramycin.

Spin-off for research & clinical purposes. The effectiveness of D-BMAP-18 could be increased further whether the components of bronchoalveolar lavage that inhibit the activity of the peptide without degrading it will be identified. These results not only bring clinical applications of D-BMAP closer, but also draw a method of study which could be also applied to other AMPs.

Sviluppo di BMAP18 come farmaco peptidico per le infezioni polmonari batteriche: uno studio per migliorarne l'efficacia nell'ambiente polmonare della FC

Ragioni dello studio. I pazienti di fibrosi cistica (FC) presentano complicazioni dovute a batteri resistenti agli antibiotici. Un'arma da impiegare contro le infezioni polmonari è rappresentata dai Peptidi Antimicrobici (AMP), molecole naturali con azione antibatterica. Il peptide BMAP18 è molto attivo in laboratorio contro batteri resistenti agli antibiotici, ma utilizzato per curare topi con infezioni polmonari ha presentato una tossicità non trascurabile e non ha dimostrato l'attività antimicrobica attesa.

Ipotesi e obiettivi. Per queste problematiche, comuni a molti altri AMPs, BMAP18 non può ancora essere utilizzato a fini terapeutici. L'obiettivo di questo progetto è stato quello di analizzare i motivi che provocano la scarsa efficacia di BMAP18 in un modello animale, al fine di poter correggere ed adattare la molecola all'ambiente particolare del polmone FC. Gli antibiotici tobramicina e colistina sono stati utilizzati come termini di confronto del peptide.

Metodi. Sono state usate condizioni che mimassero le quantità di DNA e mucina dei polmoni del malato di FC e un lavaggio bronco-alveolare di topo, per valutare l'attività antibatterica del BMAP18 la sua stabilità in quell'ambiente specifico. È stata sintetizzata una forma modificata del peptide, D-BMAP18. Ne è stata saggiata la qualità, l'attività antimicrobica, la stabilità ed è stato quindi somministrato *in vivo*: sia a topi sani per valutarne la tollerabilità sia a topi con infezione polmonare, per valutarne il potenziale terapeutico.

Risultati e loro significato. Abbiamo osservato una riduzione di efficacia di BMAP18 e tobramicina causata dalla presenza di DNA e mucina. È stato poi visto che BMAP18 veniva distrutto dai fluidi polmonari dei topi, spiegando lo scarso effetto antimicrobico precedentemente osservato *in vivo*. È stato quindi prodotto il peptide D-BMAP18, una variante inattaccabile dai fluidi polmonari ma ancora attiva sui

batteri. Il D-BMAP18 è stato saggiato su topi sani ed infetti da *P. aeruginosa* sono state così individuati i dosaggi per un uso sicuro di D-BMAP18 il quale si è dimostrato efficace quasi quanto la tobramicina.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. L'efficacia di D-BMAP-18 potrebbe aumentare ulteriormente identificando quelle componenti dei fluidi polmonari, per ora sconosciute, che pur non degradando D-BMAP18 ne riducono l'attività. Tali risultati non solo avvicinano il D-BMAP18 ad un utilizzo clinico, ma indicano un processo di miglioramento utilizzabile per altri AMPs.

82. Inhalable dry powders for chemically-modified human Cationic AntiMicrobial Peptides (CAMPs): moving toward *in vivo* application

Notomista E¹, Ungaro F²

¹Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"; ²Dip. di Farmacia, Università di Napoli "Federico II" (FFC#12/2014, Concluded)



Eugenio Notomista

Background. The diffusion of multidrug resistant (MDR) bacteria has highlighted the need of new antibiotics, but, so far, progress in developing them has been slow. Cationic Antimicrobial Peptides (CAMPs) are the first line of defense of multicellular eukaryotes against microbial invasions. Even if the protein nature of CAMPs makes difficult their use as systemic antimicrobials they are ideally suited for direct delivery to airways and lung.

Hypothesis and objectives. The main aim of this project is to develop inhalable dry powders for lung-delivery of CAMPs and CAMP-releasing proteins (CAMP-RPs) carrying simple chemical modifications which improve their antimicrobial activity.

Methods. Using Methods. developed in our laboratory we prepared three modified human CAMP-RP, lysozyme (mh-LYS), RNase 5 and β -defensin-1 active on *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*.

By spray drying we prepared inhalable dry powders containing mhLYS and carriers already approved in inhaled medicines. As an alternative tool we also developed inhalable dry powders containing biodegradable nanoparticles (Nano-Embedded Microparticles, NEM).

Results. Intra-tracheal administration to mice by the Penn Century MicroSprayer® Aerosolizer of rhodamine-labeled mhLYS showed that the distribution among lung lobes was asymmetric (rhodamine was always found only in 1 or 2 lobes of the right lung) and heterogeneous suggesting that a poor distribution may have contributed to low safety and efficacy showed by CAMP-RPs. We developed powders optimized for the release of mhLYS into the lung. In particular, mannitol/CAMP-RP powders showed good aerosolization properties and complete recovery of the antimicrobial activity. Moreo-

ver, we produced NEM whose properties are well suited for the direct administration to bronchi/bronchioles of colistin, a model CAMP. Mannitol/labeled-mhLYS powers were administrated intratracheally to mice by the Penn Century Dry Powder InsufflatorTM. Similarly to the results obtained using the aerosolizer, the distribution of the fluorescently-labeled CAMP-RP in lung lobes was asymmetric and heterogeneous. Again rhodamine was found prevalently in the lobes of the right lung. Our results suggest that intra-tracheal administration of powders in mice requires further improvement before it is possible to perform a reliable efficacy test *in vivo*.

Spin-off for research & clinical purposes. In perspective, our inhalable powder formulations may be a valuable support tool for the treatment of CF. Our results are a further step toward the development of CAMP(-RP)-based pharmacological formulations.

Polveri inalabili per la somministrazione di peptidi antimicrobici umani (CAMP) chimicamente modificati: verso l'applicazione *in vivo*.

Ragioni dello studio. La diffusione di ceppi batterici resistenti agli antibiotici ha evidenziato la necessità di nuovi composti antibatterici. I peptidi antimicrobici (CAMP) sono la prima linea di difesa degli organismi pluricellulari contro le invasioni microbiche. La natura proteica ne rende difficile l'impiego farmacologico per via orale o parenterale ma allo stesso tempo li rende particolarmente adatti al trattamento delle infezioni di vie aeree e polmoni.

Ipotesi e obiettivi. Lo scopo del presente progetto è lo sviluppo di polveri inalabili per la somministrazione polmonare di CAMP e proteine che rilasciano CAMP (CAMP-RP) recanti semplici modifiche chimiche che ne potenziano l'attività battericida.

Metodi. Sono state preparate tre CAMP-RP umane modificate, lisozima (mhLYS), RNasi 5 e β -defensina-1, attive su *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Mediante spray-drying sono state prodotte polveri inalabili contenenti mhLYS. Quale alternativa per il rilascio di CAMP, abbiamo sviluppato polveri inalabili a base di nanoparticelle biodegradabili (Nano-Embedded Microparticles, NEM).

Risultati. Mediante somministrazione intratracheale nei topi di mhLYS fluorescente in soluzione abbiamo verificato che la distribuzione nei lobi polmonari era asimmetrica ed eterogenea suggerendo che una distribuzione non ottimale potrebbe aver contribuito alla scarsa efficacia mostrata dalle CAMP-RP.

Sono state quindi sviluppate polveri per il rilascio di mhLYS al polmone. In particolare, polveri a base di mannitol hanno mostrato proprietà farmacologiche adeguate e il completo recupero dell'attività antimicrobica dopo la dissoluzione. Sono state anche prodotte NEM dalle proprietà adeguate alla veicolazione diretta a bronchi/bronchioli della colistina, un CAMP modello. Le polveri mannitol/mhLYS fluorescente sono state somministrate ai topi attraverso la trachea. Come nel caso della somministrazione della proteina in soluzione la distribuzione è risultata eterogenea ed asimmetrica interessando prevalentemente il polmone destro. Pertanto i nostri risultati suggeriscono che le metodiche di somministrazione intratracheale di polveri richiedono ulteriore ottimizzazione prima di poter essere sfruttate per analizzare l'efficacia *in vivo* delle formulazioni antimicrobiche.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. In prospettiva, le polveri inalabili oggetto di studio possono rivelarsi un valido strumento di supporto alla terapia della FC. I risultati ottenuti costituiscono un ulteriore passo in avanti verso l'applicazione di CAMP(-RP) per inalazione in campo clinico.

APPENDICES

Appendix 1

Publications and congress communications from the studies funded by Italian CF Research Foundation 2002-2015

Pubblicazioni e comunicazioni congressuali dagli studi finanziati dalla Fondazione Ricerca FC dal 2002 al 2015

1. CFTR PATHOPHYSIOLOGY AND THERAPY OF THE BASIC DEFECT **Fisiopatologia CFTR e terapie del difetto di base**

- FFC Project#1/2002 "**Mini-chromosomes: a new approach for cystic fibrosis gene therapy**"

Fiorentina Ascenzioni (Dipart. Biologia cellulare e dello sviluppo - Univ. La Sapienza Roma), Massimo Conese (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano), Olga Zegarra (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova)

Publications

- Auriche C. et al. "Functional human CFTR produced by a stable minichromosome" EMBO Reports 2002; vol. 3, no. 9, pp. 862-868
- FFC Project#2/2002 "**Evaluation of efficiency efficacy and safety of CFTR-gene delivery mediated by lentivirus vectors in model systems of cystic fibrosis airway epithelium**"

Massimo Conese (Ist. per il Trattamento Speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)

Publications

- Copreni E. et al. "Lentivirus-mediated gene transfer to the respiratory epithelium: a promising approach to gene therapy of cystic fibrosis" Gene Therapy (2004) 11, S67-S75.
- Carrabino S. et al. "Serum albumin enhances polyethylenimine-mediated gene delivery to human respiratory epithelial cells" The Journal of Gene Medicine 2005; 7: 1555-1564

Abstracts

- Copreni E. et al. "Pseudomonas aeruginosa infection of airway epithelium in a human fetal respiratory xenograft model in view of lentiviral gene therapy of CF lung disease" Journal of Cystic Fibrosis 2 (2003) S19-S23 – 26th Congress European Cystic Fibrosis Society, Belfast 4-7 June 2003.
- Copreni E. et al. "Biosafety of a third generation lentiviral vector for gene transfer to the airway epithelium" NACFC, 2005
- Copreni E. et al. "Gene transfer to the airway epithelium mediated by a third generation HIV-1 based vector: efficiency and role of heparin sulphate" American Society of Gene Therapy, 8th Annual Meeting June 1-5 2005.
- Copreni E. et al. "Study of clearance and internalization of pseudomonas Aeruginosa in a human fetal respiratory xenograft model" Pediatric Pulmonology Suppl. 25, 2003. 17th Annual North American Cystic Fibrosis Conference – Anaheim, 16 – 19 October 2003
- Copreni E. et al. "Lentivirus-mediated gene transfer to the respiratory epithelium in vitro and in vivo in the absence of preconditioning of the airways" 2nd European Conference & Practical Course, February 1-14th, 2004 – Bellaterra, Spain
- Copreni E. et al. "Gene transfer to the airway epithelium by HIV-based vectors" ECFS Conference, Tomar, Portugal 30 April – 3 May 2004;
- Copreni E. et al. "Optimisation of gene transfer to the respiratory epithelium in vitro and in vivo by a last generation lentiviral vector" 3rd European Conference & Practical Course 14-26 June 2004, Genopole-Evry, France;
- Copreni E. et al. "Gene transfer to the airway epithelium mediated by last generation lentiviral vectors does not require preconditioning of the epithelial tight junctions" Pediatric Pulmonology Suppl. 27 – The 18th Annual North American CF Conference; America's Center, St. Louis, Missouri, Oct. 14-17 2004
- Copreni E. et al. "Trasferimento genico in modelli in vitro e pre-clinici di epitelio respiratorio mediante vettori virali e non virali" I incontro dei ricercatori di base della fibrosi cistica, Roma 1-2 luglio 2004
- Copreni E. et al. "Trasferimento genico mediato da un vettore lenti-

virale in modelli di epitelio respiratorio in vitro e in vivo: efficienza e ruolo dell'eparansolfato" X Congresso Nazionale di Fibrosi Cistica – Palermo, 27 – 30 ottobre 2004.

- Copreni E. et al. "Valutazione dell'efficienza, efficacia e sicurezza di vettori lentivirali nel trasferimento del gene CFTR in sistemi modello di epitelio respiratorio con fibrosi cistica" I Convention d'Autunno dei Ricercatori Italiani per la fibrosi cistica – 14-15 novembre 2003, Verona
- Copreni E. et al. "Efficiency, efficacy and safety of Lentivirus vectors in CFTR gene tranfer in model systems of airway epithelia with cystic fibrosis" II Convention d'Autunno dei Ricercatori Italiani per la fibrosi cistica – 19-20 novembre 2004, Verona
- FFC Project#1/2003 "**CFTR regulation by protein-protein interactions**"

Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Amb. - Univ. Bari), Manuela Zaccolo (Ist. Veneto Med. Molecolare, Padova)

Publications

- Abrahamsen H. et al. "TCR - and CD28 Mediated Recruitment of Phosphodiesterase 4 to Lipid Rafts Potentiates T Cell Receptor Signaling" J Immunol. 2004 Oct 15;173(8):4847-58
- Zaccolo M. et al "Use of Chimeric Fluorescent Proteins and Fluorescence Resonance Energy Transfer to Monitor Cellular Responses" Circulation Research 2004;94:866-873
- Mongillo M. et al. "Fluorescence Resonance Energy Transfer-Based Analysis of cAMP Dynamics in Live Neonatal Rat Cardiac Myocytes Reveals Distinct Functions of Compartmentalized Phosphodiesterases" Circulation Research 2004; 95:67-75
- Guerra L. et al. "Stimulation of Xenopus P2Y1 receptor activates CFTR in A6 cells" Eur J. Physiol. (2004) 449: 66-75
- Cardone R. A. et al. "Protein kinase A gating of a pseudopodially-located rhoA/ROCK/p38/NHE1 signal module regulates invasion in breast cancer cell lines" Molecular Biology of the Cell Vol. 16, 3117-3127, July 2005

Abstracts

- Fanelli T. et al. "CFTR regulation of ion transporters by protein - protein interactions" Gordon Conference Le Diablerets 3-8 ottobre 2004;
- Guerra L. et al. "Ruolo dei domini PDZ di entrambe le isoforme di NHERF nella regolazione del CFTR" X Congresso Nazionale di Fibrosi Cistica della Società Italiana di Pediatria Palermo, 27-30 ottobre 2004.
- Favia M. et al. "CFTR regulation of ion transporters by protein - protein interactions" The American Society fro Cell Biology, 44th Annual Meeting - Washington 4-8 December 2004
- Riccardi S. M. et al. "Role of NHERF1 in rescuing of F508del-CFTR activity". 2005 - European CF Conference - Evora, Portugal 14-17 April 2005.

- FFC Project#2/2003 "**Activators of the CFTR ionic transport: identification and molecular modelling of the binding sites**"
Oscar Moran, (Ist. Biofisica - CNR - Genova), Olga Zegarra, (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Vincenzo Martorana, (Ist. Biofisica - CNR - Palermo)

Publications

- Galietta L. et al. "Identification of CFTR activators and inhibitors: chance or design?" Current opinion in Pharmacology, vol. 4 issue 5, October 2004, 497-503
- Moran O. et al. "Binding site of activators of the cystic fibrosis trans-

membrane conductance regulator in the nucleotide binding domains" CMLS Cellular and Molecular Life Sciences 62 (2005) 446-460;

- Moran O. et al. "A quantitative description of the activation and inhibition of CFTR by potentiators: Genistein" FEBS Letters 579 (2005) 3979-3983;

Abstracts

- Moran O. et al. "Molecular model of the nucleotide binding domains of the CFTR: cystic fibrosis correlated mutations" Paediatric Pulmonology, The 17th Annual North American CF Conference, Anaheim, California 16-19 October 2003;
- Moran O. et al. "Searching for the CFTR- Openers binding site" 2004 - ECFS Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis 30 April - 3 May 2004 Tomar Portugal;
- Moran O. et al. "Identification of the CFTR - openers binding site" S.I.B.P.A. 2004 XVII Congresso Nazionale della Società di Biofisica Pura ed Applicata Pisa 23 - 25 settembre 2004;
- Zegarra O. et al. "Identification of New Drugs for the Modulation of Chloride Transport in CF. Advance in the HTS Programme" 2004 - ECFS Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis 30 April - 3 May 2004 Tomar Portugal;
- Moran O. et al. "A quantitative interpretation of the activation and inhibition of chloride currents by CFTR activators: genistein" The Physiology of Anion Transport. (Bristol, UK) 23-24 July 2005.
- Zegarra-Moran O. et al. "Pharmacologic activation of chloride transport in CF mutants" ECFS Conference. New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (Evora, Portugal). 14-17 April, 2005.
- Zegarra-Moran O. et al. "Role of NBD mutations on the putative binding site of potentiators" Pediatr. Pulm. S29:71. 20th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Denver, 2-5 November 2006.
- Zegarra-Moran O. "CFTR potentiators and gating mutants" 29th European Cystic Fibrosis Conference (Copenhagen, Denmark), 15-18 June 2006.

- FFC Project#3/2003 **"Screening of drugs approved for human use to identify novel pharmacological tools for Cystic Fibrosis"**

Luis JVL Galietta (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Mauro Mazzei (Dipart. Scienze Farmaceutiche - Univ. Genova), Massimo Conese (Ist. per il Trattamento Speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)

Publications

- Pedemonte N. et al. "Anti-hypertensive 1,4 dihydropyridines as correctors of the CFTR channel gating defect caused by cystic fibrosis mutations" Molecular Pharmacology, Vol. 68, No. 6 (2005) pp. 1736-1746
- Pedemonte N. et al. "Small-molecule correctors of defective ΔF508-CFTR cellular processing identified by high-throughput screening" The Journal of Clinical Investigation, Vol. 115, No. 9, Sept. 2005, pp. 2564-2571

Abstracts

- Pedemonte N. et al. "Screening of a chemical library containing approved drugs and natural compounds to identify small molecules for the functional correction of CFTR mutants" 2004 North American Cystic Fibrosis Conference
- Pedemonte N. et al. "Dual activity of aminoarylthiazoles on trafficking and gating defects caused by CF mutations" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 311

- FFC Project#11/2003 **"Pathogenesis and treatment of Cystic Fibrosis-related liver disease"**

Mario Strazzabosco (Dipart. Med. Spec. e dei trapianti, U.O. Gastroenterologia, Osp. Riuniti - BG)

Publications

- Spirli C. et al. "Glibenclamide Stimulates Fluid Secretion in Rodent Cholangiocytes through a CFTR-Independent Mechanism" Gastroenterology 2005; 129: 220-33
- Strazzabosco M. et al. "Pathophysiology of Cholangiopathies" J. Clin Gastroenterology. Vol. 39, suppl. 2, April, 2005;
- Fiorotto R. et al. "Ursodeoxycholic Acid Stimulates Cholangiocyte Fluid Secretion in Mice via CFTR-Dependent ATP Secretion" Gastroenterology (2007); 133: 1603-1613
- Spirli C. et al. "Glibenclamide stimulates fluid secretion in rodent cholangiocytes through a cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-independent mechanism" Gastroenterology. 2005 Jul;129(1):220-33
- Strazzabosco M. et al. "Differentially expressed adenylyl cyclase isoforms mediate secretory functions in cholangiocyte subpopulation" Hepatology. 2009 Jul;50(1):244-52

Abstracts

- Fiorotto R. et al. "Ursodeoxycholic acid stimulates fluid secretion in mice bile ducts trough a CFTR and PKC /PKC -dependent mechanism" Hepatology Vol. 40, No. 4, Suppl. 1, 2004
- FFC Project#13/2003 **"Biochemical and physiopathological aspects of plasma membrane of human bronchial epithelial cells expressing DF508 mutation before and after supplementation of methylated folic acid and B12 vitamin"**
Lisa Bambara (Medicina Interna B, Policlinico, Università di Verona)

Publications

- Scambi C. et al. "Can 5-methyltetrahydrofolate modify the phospholipids fatty acid pattern in cystic fibrosis paediatric patients?" Journal of Cystic Fibrosis 2006 ; 5: 197-199

- FFC Project#2/2004 **"Chemoreceptor mechanism in CFTR expressing cells: molecular bases and role in control of secretion"**
Francesco Osculati (Dipart. Scienze Morfologico Biomediche - Università di Verona)

Publications

- Merigo F. et al. "Secretory cells of the airway express molecules of the chemoreceptive cascade" Cell Tissue Res. 2007 327:231-247

- FFC Project#3/2004 **"Natural and synthetic amino acids as chemical chaperones to promote CFTR folding"**
B.M. Rotoli (Plesso Biotec. Integrato - Sez. Pat. Gen. e Clinica - Univ. Parma)

Abstracts

- Rotoli B. M. et al. "Effects of taurine and other amino acids on the phenotype of ΔF508-CFTR cells" Experimental Biology 2006, April 1-5 - San Francisco, California;

- FFC Project# 4/2004 **"Role of adenovirus receptors in the activation of mitogen activated protein kinase pathways and nuclear factor - kB in human airways epithelial cells"**
Anna Tamanini (Lab. Patologia Molecol. - Centro Fibrosi Cistica - Verona)

Publications

- Tamanini A. et al. "Interaction of Adenovirus type 5 fiber with the Coxsackie Adenovirus receptor activates inflammatory response in human respiratory cells" Journal of Virology, 2006 Nov. Vol 80, No 22 p. 11241-11254;

Abstracts

- Tamanini A. et al. "Adenovirus Vector Receptor Interactions and Early Pro-Inflammatory Signalling" 2005 - European Cystic Fibrosis Conference - New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis - Evora, Portugal 14 - 17 April 2005;

- Tamanini A. et al. "Biosafety studies in CF gene transfer: role of vector-receptor interactions in pro-inflammatory signalling" Journal of Cystic Fibrosis 4 (2005) S26-S33; 28th European C.F. Conference, Hersonissos, Crete, Greece; 22-25 June 2005.

- FFC Project#1/2005 **"Role of the scaffolding protein NHERF in the PKA-mediated regulation of CFTR sorting and activity"**

Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Amb. - Univ. Bari)

Publications

- Guerra L. et al. "Na+/H⁺ Exchanger regulatory factor isoform 1 over expression modulates cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) expression and activity in human airway 16HBE14o - cells and rescues ΔF508 CFTR functional expression in Cystic Fibrosis cells" The Journal of Biological Chemistry vol. 280, No. 49, pp. 40925-40933, December 9, 2005.

- Favia M. et al. "NHE3 inhibits PKA-dependent functional expression of CFTR by NHERF2 PDZ interactions" Biochemical and Biophysical Research Communications 2006 Aug 25;347(2):452-9.

- Pantano S. et al. "Molecular basis of the allosteric mechanism of cAMP in the regulatory PKA subunit" FEBS Letters 579 (2005) 2679-2685;

- Fanelli T. et all "Beta-estradiol rescues Delta-F508 CFTR functional expression in human cystic fibrosis airway CFBE 41 o-cells through the up-regulation of NHRF1". Biol Cell 2008 Jan 9

Abstracts

- Fanelli T. et al. " -estradiol rescues ΔF508-CFTR functional expression in CFBE41o-cells via NHERF1 up-regulation" Workshop Transporters 2006, Parma 6-9 September 2006.

- Guerra L et al. "Rescue of deltaF508 CFTR in CFBE41O-cells is dependent on actin cytoskeleton interaction with ezrin and NHERF1" European CF Conference, Belek, Turkey, 13-16 June 2007; J. of Cystic Fibrosis June 2007, vol. 6, suppl. 1:S7

- Riccardi S.M. et al. "Rescue of deltaF508 CFTR in CFB41O-cells is dependent on actin cytoskeleton interaction with ezrin and NHERF1" 58th National Congress of the Italian Physiological Society, Lecce 19-21 Sept. 2007; Acta Physiologica, vol. 191, suppl. 657
- FFC Project#2/2005 **"Macrolides and ion transport across CFTR"**
Emanuele Giordano (Ist. Naz. Ricerca Cardiovascolare (INRC) - Dipart. Biochimica)

Abstracts

- Furini S. et al. "Macrolides antibiotics and ion transport across plasma membrane" XIII Congresso Nazionale della Società Italiana di Ricerche Cardiovascolari, Imola 21-23 settembre 2006
- FFC Project#4/2005 **"Novel generation lentiviral vectors: evaluation of inflammatory potential in human respiratory cells"**
Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecol. - Centro FC - OCM Verona)

Abstracts

- Copreni E. et al. " Novel generation lentiviral vectors: evaluation of inflammatory potential in human respiratory epithelial cells" North American CF Conference 2006. Denver co, USA
- Bezzzerri V. et al. " Selective modulation of P. aeruginosa-dependent induction of interleukin-8 by transcription factor decoy oligonucleotides in CF bronchial epithelial cells" The 20th North American CF Conference, Denver, Colorado, Nov. 2-5 2006
- Lampronti I. et al. "Medicinal plant extracts inhibit the induction of pro-inflammatory genes in bronchial epithelial cells" The 21st Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim Convention Center, Anaheim, California, October 3-6 2007
- Bezzzerri V. et al. "Modulation of expression of genes involved in leukocyte chemotaxis by interfering with nuclear transcription factors" The 21st Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim Convention Center, Anaheim, California, October 3-6 2007
- FFC Project#5/2005 **"CFTR gene correction in human embryonic stem cells mediated by Small Fragment Homologous Replacement (SFHR)"**

Federica Sangiolo (Dipart. Biopatologia e Diagnostica per imm. - Univ. Tor Vergata RM), Massimo De Felici (Dipart. Salute pubblica e Biologia cellulare - Univ. Tor Vergata RM), Lorenzo Guerra (Dipart. Fisiologia Gen. ed Amb. - Univ. Bari), Marco Lucarelli (Dipart. Bioteecn. Cell. ed ematologia - Univ. La Sapienza Roma)

Publications

- Sangiolo F. et al. "CFTR gene targeting in mouse embryonic stem cells mediated by small fragment homologous replacement (SFHR)" FBS, 2008, 13:2989-99

Abstracts

- Filareto A. et al. "DNA methylation enhances repair efficiency of small fragment homologous replacement (SFHR) gene targeting" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: S15

FFC Project#1/2006 "Novel methods of intracellular delivery of ΔF508-CFTR correctors"

Marco Colombatti (Dipart. Patologia - Sez. Immunologia - Università di Verona), Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecol. - Centro FC - OCM Verona), Franco Dosio (Dipart. Scienza e Tecnologia del Farmaco - Univ. Torino)

Publications

- Norez C. et al. "Chemical conjugation of ΔF508-CFTR corrector deoxyspergualin to transporter human serum albumin enhances its ability to rescue C1-channel functions" Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008 Aug, vol. 295, pp. L336-L347.

Abstracts

- Norez C. et al. "Chemical conjugation of ΔF508-CFTR corrector deoxyspergualin to transporter human serum albumin enhances its ability to rescue CL-channel functions" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 313.

FFC Project#2/2006 "Homing of bone marrow-derived stem cells to the respiratory epithelium in a cystic fibrosis mouse model: Role of bioenergetic metabolism"

Massimo Conese (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano), Nazareno Capitanio (Dipart. Scienze Biomediche - Univ. Foggia), Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Ambientale - Univ. Bari)

Abstracts

- Conese M. et al. "Homing to the lung, mitochondrial content and CFTR expression in hematopoietic stem cells" 13th Italian Cystic Fi-

brosis Conference, Milan, 30 Nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: S16

FFC Project#3/2006 "Identification, optimization, and validation of potentiators and correctors for the pharmacotherapy of cystic fibrosis"

Luis JV Galietta (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Mauro Mazzei (Dipart. Scienze Farmaceutiche - Univ. Genova), Oscar Moran, (Istituto di Biofisica CNR - Genova)

Publications

- Pedemonte N. et al. "Structure-Activity relationship of 1,4-Dihydropyridines as potentiators of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel" Molecular Pharmacology, Vol. 72, N. 1, pp. 197-207
- Caputo A. et al. "TMEM16A, A Membrane Protein Associated with Calcium-Dependent Chloride Channel Activity" Science Express, DOI: 10.1126/science.1163518, 4 Sept. 2008.
- Caputo A. et al. "Mutation-specific potency and efficacy of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel potentiators" J Pharmacol Exp Ther (2009) 330: 783-91.
- Cateni F. et al. "Synthesis of 4-thiophen-2'-yl-1,4-dihydropyridines as potentiators of the CFTR chloride channel" Bioorg Med Chem (2009) 17: 7894-903
- Ferrera L. et al. "Regulation of TMEM16A chloride channel properties by alternative splicing" J Biol Chem (2009) 284: 33360-33368

FFC Project#4/2006, FFC#2/2008 "Functional and structural basis of the molecular mechanism of CFTR potentiators: towards therapeutic feasible molecules"

Oscar Moran, (Istituto di Biofisica CNR - Genova), Olga Zegarra, Nazareno Dimasi (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova)

Publications

- Zegarra Moran O. et al. "Functional analysis of mutations in the putative binding site for CFTR potentiators: interaction between activation and inhibition" The Journal of Biological Chemistry Vol. 282, No. 12 pp. 9098-9104, 2007
- Ferrera L. et al. "Characterization of a 7,8-Benzoflavone Doublet Effect on CFTR Cl⁻ Channel Activity" J. Membrane Biol. (2007) DOI 10.1007/s00232-007-9066-4
- Moran O. et al. "On the measurement of the functional properties of the CFTR" Journal of Cystic Fibrosis, 7 (2008) 483-494
- Moran O. "Model of the cAMP activation of chloride transport by CFTR channel and the mechanism of potentiators" J. Theor. Biol. (2010) 262:73-79.
- Bisignano P. et al. "Molecular dynamics analysis of the wild type and dF508 mutant structures of the human CFTR-nucleotide binding domain 1" Biochimie (2010) 92:51-57.
- Melani R. et al. "Analysis of ion transport in the airway epithelium using RNA interference" Current Opinion in Molecular Therapeutics, 11 (3): 282-291, 2009
- Melani R. et al. "Modulation of Cystic Fibrosis transmembrane conductance regulator activity and genistein binding by cytosolic pH" J of Biol Chem (2010) Vol 285, 53:41591-6
- Galeno L. et al. "Small-angle X-ray scattering study of the ATP modulation of the structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution" Eur Biophys J, 2011 Jul;40(7):811-24

Abstracts

- Bisignano P. "Dinamica molecolare della CFTR: stabilità strutturale e termodinamica del primo dominio legante il nucleotide (NBD1)" Università degli Studi di Genova, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Corso di laurea specialistica in Biologia Cellulare e Molecolare, Tesi di laurea, a.a. 2008/2009.
- Galfrè E. et al. "Biophysical characterisation of the interaction of recombinant nucleotide binding domains of the CFTR and potentiators" XIX Congresso Nazionale SIBPA, Roma, 17-20 settembre 2008
- Ferrera L. et al. "Modulation of CFTR activity by interactions between the UCCF-029 potentiator and ATP analogues" The 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 23-25, 2008
- Melani R. et al. "Interaction between CFTR and Genistein at different values of intracellular pH" 2009 ECFS Basic Science Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis, April 15-19, Tavira, Portugal
- Martorana V. et al. "A molecular dynamics study of the CFTR nucleotide binding domains interaction" European Biophysics Journal, 7th EBSA European Biophysics Congress, Genova, July 11-15, 2009
- Moran O., *moderators* "Pharmacology - how do correctors and potentiators work?" Special group discussion - IV, European CF Society, Tavira, Portugal, April 15-19, 2009
- Moran O. et al., Identification of the binding site of CFTR potentiators

- tors. Presented at the 51st Annual Meeting of the Biophysical Society (Baltimore, U.S.A.). 3-7 March, 2007.
- Galfrè E. et al., Biophysical characterisation of the interaction of recombinant nucleotide binding domains of the CFTR and potentiators, XIX Congresso Nazionale della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata (Roma, Italy) 2008
 - Zegarra-Moran O. et al. "Pharmacologic activation of chloride transport in CF mutants" ECFS Conference. New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (Regua, Douro, Portugal), 9-13 April, 2008.
 - Moran O. et al., Pharmacology- how do correctors and potentiators work? New frontiers in basic science of cystic fibrosis. European Cystic Fibrosis Society Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (Tavira, Portugal), 15-19 April, 2009.
 - Bisignano P. et al., Molecular dynamics of CFTR: Structural stability and thermodynamics of the first nucleotide binding domain (NBD1). BITS 2009 - Sixth Annual Meeting of the Italian Bioinformatics Society (Genova, Italy). 2009.
 - Zegarra-Moran O. et al., Binding of potentiators to CFTR involves electrostatic interactions. Pediatr. Pulm. S33:234. 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference (Baltimore, U.S.A.). 21-23 October, 2010.
 - Zegarra-Moran O., "CFTR potentiators: effects of pH and mutations". 33rd European Cystic Fibrosis Conference (Valencia, Spain). 16-19 June 2010.
 - Galeno L. et al., Structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution. XX Congresso Nazionale della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata 2008 (Arcidosso, Italy)
 - Melani R. et al., CFTR Activity and Potentiators Binding Are Modulated By Cytosolic pH. ECFS Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis.(Tirrenia, Italy). 30 March-2 April, 2011.
- FFC Project#1/2009 **"Role of the scaffolding protein NHERF in the PKA-mediated regulation of CFTR sorting and activity"**
Valeria Casavola (Dipart. Fisiologia Gen. ed Amb. - Univ. Bari)
- Publications
- Favia M et al "Na₊/H₊ Exchanger Regulatory Factor 1 Overexpression-dependent Increase of Cytoskeleton Organization Is Fundamental in the Rescue of F508del Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator in Human Airway CFBE41o- Cells", Molecular Biology of the Cell January 1, 2010, Vol. 21, 73-86
 - Monterisi S. et al. "CFTR regulation in human airway epithelial cells requires integrity of the actin cytoskeleton and compartmentalized cAMP and PKA activity" J Cell Sci. 2012 Mar 1;125(Pt 5):1106-17
 - Castellani S. et al. "NHERF1 and CFTR restore tight junction organization and function in cystic fibrosis airway epithelial cells: role of ezrin and the RhoA/ROCK pathway" Lab Invest. 2012 Nov;92(11):1527-40
- Abstracts
- Mancini MC. et al. "Phosphorylation of ezrin on threonine t567 plays a crucial role in the rescue of f508del cftr functional expression" Congresso SIFC Rimini, 18-21 novembre 2010
 - Monterisi S. et al., "CFTR regulation in human airway epithelial cells requires integrity of the actin cytoskeleton and compartmentalized cAMP and PKA activity" 8th ECFS Basic Science Conference, Tirrenia, Italy 30 March - 2 April 2011
- FFC Project#2/2009 **"Development of small molecules to correct the defective chloride transport in cystic fibrosis"**
Luis JV Galietta (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova), Enrico Millo (Dip. Medicina Sperimentale - Lab. Biochimica - Univ di Genova), Mauro Mazzei (Dipart. Scienze Farmaceutiche - Univ. Genova)
- Publications
- Ferrera L et al "Regulation of TMEM16A chloride channel properties by alternative Splicing" J Biol Chem 284:33360-33368, 2009
 - Pedemonte N et al "Influence of cell background on pharmacological rescue of mutant CFTR" Am J Physiol Cell Physiol (2010) 298:C866-74
 - Budriesi R. et al. "Cystic fibrosis: a new target for 4-Imidazo[2,1-*b*]thiazole-1, 4-dihydropyridines" J Med Chem. 2011 Jun 9;54(11): 3885-94
 - Pedemonte N. et al. "Dual activity of aminoarylthiazoles on the trafficking and gating defects of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) chloride channel caused by cystic fibrosis mutations" J Biol Chem. 2011 Apr 29;286(17):15215-26
 - Ferrera L. et al. "A minimal isoform of the TMEM16A protein associated with chloride channel activity" Biochim Biophys Acta 1808 (2011) 2214-2223
 - Sondo E. et al. "Rescue of the mutant CFTR chloride channel by pharmacological correctors and low temperature analyzed by gene expression profiling" Am J Physiol Cell Physiol. 2011 Oct;301(4):C872-85
 - Scudieri P. et al. "The anoctamin family: TMEM16A and TMEM16B as calcium-activated chloride channels" Exp Physiol. 2012 Feb; 97(2):177-83.
 - Giampieri M. et al. "Asymmetric 4-Aryl-1,4-dihydropyridines potentiate mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)" ChemMedChem. 2012 Oct;7(10):1799-807
- FFC Project#3/2009 **"Dissection by RNAi-mediated silencing of molecular mechanisms leading to f508del-cftr misprocessing"**
Nicoletta Pedemonte (Lab. Gen. Molec. - Ist. Gaslini - Genova)
- Publications
- Pedemonte N. et al. "Influence of cell background on pharmacological rescue of mutant CFTR" Am J Physiol Cell Physiol (2010) 298:C866-74
 - Pedemonte N. et al. "Dual activity of aminoarylthiazoles on the
- Publications
- Cateni F. et al. "Synthesis of 4-thiophen-2'-yl-1,4-dihydropyridines as potentiators of the CFTR chloride channel" Bioorganic & Medicinal Chem. 17 (2009) 7894-7903
 - FFC Project#4/2007 **"Assessing the implication of protein kinase CK2 in cystic fibrosis pathogenesis"**
Lorenzo A. Pinna (Dipart. Chimica Biologica - Università di Padova)

trafficking and gating defects of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) chloride channel caused by cystic fibrosis mutations" *J Biol Chem.* 2011 Apr 29;286(17):15215-26

Abstracts

- Pedemonte N. et al "Dissection by rnai-mediated silencing of molecular mechanisms involved in DF508del-CFTR misprocessing" NACFC 2010, Baltimore, USA
- Pedemonte N. et al. "Identification of new targets for ΔF508-CFTR rescue by genome-wide short interfering RNA screening" NACFC 2012, Orlando, USA
- FFC Project#4/2009 "**Signaling potential of the DF508 CFTR mutation: a new paradigm to explain nonchannelopathy related aspects of cystic fibrosis"**

Lorenzo A. Pinna (Dipart. Chimica Biologica - Università di Padova)

Publications

- Ruzzene M et al "Assessment of CK2 Constitutive Activity in Cancer Cells" *Methods in Enzymology* 2010; 484:495-514
- Salvi M "Variable contribution of protein kinases to the generation of the human phosphoproteome: a global weblogo analysis" *Bio-Mol Concepts* 2010 Aug; 1(2): 185-195.
- Salvi M et al "Motif analysis of phosphosites discloses a potential prominent role of the Golgi casein kinase (GCK) in the generation of human plasma phospho-proteome" *J Proteome Res.* 2010 Jun; 9(6): 3335-3338.
- Ruzzene M et al "Addiction to protein kinase CK2: a common denominator of diverse cancer cells?" *Biochim Biophys Acta* 2010 Mar; 1804(3): 499-504.
- Pagano MA et al "Cystic fibrosis transmembrane regulator fragments with the Phe508 deletion exert a dual allosteric control over the master kinase CK2" *Biochem J.* 2010 Jan; 426(1):19-29.

Abstracts

- Pagano MA et al "CK2 as a novel player in the modulation of phosphorylation-dependent events in cystic fibrosis" 6th International Conference on Protein Kinase CK2, Cologne (Germany), September 7-10, 2010.

- FFC Project#6/2009 "**Direct visualization of CFTR conformation by atomic force microscopy imaging**"

Massimo Vassalli (Istituto di Biofisica - Consiglio Nazionale delle Ricerche)

Publications

- Marasini C. et al. "Visualization of single proteins from stripped native cell membranes: a protocol for high-resolution atomic force microscopi" *Microsc Res Tech.* 2013 Jul;76(7):723-32

Abstracts

- Marasini C. et al. "Direct visualization of CFTR conformation by atomic force microscopi imaging" 8th EBSA European Biophysics Congress (August 23-27 2011, Budapest, Hungary) in *Eur Biophys J* 2011, 40 (Suppl 1):S3-S11

- FFC Project#7/2009 "**Strategies for the suppression of Na⁺ and fluid hyperabsorption in cystic fibrosis airway disease"**"

Olga Zegarra-Moran (Laboratorio di Genetica Molecolare - Istituto "Giannina Gaslini" - Genova)

Publications

- Melani R. et al., "Analysis of ion transport in the airway epithelium using RNA interference" *Curr Opin Mol Ther.* 11:282-291, 2009.
- Auriche C. et al., "CFTR expression and activity from the human CFTR locus in BAC vectors, with regulatory regions, isolated by a single-step procedure" *Gene Therapy*, 17:1341-1354, 2010.
- Becq F. et al., "Pharmacological therapy for cystic fibrosis: from bench to bedside" *J Cyst Fibros.* 10:S129-45, 2011.
- Gianotti A. et al., "ENsC silencing as a strategy to correct the airway surface fluid deficit in cystic fibrosis"- *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013 Apr 19 [Current Medical Literature review, 2013, vol. 3, nr. 3]

Abstracts

- Gianotti A. et al. "Innovative strategies for the Suppression of Fluid Hyperabsorption and the Recovery of airways hydration in cystic fibrosis" 2011 ECFC Basic Science Conference 30 March - 2 April 2011, Tirrenia, Pisa, Italy
- Zegarra-Moran O., "Identification of components of innate defense in the airway surface fluid", ECFS Conference. New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (2009, Tavira, Portugal).
- Zegarra-Moran O., "Binding of potentiatotors to CFTR is pH sensitive 33rd European Cystic Fibrosis Conference" (2010, Valencia, Spain).
- Zegarra-Moran O., "Epithelial sodium channel inhibition in primary human bronchial epithelia by transfected siRNA" Ion Channel Research Network Meeting (2011, Cambridge, UK).
- Melani R. et al., "CFTR Activity and Potentiatotors Binding Are Modu-

lated By Cytosolic pH" New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis .2011 (Tirrenia, Italy).

- FFC Project#18/2009 "**Mapping IL-8 gene transcription machinery in bronchial epithelial cells**"

Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecol. - Centro FC - OCM Verona)

Publications

- Bezerri V. et al. "Phospholipase C-β3 is a key modulator of IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial cells" *J Immunol.* 2011 Apr 15;186(8):4946-58
- Bezerri V. et al. "Mapping transcriptional machinery of IL-8 gene in human bronchial epithelial cells" *J Immunol.* 2011 Dec 1;187(11):6069-81

Abstracts

- Gambari R. et al. "Pharmacological modulation of chemotactic signalling in respiratory models" 2010 ECFS Conference - April 7-10, Carcavelos (Portugal)
- Bezerri V et al "Genetic regulatory network of Interleukin-8" 3rd European CF Young Investigator Meeting, Lille, France, 2009
- Cabrini G., "Modulazione farmacologica della infiammazione polmonare cronica", 1° Conferenza Aziendale sulla Ricerca, La patologia polmonare, Azienda Ospedaliera Universitaria di Verona, Verona, 2010
- Bezerri V. et al., "Role of PLCB3 in pro-inflammatory signaling in bronchial epithelial cells", 25th North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim, CA, USA, 2011\

- FFC Project#5/2010 "**The search of HSP70/HSC70 complex inhibitors useful to correct the ΔF508-CFTR**"

Mauro Mazzei (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Genova), Paola Fossa (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Genova), Maria Caterina Turco (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Salerno)

Publications

- Cichero E. et al. "Scouting new molecular targets for CFTR therapy: the HSC70/BAG-1 complex. A computational study" *MedChemRes*, February 2012
- Basile A. et al. "Matrine modulates HSC70 levels and rescue ΔF508-CFTR" *J Cell Physiol.* 2012 Sep;227(9):3317-23
- Nieddu E. et al. "F508del-CFTR rescue: a matter of cell stress response" *Curr Pharm Des.* 2013;19(19):3476-96

- FFC Project#6/2010 "**Novel biomarkers for evaluation of efficacy of new therapies in cystic fibrosis**"

Paola Melotti (Centro Regionale Fibrosi Cistica, OCM Verona), Claudio Sorio (Dip. Patologia, Sez. Patologia Generale, Università di Verona)

Publications

- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" *PLoS One*, 2011; 6(7): e22212. Published online 2011 July 21

Abstracts

- Sorio C. et al., "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" 2011 ECFC Basic Science Conference 30 March - 2 April 2011, Tirrenia, Pisa, Italy
- Rizzo R. et al., "Ruolo della molecola HLA-G come marcatore dello stato infiammatorio nella CF", VII Meeting Nazionale SIFC, Latina, 14-15 Aprile 2011
- Sorio C. et al. "Impaired CFTR function in mild CF associatted with the S977F/T5TG12 complex allele" NACFC 2012, Orlando, USA
- Rizzo R. et al. "Relevance of HLA-G in CF" NACFC 2012, Orlando, USA
- Tridello G. et al. "Search for appropriate outcomes of nasal potential differenc measurement for diagnosis" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA

- FFC Project#7/2010 "**Structural features of the intracellular domains of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator**"

Oscar Moran (Istituto di Biofisica CNR, Genova)

Publications

- Galeno L. et al. "Small-angle X-ray scattering study of the ATP modulation of the structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution" *Eur Biophys J.* 2011, 40:811-824.
- Galfre E. et al. "A potentiatotors induces conformational changes on the recombinant CFTR nucleotide binding domains in solution Cell Mol Life Sci. 2012 Nov;69(21):3701-13
- Marasini C. et al. "Thermodynamic study of the native and phosphorylated regulatory domain of the CFTR", 2012, *Biochem Biophys Res Commun.* 423:549-552.

- Marasini C. et al. "A SAXS-based ensemble model of the native and phosphorylated regulatory domain of the CFTR", 2012, Cell Mol Life Sci. Oct 4. [Epub ahead of print]

Abstracts

- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" XX Congresso Nazionale SIBPA 11-14 settembre 2010, Arcidoso
- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" At XV school of Pure and applied Biophysics, Venezia, 24-28 January 2011
- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Abstract, Poster and Oral Presentation)
- Moran O. "Model of the cAMP Activation of Chloride Transport by CFTR Channel and the Mechanism of Potentiators" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Abstract, Poster and oral presentation)
- Marasini C. et al. "Direct visualization of CFTR conformation by atomic force microscopy" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Poster)
- Moran O. "ATP-Dependent Conformational Changes of the NBD" The 34th European CF conference, Symposium CFTR Structure, Function and Therapy 8-11 June 2011, Hamburg (Oral Presentation)
- Galeno L. "Structural features of the intracellular domains of the Cystic Fibrosis transmembrane Conductance Regulator" Scuola di Dottorato in Bioscienze e Biotecnologie, Biochimica e Biofisica, Università di Padova, November 2011 (Abstract, Oral presentation)
- Marasini C. et al. "Conformational study of an intrinsic disordered protein by molecular dynamics" Giornata Ligure di Bioinformatica, Rete Ligure di Bioinformatica, 16 Dicembre 2011, Genova (Poster)
- Moran O. "On the structure of the regulatory domain of the CFTR" ECFS Basic Science Conference, 28 March - 1 April 2012. Sainte Maxime (Abstract, Oral Presentation)
- Marasini C. "Conformational and structural study of an intrinsic disordered protein" HERCULES - Higher European Research Course for Users of Large Experimental Systems. February 26- March 27 2012, Grenoble, Paris and Villigen (Poster)
- Marasini C. et al. "Structural study of R domain of CFTR: an intrinsically unstructured protein" Open mind 2012, Bioingegneria, Università di Genova, 13 September 2012. (Oral Presentation)
- Galeno L. "Regulatory domain: structural characterization of an intrinsic disordered protein" Scuola di Dottorato in Bioscienze e Biotecnologie, Biochimica e Biofisica, Università di Padova, June 2012 (Poster)
- Marasini C. et al. "Structural study of R domain of CFTR: an intrinsically unstructured protein" XXI Congresso Nazionale della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata SIBPA, September 17-20 2012, Ferrara (Abstract and Oral presentation)
- Marasini C. et al. "Thermodynamical and structural changes in two functional states of regulatory domain of CFTR" The 11th Croatian School of Biophysics, Biomacromolecular Complexes and Assemblies, October 1-10, 2012 Primošten (Abstract, Poster and Oral presentation)
- Moran O. "SAXS study of the ATP-modulation of the structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution. At Area della Ricerca di Palermo, CNR, Palermo 11 May 2011
- Moran O. "On the molecular structure of the intracellular domains of the CFTR" At Faculté de Médecine Paris - Descartes, Site Necker, Paris, 23 January 2012

PhD Thesis

- Marasini C. "Structural study of CFTR intrinsically disorder domain by computational and experimental approaches" Università degli Studi di Genova, Tesi di Dottorato di Ricerca in Bioingegneria, 25° ciclo, aprile 2013
- FFC Project#8/2010 "**Decrease apical infection of CFTR by Pseudomonas aeruginosa infection: role of NHERF1 phosphorylation**" Anna Tamanini (Laboratorio Patologia Molecolare, Laboratorio Analisi Cliniche ed Ematologiche, OCM Verona), Stephan Reshkin (Dip. Fisiologia Generale ed Ambientale, Università di Bari)

Abstracts

- Tamanini A. et al. "Decreased apical expression of CFTR by Pseudomonas Aeruginosa infection in respiratory cells: role of NHERF1 phosphorylation" 2011 ECFC Basic Science Conference 30 March - 2 April 2011, Tirrenia, Pisa, Italy
- Rubino R, Bezzetti V, Favia M et all "Pseudomonas aeruginosa reduces the expression of CFTR in airways via post translational modification of NERFH1", New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta ECFS Conference, 26-29 March 2014
- FFC Project#2/2011 "**PTC124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature stop codons in the CFTR gene"** Aldo Di Leonardo (Dip. Scienze e Biotecnologie Molecolari e Biomolecolari, Università di Palermo)

Publications

- Lentini L. et al. "Towards a rationale for the PTC124 (Ataluren) promoted readthrough of premature stop codons: a computational approach and GFP-reporter cell-based assay" Mol Pharm. 2014 Mar 3;11(3):653-64.doi: 10.1021/mp400230s. Epub 2014 Feb 7.

Abstracts

- Lentini L. et al. "Ptc124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature amber and ochre stop codons" 86° CONGRESSO SIBS. Palermo 24 - 25 Ottobre
- Lentini L. et al. "Azione readthrough di derivati del ptc124 su sistemi modello cellulari e in cellule di epitelio bronchiale-fc ib3.1 (cftr Df508/w1282x)" XIX Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, IX Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica, 13-16 Novembre 2013, Hotel Città del Mare, Terrasini (PA)
- Gallucci G. et al. "Valutazione dell'azione readthrough della molecola PTC124 su sistemi modello cellulari contenenti mutazioni non senso e in cellule di epitelio bronchiale IB3.1 (F508del-W1282X) derivate da pazienti affetti da fibrosi cistica" Convegno "Biotecnologie: ricerca di base, interdisciplinare e traslazionale in ambito biomedico" Area della Ricerca del CNR di Palermo 27-28 Giugno 2013
- Lentini L. et al. "PTC124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature amber and ochre stop codons" Convegno SIBS 2013, Palermo

- FFC Project#3/2011 "**Subverted signalling by protein kinase CK2 in ΔF508 CFTR expressing cells. Functional aspects and prospects in therapy**"

Lorenzo Pinna (Dip. Chimica Biologica, Università di Padova)

Publications

- Tosoni K. et al. "CFTR mutations altering CFTR fragmentation" Biochem J. 2012 Oct 15. [Epub ahead of print]
- Venerando A. et al. "Detection of Phospho-Sites Generated by Protein Kinase CK2 in CFTR: Mechanistic Aspects of Thr1471 Phosphorylation" PLoS One. 2013 Sep 18;8(9):e74232.
- Cesaro L. et al. "Phosphorylation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) serine-511 by the combined action of tyrosine kinases and CK2. The implication of tyrosine-512 and phenylalanine-508" AminoAcids, in press

- FFC Project#4/2011 "**Role of spatial cAMP/PKA compartmentalization and activity in regulating CFTR function**"

Stephan Reshkin (Dip. Fisiologia generale ed ambientale, Università di Bari)

Publications

- Monterisi S. et al. "Local modulation of Cystic Fibrosis Conductance Regulator: cytoskeleton and compartmentalized cAMP signalling" Br J Pharmacol. 2012 Oct 16

Abstracts

- Abbattisciani AC et al. "Spatial cAMP/PKA compartmentalization and activity in primary airway cells" ECFS Basic Science Conference, 20-24 March 2013, Malaga, Spain

- FFC Project#1/2012 "**The read-through approach for the treatment of cystic fibrosis caused by premature termination codons**"

Monica Borgatti (Dipartimento Biochimica e Biologia Molecolare Università di Ferrara), Nicola Altamura (Istituto Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari), Alberto Bresciani (IRBM, Science Park, Roma)

Publications

- Altamura N. et al. "Tobramycin is a suppressor of premature termination codons" J Cyst Fibros. 2013 Mar 26
- Marzaro G. et al. "Psoralen derivatives as inhibitors of NF-κB/DNA interaction: synthesis, molecular modeling, 3D-QSAR and biological evaluation" J Med Chem. 2013 Feb 17.
- Fabbri E. et al. "Expression of microRNA-93 and Interleukin-8 during Pseudomonas aeruginosa-Mediated Induction of Proinflammatory Responses" American Journal of Respiratory Cell And Molecular Biology 2014, Vol X, pp 1-11

Posters

- Borgatti M. et al. "Biological evaluation of psoralen derivatives as inhibitors of NF-κB/DNA interaction: molecular modeling, 3D-QSAR, EMSA assays and inhibition of IL-8 gene expression" 18th World Congress on Advances in Oncology and 16th International Symposium on Molecular Medicine, 10-12 Ottobre, 2013, Creta, Grecia.
- FFC Project#2/2012 "**Development of novel strategies to correct the chloride transport defect in cystic fibrosis**"

Galietta J. Luis (Lab. Genetica Molecolare, Ist. "G. Gaslini", Gen-

ova), Enrico Millo (Centre of Excellence for Biomedical Research, Università di Genova)

Publications

- Sondo E. et al. "Non-canonical translation start sites in the TMEM16A chloride channel" *Biochim Biophys Acta*. 2013 Aug 28. pii: S0005-2736(13)00287-3. doi:10.1016/j.bbamem.2013.08.010. [Epub ahead of print]
- Scudieri P. et al. "Association of TMEM16A chloride channel over-expression with airway goblet cell metaplasia" *Journal of Physiology* 2012; 590:6141-6155
- Scudieri P. et al. "TMEM16A-TMEM16B chimaeras to investigate the structure-function relationship of calcium-activated chloride channels" *Journal of Biological Chemistry* 2013 Jun 15;452(3):443-55
- Carbone A. et al. "Correction of defective CFTR/ENaC function and tightness of cystic fibrosis airway epithelium by amniotic mesenchymal stromal (stem) cells" *J. Cell. Mol. Med.* 2014 Jun 3. doi: 10.1111/jcmm.12303.
- Sondo E. et al. "The TMEM16A chloride channel as an alternative therapeutic target in cystic fibrosis" *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2014; 52: 73-76
- Pesce E. et al. "Synthesis and structure-activity relationship of aminoarylthiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in cystic fibrosis" *Eur J Med Chem*. 2015 Jun 24;99:14-35
- Caci E. et al. "Upregulation of TMEM16A Protein in Bronchial Epithelial Cells by Bacterial Pyocyanin" *PLoS One*. 2015 Jun 29;10(6):e0131775

Abstracts

- Scudieri P. et al. "Constitutive activation of the Ca²⁺-activated chloride channel TMEM16A" 12th ECFS Basic Science Conference – 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- Pesce E. et al. "Aminoarylthiazoles as correctors and potentiators for mutant CFTR" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Carbone A. et al. "Amniotic mesenchymal stem cells can correct the defective CFTR/ENaC function and tightness of CF airway epithelial cells upon coculture: involvement of gap junctions" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Pesce E. et al. "Strategies to correct the chloride transport defect in cystic fibrosis" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
- FFC Project#3/2012 **"Study of the pathogenetic and therapeutic role of the Epithelial Na⁺ channel (ENaC) in CF and CF-like disease"**
Marco Lucarelli (Dip. Biotecnologie cellulari ed Ematologia, Università "La Sapienza", Roma), Cristina Bombieri (Dip. Scienze della Vita e della Riproduzione, Università di Verona), Massimo Conese (Dip. Scienze Biomediche, Università di Foggia)

Abstracts

- Lucarelli M et al. "Espressione e metilazione dei geni ENaC" Congresso Società Italiana di Biochimica Clinica (SIBIOC), Roma 5-8 ottobre 2010.
- Lucarelli M. et al. "Expression and DNA methylation of ENaC genes" European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Valencia 16-19 June 2010
- Castellani S. et al. "Study of the role of ENaC in cystic fibrosis: Expression of ENaC subunits as an investigation tool of the interaction between CFTR and ENaC and therapeutic approaches by epigenetic manipulation and activity reduction" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- FFC Project#4/2012 **"The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)"**
Oscar Moran (Istituto di Biofisica CNR, Genova)

Publications

- Baroni D, Zegarra-Moran O, Moran O. "Functional and pharmacological induced structural changes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the membrane solved using SAXS" *Cell and Molecular Life Sciences* 2014 Oct 2
- Baroni D. et al. "Direct interaction of a CFTR potentiator and a CFTR corrector with phospholipid bilayers" *European Biophysics Journal* 26 Apr 2014
- Moran O. et al. "On the structural organization of the intracellular domains of CFTR" *Int J Biochem Cell Biol*. 2014 Jul;52:7-14
- Abstracts**
 - Pollock N. et al. "Purification and biophysical analysis of DF508 and G551D CFTR" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
 - Pollock NL, Cant N, Rimington TL et al. "From heterologous expression to homogeneous samples: large-scale production of a human

ABC transporter for structural studies" In: *Role of multidrug resistance proteins in pharmacokinetics and toxicology*, 3-7th September 2013 (Masuria, Poland)

- Belmonte L. Moran O. "Molecular dynamics analysis of the normal and mutated cystic fibrosis transmembrane regulator: nucleotide binding domain interactions" In: *CCII Congresso della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata*, 21-24 Settembre 2014 (Palermo, Italia)

- FFC Project #1/2013 **"Mechanism of action of trimethylangelicin in rescuing F508del CFTR functional expression"**

Valeria Casavola (Dip. di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica, Università di Bari)

Publications

- Rubino R, Bezzerra V, Favia M et all "Pseudomonas aeruginosa reduces the expression of CFTR via post-translational modification of NHERF1" *Pflugers Arch* 2014 Mar 5
- Favia M. et al. "Trimethylangelicin promotes the functional rescue of mutant F508del CFTR protein in cystic fibrosis airway cells" *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2014;May 9,

Abstracts

- Abbattisciani AC. et al. "Role of small molecule F508del CFTR correctors on the cAMP/PKA/ezrin compartmentalization in primary CF-BE cells" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Laselva O. et al. "Trimethylangelicin (TMA) binds directly to purified WT-CFTR" NACFC 2015
- Laselva O. et al. "Trimethylangelicin (TMA) promotes F508del.CFTR functional rescue in CF airways cells" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014

- FFC Project #5/2013 **"Vessel associated progenitor cells as a promising cell-based approach to treat cystic fibrosis disease"**

Graziella Messina (Dip. di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Vezzali C, Antonini A, De Stefano D, Bonfanti C, Bacchetta R, Villella V, Maiuri L, Messina G. "Vessel associated progenitor cells in the cell-based therapy of the cystic fibrosis lung disease" 11th ECFS Basic Science Conference, Malta, 26-29 March 2014

- FFC Project #6/2013 **"Establishment of a semi-automated evaluation of CFTR function in blood cells for clinical applications"**

Claudio Sorio (Dip. di Patologia, Sez. Patologia generale, Università di Verona), Monica Averna (Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Genova), Mario R. Buffelli (Dip. Scienze Neurologiche e del Movimento, Università di Verona)

Publications

- Johansson J et al. "Detection of CFTR protein in human Leukocytes by Flow Cytometry" *Cytometry* 2014 Jul;85(7):611-20. doi: 10.1002/cyto.a.22456. Epub 2014 Mar 12.
- Ettorre M. et al. "Electrophysiological evaluation of Cystic Fibrosis Conductance Transmembrane Regulator (CFTR) expression in human monocytes" *Biochimica et Biophysica Acta* vol 1840: 3088-3095

Abstracts

- Bavestrello M. et al. "Alterations of CF-PBMC induced by an increase in [Ca²⁺]i" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Vercellone S. et al. "Measure of CFTR expression and function in peripheral blood leukocytes" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project #1/2014 **"Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental approaches for the read-through of PTCs in CF cells"**

Laura Lentini (Dip. di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università di Palermo), Ivana Pibiri (Dip. di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie - STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università di Palermo)

Publications

- Pibiri I. et al. "Enhancement of premature stop codon readthrough in the CFTR gene by Ataluren (PTC124) derivatives" *Eur J Med Chem*. 2015 Aug 28;101:236-44

Abstracts

- Lentini L. et al. "Premature termination codon 124 derivatives as a novel approach to improve the read-through of premature amber and ochre stop codons" *J Biological Research*, Vol 88, No 1 (2015): 86th SIBS National Congress, Palermo, Italy, 24-25 October 2013
- Pibiri I. et al. "Nonsense Mutation Readthrough Enhancement by Variation of Fluorine Number and Position in a Series of PTC124 Derivatives", EFMC-ISMC 2014-XXIII International Symposium on

- FFC Project#3/2014 **"Testing CFTR in epithelial organoids for drug development and diagnosis of cystic fibrosis"**

Melotti Paola (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona), Hugo de Jonge (Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam)

Abstracts

- Calder S. et al. "CFTR in epithelial organoids: relevance for drug development and diagnosis of cystic fibrosis", 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project#TFCF "Task Force for Cystic Fibrosis",

Luis Galietta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. "G. Gaslini", Genova), Tiziano Bandiera (Istituto italiano di tecnologia, Genova)

Abstracts

- Pedemonte N. et al. "Task force for CF: an Italian drug discovery project to identify novel correctors and potentiatotrs of F508del-CFTR" 12th ECFS Basic Science Conference, 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- Pedemonte N. et al. "Task Force for CF an Italian drug discovery project to identify novel correctors and potentiatotrs of F508del-CFTR", 29th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, October 8-10, 2015, Phoenix (Arizona)

2. GENETICS

Genetica

- FFC Project#4/2003 **"Identification of CF modifier genes by family studies and microarray analysis"**

Giuseppe Novelli (Dipart. Biopatologia e Diagnostica per imm. - Univ. Tor Vergata RM), Pierfranco Pignatti (Ist. Biol. Genetica - Dip. Materno Infantile - Univ. Verona), Francesco Salvatore (Dipart. Bioch. e Biotec. Mediche - Univ. Federico II - Napoli)

Publications

- Groman J. D. et al. "Variation in a Repeat Sequence Determines Whether a Common Variant of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene is Pathogenic or Benign" Am. J. Hum. Genet. 74:176-179, 2004
- Sanguinetti F. et al. "Toward the pharmacogenomics of Cystic Fibrosis – an update" Future Medicine – Pharmacogenomics, 2004 Oct., 5 (7), pp. 861-878
- Salvatore D. et al. "Isolated elevated sweat chloride concentrations in the presence of the rare mutation S1455X: an extremely mild form of CFTR dysfunction" Am J Med Genet A. 2005 Mar 1;133A(2):207-8
- Castaldo G. et al. "Phenotypic discordance in three siblings affected by atypical cystic fibrosis with the F508del/D614G genotype" J Cyst Fibros. 2006 Aug;5(3):193-5
- Gambardella S. et al. "Gene expression profile study in CFTR mutated bronchial cell lines" Clin Exp Med (2006) 6:157-165

Abstracts

- Gambardella S. et al. "CAP70 as a possible modifier gene of Cystic fibrosis phenotype" 54th Annual Meeting Toronto, Canada October 26 – 30 2004
- Gambardella S. et al. "Different CFTR genotypes induce dissimilar expression patterns in CF putative modifier genes" European Human Genetics Conference 2005, Prague 7-10 May 2005;
- Gambardella S. et al. "Different CFTR genotypes induce dissimilar expression patterns in CF putative modifier genes" 28th European CF Conference, Crete, Greece 22-25 June 2005;
- Gambardella S. et al. "Diversi genotipi CFTR causano un diverso adattamento dell'espressione genica in linee cellulari FC" VIII Congresso Nazionale S.I.G.U. – Domus de Maria (CA) 28-30 settembre 2005;
- Groman J. D. et al. "Length of a variable TG repeat predicts whether the IVS8-5T mutation in the CFTR gene is pathogenic or benign" VI Congresso Nazionale S.I.G.U. – Verona 24-27 settembre 2003;
- Belpinati F. et al. "Geni modificatori in fibrosi cistica" V Congresso Nazionale S.I.G.U. – 5° Congresso Nazionale S.I.G.U. Verona 24-27 settembre 2002;
- Belpinati F. et al. "Geni modificatori del fenotipo polmonare in Fibrosi Cistica" 6° Congresso Nazionale S.I.G.U. Verona 24-27 settembre 2003;
- Gambardella S. et al. "CAP70: nuovo gene modificatore del fenotipo nella Fibrosi Cistica?" 7° Congresso Nazionale S.I.G.U. 2004

- FFC Project#5/2003 **"Molecular pathology of CFTR pre-mRNA splicing. Diagnostic and therapeutic aspects"**

Franco Pagani (ICGEB – Trieste)

Publications

- Buratti E. et al. "Nuclear factor TDP-43 Ninds to the Polymorphic TG Repeats in CFTR Intron 8 and Causes Skipping of Exon: A Functional Link with Disease Penetrance" Am. J. Hum. Genet. 74:1322-1325, 2004
- Amaral M. D. et al. "Quantitative methods for the analysis of CFTR transcripts/splicing variants" Journal of Cystic Fibrosis 3 (2004) 17-23;
- Zuccato E. et al. "An Intronic Polypyrimidine-rich Element Downstream of the Donor Site Modulates Cystic Fibrosis Transmembrane

Conductance Regulator Exon 9 Alternative Splicing" The Journal of Biological Chemistry – Vol 279, No. 17, Issue of April 23, pp. 16980-16988, 2004

- Pagani F. et al. "Synonumys mutations in CFTR exon 12 affect splicing and are not neutral in evolution" Proc Natl Acad Sci USA 2005, 102 (18), 6368-72.

- FFC Project# 6/2003 **"Assessing the possible utilization of CFTR-M470V genotyping for CF risk determination"**

Pierfranco Pignatti (Ist. Biol. Genetica – Dip. Materno Infantile - Univ. Verona), Carlo Castellani (Centro FC – Ospedale Civile Maggiore - Verona), Guido Modiano (Dipart. Biologia "E. Calef" Università di Roma -Tor Vergata)

Publications

- Pompei F. et al. "Haplotype block structure study of the CFTR gene. Most variants are associated with the M470 allele in several European populations" European Journal of Human Genetics 2006 Jan;14(1):85-93.
- Ciminelli B.M. et al. "Highly preferential association of NonF508del Cf mutations with the M470 allele" Journal of Cystic Fibrosis 6 (2007) 15 – 22.

Abstracts

- Pignatti P. F. et al "Assessing the possible utilization of CFTR-M470V genotyping for CF risk determination" Congresso ASHG 26-30 ottobre 2004;
- Pompei F. et al. "Determinazione del possibile utilizzo del polimorfismo CFTR-M470V per la determinazione del rischio di Fibrosi Cistica" Congresso SIGU 13 – 16 ottobre 2004;

- FFC Project#5/2004 **"Screening of CFTR gene rearrangements in Italian CF patients"**

Giuseppe Castaldo (CEINGE - Biotec. Avanzate s.c.a.r.l. - Univ. Federico II Napoli), Carlo Castellani (Centro FC – Ospedale Civile Maggiore – Verona), Cristina Bombieri (Ist. Biol. Genetica – Dip. Materno Infantile - Univ. Verona), Federica Sanguinetti (Dipart. Biopatologia e Diagnostica per Immagini - Univ. Tor Vergata Roma)

Publications

- Bombieri C. et al. "Frequency of large CFTR gene rearrangements in Italian CF patients" European Journal of Human Genetics (2005) 13, 687-689;
- Salvatore D. et al. "Cystic fibrosis presenting as metabolic alkalosis in a boy with the rare D579G mutation" Journal of Cystic Fibrosis 3 (2004) 135-136
- Tomaiuolo R. et al. "Epidemiology and a novel procedure for large scale analysis of CFTR rearrangements in classic and atypical CF patients: a multicentric Italian study" J Cyst Fibrosis 7 (2008) 347-351

Abstracts

- Bombieri C. et al. "Ricerca di riarrangiamenti del gene CFTR in pazienti italiani con Fibrosi Cistica" 7° Congresso Nazionale S.I.G.U. 13 – 15 ottobre 2004, Pisa;
- Bombieri C. et al. "Screening of CFTR gene rearrangements in Italian CF patients" Poster: Molecular Basis of Mendelian Disorder – The American Society of Human Genetics, 54th Annual Meeting, Toronto, Canada, October 26-30, 2004;
- Tomaiuolo R. et al. "Screening di macrodelezioni del gene CFTR in pazienti CF originari del sud Italia" 37° Congresso Nazionale S.I.BIOC (Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica), 11-14 ottobre 2005, Roma;
- Tomaiuolo R. et al. "Screening di varianti geniche di geni modulatori in pazienti con fibrosi cistica con fenotipo epatico" Poster - 37°

- Congresso Nazionale Società It. Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica, Roma 11-14 Ott. 2005
- Cardillo G. et al. "Varianti geniche di SLC26A3 in pazienti con fibrosi cistica con mutazioni non note nel gene-malattia" Poster - 37° Congresso Nazionale Società It. Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica, Roma 11-14 Ott. 2005
 - Tomaiuolo R. et al. "Screening of large rearrangements in the CFTR gene in cystic fibrosis patients from Southern Italy" 15th International Conference on Laboratory Medicine and 12h European Conference of Clinical Molecular Biology, 11-12 novembre 2005, Napoli;
 - Tomaiuolo R. et al. "Screening di macrodelezioni del gene CFTR in pazienti CF" IX Congresso Nazionale S.I.G.U. – Lido di Venezia – 8-10 novembre 2006
 - Raia V. et al. "La mutazione D1152H si associa a forme non classiche di CF" XII Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, Firenze, 23-25 novembre 2006
- FFC Project#7/2004 **"The Cystic Fibrosis mutation spectra in Italy: regional distribution and the European framework"** Alberto Piazza (Dipart. Genetica e Biochimica - Univ. Torino)
- Abstracts
- Riccardino F. et al. "Geografia (e storia) delle mutazioni della Fibrosi Cistica: l'Italia in un contesto europeo" 8° Congresso Nazionale S.I.G.U. – Cagliari 28 – 30 Settembre 2005.
 - Viviani L. et al. "Cystic Fibrosis mutations spectra in Italy: a regional distribution" Journal of Cystic Fibrosis 4 (2005) S3-S10;
- FFC Project# 8/2004 **"CF: characterization of the unknown mutations in Italian patients and assessment of their pathogenic role"** Maria Cristina Rosatelli, (Dipart. Scienze Biom. e Biotecn. Lab. Genetica Molecolare - Univ. Cagliari), Franca Dagna Bricarelli (Lab. Genetica Umana - Osp. Galliera Genova), Alberto Bonizzato (Centro FC – Ospedale Civile Maggiore – Verona), Manuela Seia (Lab. Genetica Molecolare ICP – Milano), Antonio Amoroso (Scuola di Genetica Medica - Univ. Trieste)
- Publications
- Faa V. et al. "A new insertion / deletion of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene account for 3.4% of cystic fibrosis mutations in Sardinia: implications for population screening" J. Mol Diagn. 2006 Sep; 8(4):499-503
- FFC Project#9/2004 **"Selection and functional characterization of CFTR intronic sequence variations potentially causing atypical forms of CF: modulation of CFTR alternative splicing?"** Roberto Strom (Dipart. Biotecnologie Cellulari ed Ematologia - Univ. La Sapienza Roma), Serena Quattrucci (Centro FC Regione Lazio, Dipart. Pediatria - Univ. La Sapienza Roma), Fernando Mazzilli (Dipart. Fisiopatologia Medica - Univ. La Sapienza Roma)
- Publications
- Lucarelli M. et al. "A 96- well formatted method for exon and exon/intron boundary full sequencing of the CFTR gene" Anal. Biochem. 2006 Jun 15; 353(2): 226-35
 - Narzi L. et al. "Does cystic fibrosis neonatal screening detect atypical CF forms? Extended genetic characterization and 4-year clinical follow-up" Clin Genet. 2007; 39-46
 - Lucarelli M. et al. "A Genotypic-oriented View of CFTR Genetics Highlights Specific Mutational Patterns Underlying Clinical Macro-categories of Cystic Fibrosis" Mol Med. 2015 Apr 21;21:257-75.
- FFC Project#10/2004 **"Genome-wide identification of target genes for the design of non-conventional antibiotics against cystic fibrosis - related pathogens"** G. Bertoni (Dip. di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Università di Milano)
- Publications
- Rusmini R. et al. "A shotgun antisense approach to the identification of novel essential genes in *Pseudomonas aeruginosa*" BMC Microbiol. 2014 Feb 5;14:24
- FFC Project#14/2005 **"New approaches for noninvasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis by fetal DNA analysis in maternal plasma"** Laura Cremonesi (Unità di Genomica per diagnosi di patologie umane - Fond. Centro San Raffaele del Monte Tabor, Milano), Gabriella Restagno (S.S. di Diagnostica Molecolare e Test genetici integrati - Dip. Patologia Clinica dell' A.O.O.I.R.M. – S. Anna, Torino), Manuela Seia (Istituti Clinici di Perfez. - Lab. Genetica Molecolare, Milano), Carlo Castellani (Centro Reg. Fibrosi Cistica – Osp. Civile Maggiore, Verona)
- Publications
- Bruno F. et al. "High- sensitive microarrays substrates specifically designed to improve sensitivity for the identification of fetal paternally inherited sequences in maternal plasma" Clin Chem Lab Med 2009, 47:818-823
 - Mari C. et al. "Application of pyrosequencing to the identification of sequence variations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene." Clin Chem Lab Med 2009; 47:1051-4
- FFC Project#15/2005 **"Splicing Affecting Genomic Variants in CFTR: Diagnostic and Therapeutic Aspects"** Franco Pagani (ICGEB, Trieste)
- Publications
- Youhna M. A. et al. "TDP43 depletion rescues aberrant CFTR exon 9 skipping" FEBS Letters 580 (2006) 1339-1344.
 - Raponi M. et al. "Reduced splicing efficiency induced by synonymous substitutions may generate a substrate for natural selection of new splicing isoforms: the case of CFTR exon 12" Nucleic Acids Research, 2007, Vol. 35, No. 2, pp. 606-613
- FFC Project#5/2006 **"Mechanisms of recruitment of adult bone marrow-derived cells to normal and cystic fibrosis airway epithelium"** Roberto Loi (Dip. Scienze Biomediche, Università di Cagliari)
- Publications
- Eisenhauer P. et al. "Endogenous distal airway progenitor cells, lung mechanics, and disproportionate lobar growth following long-term post-pneumonectomy in mice" Stem Cells 2013 Jul;31(7):1330-9
- FFC Project#24/2006 **"Characterization of the unknown mutations in Italian patients and assessment of their pathogenic role: a prerequisite for prevention of Cystic Fibrosis by carrier screening and prenatal diagnosis"** Maria Cristina Rosatelli, (Dipart. Scienze Biom. e Biotecn. Lab. Genetica Molecolare - Univ. Cagliari), M. Baffico (Ospedali Galliera, Laboratorio di Genetica, Genova), Carlo Castellani (Centro FC – Ospedale Civile Maggiore - Verona), Manuela Seia (Lab. Genetica Molecolare ICP – Milano)
- Publications
- Faa V. et al. "A Synonymous Mutation in the CFTR Gene Causes an Aberrant Splicing in an Italian Affected by a Mild Form of Cystic Fibrosis" J Mol Diagn. 2010 May;12(3):380-3. Epub 2010 Feb 26
- FFC Project#19/2007 **"Molecular analysis of genes encoding CFTR interactors of SLC26 family in CF patients"** Giuseppe Castaldo (CEINGE - Biotec. Avanzate s.c.a.r.l. - Univ. Federico II Napoli)
- Publications
- Elce A. et al. "Three novel CFTR polymorphic repeats improve segregation analysis for cystic fibrosis" Clin Chem. 2009 Jul;55(7):1372-9
 - Amato F. et al. "Extensive molecular analysis of patients bearing CFTR-related disorders" J Mol Diagn. 2012 Jan;14(1):81-9. Epub 2011 Oct 20.
 - Tomaiuolo R. et al. "An MBL2 haplotype and ABCB4 variants modulate the risk of liver disease in cystic fibrosis patients: a multicentre study." Dig Liver Dis. 2009 Nov;41(11):817-22. Epub 2009 May 20.
- Abstracts
- Elce A. et al. "Direct sequencing of CSTs in Cystic Fibrosis patients bearing indefinite genotype" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 nov. - 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: pp. S12
 - Tomaiuolo R. et al. "Molecular analysis of genes encoding CFTR interactors of SLC26 family in CF patients: preliminary results" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: pp. S12-S13
 - Elce A. et al. "L'analisi di tre nuovi marcatori polimorfici del gene CFTR rende più efficiente l'analisi molecolare indiretta della fibrosi cistica" XI Congresso nazionale SIGU, 23-25 novembre 2008, Genova
 - Elce A. et al. "La caratterizzazione di tre nuovi polimorfismi nel gene CFTR permette il potenziamento dell'analisi di linkare nella fibrosi cistica" XIV Congresso italiano della fibrosi cistica – IV Congresso SIFC, Torino 27-29 novembre 2008
- FFC Project#20/2007 **"Evaluation of disease causing mutations in CFTR co-transcriptional splicing units: diagnostic and therapeutic aspects"** Franco Pagani (ICGEB – Trieste)
- Publications
- Baralle M. et al. "Influence of Friedrich Ataxia GAA noncoding repeat expansion on Pre-mRNA processing" Am J Hum Genet 83, 77-88, July 2008.
 - Goina E. et al. "Binding of DAZAP1 and hnRNPA1/A2 to an exonic splicing silencer in a natural BRCA1 exon 18 mutant" Mol Cell Biol, 28, June 2008, 3850-3860.
 - Pinotti M. et al. "U1-snRNA-mediated rescue of mRNA processing

in severe factor VII deficiency" Blood, 111, 5, 2681-4.

- FFC Project#3/2008 "Genetic factors influencing pulmonary disease in Cystic Fibrosis (CF) patients"

Paolo Gasparini (Dip. Scienze dello Sviluppo e Riproduttive - Università di Trieste), Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecolare - Azienda Ospedaliero - Universitaria - Verona)

Publications

- Crovella S. et al. "A polymorphism in the 5' UTR of the DEFB1 gene is associated with the lung phenotype in F208del homozygous Italian cystic fibrosis patients" Clin Chem Lab Med 2011;49(1):49-54

- FFC Project#4/2008 "Search of novel regulatory elements in the promoter region of CFTR gene"

Pietro Pucci (CEINGE - Biotec. Avanzate s.c.a.r.l. - Univ. Federico II Napoli)

Publications

- Giordano S. et al. "Molecular and functional analysis of the large 5' promoter region of CFTR gene revealed pathogenic mutations in CF and CFTR-related disorders" J Mol Diagn. 2013 May;15(3):331-40

Abstracts

- Cozzolino F. et al. "Identification of novel CFTR promoter regulatory elements" Italian Proteomics Association, 4th Annual National Conference, Milano, June 22-25, 2009.
- Lo Presti A. et al. "Ricerca di mutazioni nel promotore del gene CFTR in soggetti affetti da Fibrosi Cistica" XII Congresso Nazionale di Genetica Umana: - SIGU - Torino, 8th -11th November 2009
- Iannone C et al "Identification of novel CFTR expression regulatory elements" ITPA 2010 - Florence, 9 th -12 th June 2010
- Giordano S. et al. "Il ruolo del promotore del gene CFTR: da elemento regolativo a possibile protagonista della patogenesi della malattia" 42° Congresso Nazionale SIBIOC. Riassunti Poster Biochimica Clinica, 2010, vol. 34, n. 5, pag 419, n°061 - Rome, 5th-8th October 2010

- FFC Project# 5/2008 "Feasibility of a screening program for the preconceptional identification of Cystic Fibrosis carriers in Sardinian population"

Maria Cristina Rosatelli, (Dipart. Scienze Biom. e Biotecn. Lab. Genetica Molecolare - Univ. Cagliari)

Publications

- Faa V. et al. "A Synonymous Mutation in the CFTR Gene Causes Aberrant Splicing in an Italian Patient Affected by a Mild Form of Cystic Fibrosis" J. Mol Diagn. 2010 May; 12(3):380-383
- Coiana A. et al. "Preconceptional identification of cystic fibrosis carriers in the Sardinian population: a pilot screening program", J Cyst Fibros. 2011 May;10(3):207-11

- FFC Project# 9/2009 "Molecular pathology of the pre-mRNA splicing machinery in cystic fibrosis: mechanistic aspects and therapeutic approaches"

Franco Pagani (International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, ICIGEB, Trieste)

Publications

- Goina E. et al. "Approaches to study CFTR pre-mRNA splicing defects" in Amaral MD & Kunzelmann K (Ed.), Cystic Fibrosis, Methods in Molecular Biology, 2010, 741 (2): 155-159.
- Alanis E. F. et al. "An exon-specific U1 small nuclear RNA (snRNA) strategy to correct splicing defects" (in preparation)
- Alanis E. F. et al. "An exon-specific U1 small nuclear RNA (snRNA) strategy to correct splicing defects" Hum Mol Genet. 2012 Jun 1;21(11):2389-98

Abstracts

- Alanis E. F. et al. "Shift U1 snRNAs Targeted to an Intronic Splicing Silencer correct aberrant CFTR exon 12 skipping" 8th European Cystic Fibrosis Society Basic Science Conference, Tirrenia, Italy, Mar.-Apr. 2011
- Alanis E. F. et al. "Shift U1 snRNAs targeting to ISS in splicing correction" 2nd International EURASNET Conference on Alternative Splicing, Granada, Spain, Feb.-Mar. 2011
- Alanis E. F. et al. "Defective Donor Splice Sites: Molecular analysis and therapeutic approaches" EURASNET Focus Meeting on RNA Mis-Splicing, Cambridge, UK, Churchill College, Univ. Of Cambridge, Jul. 2010

- FFC Project#3/2010 "An induced pluripotent stem cell (iPS)-based approach for the repopulation and phenotypic correction of cystic fibrosis airway epithelium"

Roberto Loi (Dip. Scienze Biomediche, Università di Cagliari)

Abstracts

- Loi R. et al. "Derivation of normal and cystic fibrosis human induced pluripotent stem cells (iPSCs) from airway epithelium" 36th European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Lisboa, 12-15 June, 2013

- FFC Project#6/2011 "CFTR mRNA analysis as a key step to understand the role of CFTR gene mutations in cystic fibrosis disease expression"

Stefano Duga (Dip. Biologia e Genetica per le Scienze Mediche, Università di Milano)

Publications

- Costantino L. et al. "Fine characterization of the recurrent c.1584+18672A>G deep-intronic mutation in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene" Am J Respir Cell Mol Biol. 2013 May;48(5):619-25

Abstracts

- Rusconi D. et al. "Fine characterization of the recurrent c.1584+18672A>G deep-intronic mutation in the CFTR gene" European Human Genetics Conference 2012

- FFC Project#7/2011 "New strategies for clinical application of non-invasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis based on the analysis of fetal mutated alleles in maternal plasma"

Maurizio Ferrari (Lab. Biologia Clinica Molecolare e Citogenetica, Università Vita-Salute HSR, Milano), Marina Cretich (Ist. di Chimica del Riconoscimento Molecolare, CNR, Milano)

Abstracts

- Galbiati S. et al. "Non-invasive prenatal diagnosis of genetic diseases by advanced technologies" 3rd Congress of the European Society of Predictive Medicine (EUSPM), 9th- 10th March 2013, Riolo Terme (RA), Italy

- Galbiati S. et al. "Non-invasive prenatal diagnosis of genetic diseases by advanced technologies" Clinical Biochemistry (2012) doi:10.1016/j.clinbiochem.2013.05.030

- Galbiati S. et al. "Noninvasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis" EUROMEDLAB, Milano, 19-23 May 2013

- Galbiati S. et al. "Fetal DNA in maternal plasma: a noninvasive tool for prenatal diagnosis of genetic diseases by COLD-PCR and Innovative Microarray Substrates" International Meeting on Cell-free DNA, Copenhagen, 2013, 20th- 21st

- FFC Project# 8/2011 "A field study in an area of extensive carrier screening for cystic fibrosis"

Carlo Castellani (Centro Regionale FC, Azienda Ospedaliera Universitaria, Verona), Luigi Picci (Clinica Pediatrica, Azienda Ospedaliera, Padova)

Abstracts

- Castellani C. et al. "Carrier screening and Neonatal screening for cystic fibrosis: a complex relationship" Presentazione a European Society of Human Genetics Conference, Milan 2014

- Castellani C. et al. Poster "Population carrier screening reduces dramatically Cf incidence: evidence from a twenty years' experience" 28th North American Cf Conference, Atlanta October 9-11 2014

- Castellani C. et al. Poster "Population carrier screening impairs positive predictive value of CF newborn screening: evidence from a twenty years' experience" 28th North American CF Conference, Atlanta October 9-11 2014

- FFC Project# 9/2011 "Cystic fibrosis: to screen or not to screen? Involving citizens' jury in decision on carrier screening"

Paola Mosconi (Ist. Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Lab. for Medical Research and Consumer Involvement), Carlo Castellani (Centro Regionale FC, Azienda Ospedaliera Universitaria, Verona)

Publications

- Mosconi A. et al. "Cystic fibrosis: to screen or not to screen? Involving a Citizens' jury in decisions on screening carrier" Health Expectations doi:10.1111/hex.12261

- FFC Project#7/2013 "Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for Cystic Fibrosis and CFTR related-disorders"

Giuseppe Castaldo (CEINGE-Biotecnologie Avanzate srl, Napoli)

Abstracts

- Scorzà M. et al. "Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for Cystic Fibrosis and CFTR related-disorders" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project#9/2014 "Cystic fibrosis modifier genes related to Pseudomonas aeruginosa lung disease"

Alessandra Bragonzi (Unità di Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive, Istituto Scientifico San

Raffaele, Milano), Iraqi Fuad (Clinical Microbiology and Immunology, Tel Aviv University)

Publications

- Lorè NI. et al. "Host genetic diversity influences the severity of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in the Collaborative Cross mice" *BMC Genet.* 2015 Aug 28;16:106

Abstracts

- Lorè NI. et al. "Host genotype influences *Pseudomonas aeruginosa*

susceptibility in the Collaborative Cross and inbred mouse populations", 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference – Georgia, October 9-11, 2014

- Cigana C. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* adaptation as a potential risk factor to the progression of cystic fibrosis airway disease in mice and humans", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015

3. MICROBIOLOGY

Microbiologia

- FFC Project#4/2002 **"Taxonomy and virulence markers of *B. cepacia* strains associated with respiratory infections in patients with cystic fibrosis"**

Roberta Fontana (Lab. Microbiol e Virologia, Ospedale Civile Maggiore – Verona)

Publications

- Golini G. et al. "Molecular epidemiology and antibiotic susceptibility of *Burkholderia cepacia*-complex isolates from an Italian cystic fibrosis centre." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006 Mar;25(3):175-80.

Abstracts

- G. Golini et al. "Distribution of *Burkholderia Cepacia* complex isolates from patients with cystic fibrosis" 12th ECCMID, Milan, 24-27 April 2002. *Clinical Microbiology and Infection* 2002; 8 Supp. 1:114
- G. Golini et al. "Distribution of *Burkholderia Cepacia* complex isolates from patients with cystic fibrosis" 25th European Congress CF Society, Genoa; 20-23 June 2002. *Journal of CF* 2002; 1 Supp. 1: 127.
- G. Golini et al. "Burkholderia Cepacia infection and clinical course in cystic fibrosis" 26th European Congress CF Society, Belfast; 4-7 June 2003. *Journal of CF* 2003; 2 Supp. 1:34.
- G. Golini et al. "In vitro of levofloxacin and ciprofloxacin on clinical isolates obtained from patients with cystic fibrosis" 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases – Istanbul, Turkey – 1-4 April 2001

- FFC Project#8/2003 **"Gene regulation and adaptive mutation of *Pseudomonas aeruginosa* in a chronic lung infection model for Cystic Fibrosis"**

Alessandra Bragonzi (Istituto per il trattamento sperimentale della fibrosi cistica, Osp. S. Raffaele, Milano), Gerd Döring (Institute for Gen. and Environ. Hygien - Univ. Tuebingen – Germany)

Publications

- Bragonzi A. et al. "Sequence diversity of the mucABD locus in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis" *Microbiology* (2006), 152, 3261-3269
- Bragonzi A. et al. "Nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* expresses alginate in the lungs of patients with cystic fibrosis and in a mouse model" *J. Infect Dis.* 2005; 192(3): 410-419

Abstracts

- Montanari S. et al. "Evaluation of the biological cost of *Pseudomonas aeruginosa* hypermutation in a murine model of chronic pulmonary infection" *Paediatric Pulmonology, Suppl.* 28: 289, 2005. (19th North American Cystic Fibrosis Conference. Baltimore, USA)
- Paroni M. et al. "Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* clonal strains isolated from CF patients in a murine model of chronic pulmonary infection" 20th Annual North American CF Conference; Denver – Colorado, 2-5 Nov. 2006
- Montanari S. et al. "Cost versus benefit of *Pseudomonas Aeruginosa* hypermutation in the absence or presence of antibiotic treatment" 20th Annual North American CF Conference; Denver – Colorado, 2-5 Nov. 2006
- Montanari S. et al. "Evaluation of the biological cost of hypermutation in *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis" 2nd FEMS Congress of European Microbiologists, Madrid, July 4-8, 2006

- FFC Project#9/2003 **"Development of a rapid diagnostic test to discriminate *B. cepacia* complex species and genomovars in routine clinical analysis involving CF patients"**

Renato Fani (Dipart. Biologia Animale e Genetica - Univ. Firenze), Giovanni Taccetti (Dipart. Pediatria – Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer - Firenze), Graziana Manno (Dipart. Pediatria - Osp. G. Gaslini - Genova), Silvia Tabacchioni (Dipart. Biotec. Prot. della

Salute e degli Ecosistemi - Sez. Gen. e Genomica veg. - ENEA - CRE – CASACCIA -UTS – Roma)

Publications

- Tabacchioni S. et al. "Use of the *gyrB* gene to discriminate among species of the *Burkholderia cepacia* complex" *FEMS Microbiol. Lett.* (2008) 1-8
- Papaleo M.C. et al. "Structural, evolutionary and genetic analysis of the histidine biosynthetic "core" in the genus *Burkholderia*" *Gene* 448 (2009) 16-28
- Perrin E. et al. "Exploring the HME and HAE1 efflux systems in the genus *Burkholderia*" *BMC Evol Biology* (2010), 10:164
- Ferri L. et al. "Application of multiplex single nucleotide primer extension (mSNuPE) to the identification of bacteria: The *Burkholderia cepacia* complex case" *J Microbiol Methods*. 2010 Mar;80(3):251-6

Abstracts

- Cocchi P. et al. "Identification of *Burkholderia cepacia* complex species by SNuPE analysis of *recA* and *gyrB* genes" 28th European CF Conference, Crete, Greece 22-25 June 2005

- FFC Project#10/2003 **"The quorum sensing of the emerging fibro-cystic pathogen *B. cepacia"***

Vittorio Venturi (ICGBE Trieste)

Publications

- Venturi V. et al. "Quorum sensing in *B. cepacia* complex" *Research in Microbiology* 155 (2004) 238-244
- Bertani I. et al. "Regulation of the N-Acyl Homoserine Lactone-Dependent Quorum-Sensing in Rhizosphere *Pseudomonas putida* WCS358 and Cross-Talk with the Stationary-Phase RpoS Sigma Factor and the Global Regulator GacA" *Applied and Environmental Microbiology*, Sept. 2004, p. 5496-5502

Abstracts

- Bertani I. et al. "Negative regulation of N-acyl homoserine lactone quorum sensing in *Pseudomonas putida*" *Pseudomonas* 2005, 10th International Congress, Marsiglia, 27-31 Aug. 2005
- FFC Project#10/2004 **"Genome-wide identification of target genes for the design of non-conventional antibiotics against CF related pathogens"**

Giovanni Bertoni (Dipart. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Univ. Milano)

Abstracts

- Vidal Aroca F. et al. "Functional genomics of the opportunistic pathogen *Pseudomonas Aeruginosa* by interfering antisense RNA" 25th Congresso Nazionale della SIMGBM, Orvieto 8- 10 giugno 2006;
- Vidal Aroca F. et al. "Functional genomics of the opportunistic pathogen *Pseudomonas Aeruginosa* by interfering antisense RNA" Summer School - International Univ. Bremen, 28 luglio - 4 agosto 2006;
- Milani A. et al. "Functional genomics of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* by interferring antisense RNA" 1st European CF Young Investigator Meeting, Lille, Aug. 29-31, 2007

- FFC Project#11/2004 **"Evaluation of the pathogenicity of environmental and clinical isolates of *Burkholderia cepacia* complex alone and in the presence of *Ps aeruginosa*"**

Annamaria Bevilino (Dipart. Biotecnologie Agroindustr. e protezione della salute - ENEA - Casaccia - Roma), Fiorentina Ascenzioni (Dipart. Biologia cellulare e dello sviluppo - Univ. La Sapienza Roma), Alessandra Bragonzi (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)

Publications

- Chiarini L. et al. "Burkholderia cepacia complex species: health hazards and biotechnological potential" *Trends in Microbiology* Vol. 14 No. 6 June 2006; 277-286
- Pirone L. et al. "Burkholderia cenocepacia strains isolated from

cystic fibrosis patients are apparently more invasive and more virulent than rhizosphere strains" Environmental Microbiology (2008) Oct;10(10):2773-84

Abstracts

- Pirone L. et al. "In vitro and in vivo pathogenicity of Burkholderia cenocepacia strains of clinical and environmental origin" 28th European CF Conference, Crete, Greece 22 – 25 June 2005;
- Pirone L. et al. "Clinical and environmental Burkholderia cenocepacia strains: evaluation of pathogenicity by in vitro and in vivo models" International Burkholderia Cepacia Working Group meeting April 20 – 23, 2006, Gent, Belgium
- Pirone L. et al. "Clinical and environmental Burkholderia cenocepacia strains: evaluation of pathogenicity by in vitro and in vivo models" 19th Annual North American CF Conference, Baltimore; October 20 – 23 2005
- Pirone L. et al. "In vitro and in vivo pathogenicity of clinical and environmental *Burkholderia cenocepacia* isolates" FISV, 2005, Environmental Microbiology and Ecology

- FFC Project#12/2004 **"Antimicrobial resistance in Burkholderia cepacia complex from CF patients: identification, characterization and role of efflux transporters in intrinsic and acquired drug resistance"**

Giovanna Riccardi (Dipart. Genetica e Microbiologia - Univ. Pavia), Graziana Manno (Dipart. Pediatria - Osp. G. Gaslini - Genova)

Publications

- Guglierame P. et al. "Efflux pump genes of the resistance-nodulation division family in Burkholderia cenocepacia genome" BMC Microbiol. 2006 Jul 20; 6:66
- FFC Project#6/2005, #12/2006, #11/2007 **"Community-acquired MRSA and hospital- acquired MRSA in cystic fibrosis patients: a multicentre study regarding antibiotic susceptibility, epidemiology, natural history and clinical relevance"**
Silvia Campana (Dipart. Pediatria – Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer – Firenze)

Publications

- Campana S. et al. "Emergence of an epidemic clone of community-associated methicillin-resistant Panton-Valentine leukocidin negative *Staphylococcus aureus* in Cystic Fibrosis patients populations" - Journal of Clinical Microbiology, Sept. 2007; vol. 45, No 9:3146-47
- Taccetti G. et al. "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Cystic Fibrosis", European Infectious Diseases, 2008, vol. 2, issue 2.
- Taccetti G. et al. "Staphylococcus aureus meticillino-resistente comunitario e nosocomiale in fibrosi cistica: uno studio di epidemiologia molecolare" Medico e Bambino (2010)
- Cocchi P. et al. "Molecular epidemiology of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Italian cystic fibrosis patients: a National overview" J Cyst Fibros. 2011 Dec;10(6):407-11. Epub 2011 Jul 12.

Abstracts

- Piluso A. et al. "A national overview of MRSA epidemiology: emergence of an epidemic clone" NACFC 2006.
- Cocchi P. et al. "Epidemiology of Community acquired MRSA and hospital acquired MRSA in cystic fibrosis patients: a national overview" North American CF Conference, Anaheim, California, Oct. 3-6, 2007
- Cocchi P. et al. "Emergence of an epidemic clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) Panton-Valentine leukocidin (PVL) negative in Cystic Fibrosis patients" 30th European CF Conference, Belek, turkey, 13-16 June 2007
- Cocchi P. et al. "Epidemiologia italiana di staphylococcus aureus meticillino-resistente: risultati di uno studio multicentrico" XII Congresso Italiano Fibrosi Cistica, Firenze, 23-25 Nov. 2006
- Taccetti G. et al. "Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in cystic fibrosis patients: prevalence and clinical findings" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 343.
- Cocchi P. et al. "MLST analysis of an epidemic clone of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) panton-valentine leukocidin (PVL) negative in cystic fibrosis patients" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 348
- Campana S. et al. "Community-Aquired MRSA cause earlier infection than Hospital Acquired MRSA in patients with cystic fibrosis" 32nd European Cystic Fibrosis Conference, 10-13 giugno 2009, Brest, France.
- Cocchi P. et al. "Characterization of SCCmec types involved in persistent MRSA infections in cystic fibrosis patients" 32nd European

Cystic Fibrosis Conference, 10-13 giugno 2009, Brest, France.

- Campana S. et al. "Infection with community-and hospital-acquired MRSA: influence on pulmonary function in CF patients" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Cocchi P. "SCCMEC types involved in persistent MRSA infections in CF patients: a longitudinal study" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.

- FFC Project#7/2005 **"*Stenotrophomonas maltophilia*, an emergent pathogen associated to cystic fibrosis: identification and molecular characterization of virulence determinants as potential targets for new therapeutic strategies"**

Bianca Colonna (Dipart. Biologia Cellulare e dello Sviluppo - Lab. Microbiologia Molecolare - Univ. La Sapienza – Roma), Maurizio Sanguinetti (Ist. Microbiologia - Univ. Sacro Cuore – Roma), Mauro Nicoletti (Dipart. Scienze Sanità Pubbli. - Sez. Microbiologia - Univ. La Sapienza – Roma), Mariassunta Casalino (Dipart. Microbiologia – Univ. Roma 3), Ersilia Fiscarelli (Dipart. Medicina Pediatrica - Osped. Pediatrico "Bambini Gesù" – Roma)

Publications

- Di Bonaventura G. et al. "Molecular characterization of virulence determinants of *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from patients affected by cystic fibrosis". Internat J Immunopath Pharmacol 2007;Vol. 20:529-37
- E. Roscetto et al. "PCR-based rapid genotyping of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates" BMC Microbiol 2008 Nov 24;8:202.

Abstracts

- De Carolis E. et al. "Analisi proteomica di Stenotrophomonas Maltophilia" Congresso Società Italiana di Microbiologia (SIM), Genova 15-18 ottobre 2006.
- Del Chierico F. et al. "Caratterizzazione genetica e molecolare dei geni codificanti il flagello in ceppi di Stenotrophomonas Maltophilia isolati da pazienti con fibrosi cistica (FC)" Congresso Società Italiana di Microbiologia (SIM), Genova 15-18 ottobre 2006.
- Di Bonaventura G. et al. "Effetto di concentrazioni sub-inibenti di Moxifloxacina su Stenotrophomonas Maltophilia isolati da fibrosi cistica" Congresso Società Italiana di Microbiologia (SIM), Genova 15-18 ottobre 2006.
- FFC Project#8/2005 **"Genetic fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Italian cystic fibrosis patients: comparison with isolates from the environment and other clinical origins in Europe"**

Graziana Manno (Dipart. Pediatria - Osp. "G. Gaslini" - Genova), Roberto Biassoni (Lab. Medicina Molecolare – Ist. Gaslini – Genova), Eugenio Agenore Debbia (DISCAT - Sez. Microbiologia "C.A. Romanzi" – Genova), Angela Sangiuolo (ARPAL - Dipart. Prov. di Genova)

Abstracts

- Morelli P. et al. "Pseudomonas aeruginosa in CF patients: acquisition sources, means of transmission and hypermutable phenotype occurrence" 1st European CF Young Investigator Meeting, Lille – France; 29-31 Aug. 2007
- Manno G. et al. "Occurrence of P.aeruginosa (PA) with hypermutable phenotype (HMP) in Italian CF patients" 30th European CF Conference, Belek (Turkey), 6-9 June 2007
- Manno G. et al. "Genetic fingerprinting of Pseudomonas aeruginosa from Italian CF patients: comparison with isolates from environment and other clinical origins in Europe" 30th European CF Conference. Belek (Turkey), 6-9 June 2007

- FFC Project#9/2005 **"Studies of the Quorum Sensing Systems of Pseudomonas and Burkholderia"**

Vittorio Venturi (ICGEB Trieste)

Publications

- Rampioni G. et al. "The Quorum sensing negative regulator RsaL of Pseudomonas Aeruginosa binds to the *lasI Promoter*" Journal of Bacteriology (2006), vol. 188, No. 2, pp. 815-819.
- Solis R. et al. "Involvement of quorum sensing and RpoS in rice seedling blight caused by Burkholderia plantarii" FEMS Microbiol Lett 259 (2006) 106-112
- Bertani I. et al. "The Pseudomonas putida Lon protease is involved in N-acyl homoserine lactone quorum sensing regulation" BMC Microbiol 2007 Jul 26; 7:71
- Devescovi G. et al. "Involvement of a Quorum-Sensing-Regulated Lipase Secreted by a Clinical Isolate of Burkholderia glumae in Severe Disease Symptoms in Rice" Applied and Environmental Microbiology 2008 Jan 1; 74(1): 103-108

- biology, (2007); 73 (15): 4950-8
- Licciardello G. et al. "Pseudomonas corrugata contains a conserved N-acyl homoserine lactone quorum sensing system; its role in tomato pathogenicity and tobacco hypersensitivity response" FEMS Microbiol. Ecol. (2007); 61 (2): 222-34
 - Rampioni G. et al. "The Pseudomonas quorum sensing regulator RsaL belongs to the tetrahelical superclass of H-T-H proteins" Journal of Bacteriology, 2007, Vol. 189, No. 5, pp. 1922-1930
 - Massa C. et al. "Isolation, heterologous and characterization of an endo-polygalacturonase produced by the phytopathogen Burkholderia cepacia". Protein Expression and Purification 2007; 54(2): 300-308
 - Steindler L. et al. "Detection of quorum sensing N-acyl homoserine lactone signal molecules by bacterial biosensors" FEMS Microbiol. Lett. 266 (2007)
 - FFC Project#6/2006 **"Genome-wide identification of target genes for the design of non-conventional antibiotics against cystic fibrosis-related pathogens"**
Giovanni Bertoni (Dipart. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Univ. Milano), Alessandra Bragonzi (Istituto per il trattamento sperimentale della fibrosi cistica, Osp. S. Raffaele, Milano)
- Abstracts
- Milani A., et al. "Functional genomics of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* by interfering antisense RNA" 1st European CF Young Investigator Meeting, Lille, August 29-31 2007
 - Vecchietti D. et al. "Novel targets for antimicrobial molecules in *Pseudomonas aeruginosa*: identification and characterization of an essential membrane eukaryotic-like transglutaminase" Pediatric Pulmonology 47: 341. 2012 Cystic Fibrosis Conference
 - FFC Project#7/2006 **"Influence of *Pseudomonas aeruginosa* and CF host on *Burkholderia cenocepacia* pathogenicity"**
Annamaria Bevivino (Dipart. Biotecnologie Agroindustr. e protezione della salute - ENEA - Casaccia - Roma), Fiorentina Ascenzianni (Dipart. Biologia cellulare e dello sviluppo - Univ. La Sapienza Roma), Alessandra Bragonzi (Ist. per il Trattamento speriment. della FC - Osp. San Raffaele - Milano)
- Publications
- Pirone L. et al. "*Burkholderia cenocepacia* strains isolated from cystic fibrosis patients are apparently more invasive and more virulent than rhizosphere strains" Environmental Microbiology (2008) Oct;10(10):2773-84
- Abstracts
- Pirone L. et al. "Influence of *Pseudomonas aeruginosa* on the growth rate and internalization of *Burkholderia cenocepacia*" 9° Convegno Nazionale FISV, Riva del Garda (TN), 26- 29 Sett. 2007
 - Bevivino A. et al. "Influence of *Pseudomonas aeruginosa* on the growth rate and internalization of *Burkholderia cenocepacia*" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: S16
 - Pirone L. et al. "Influence of *Pseudomonas aeruginosa* on biofilm formation and internalization of *Burkholderia cenocepacia* strains" Florence conference on Phenotype MicroArray Analysis of Microorganism – The Environment, Agriculture and Human Health" Polo Scientifico di Sesto Fiorentino, Firenze, 19-21 marzo 2008
 - Paroni M. et al. "Pathogenicity of environmental *Burkholderia cenocepacia* strains" International Burkholderia cepacia Working group, Ca' Tron di Roncade, Treviso, Italy, 14-17 aprile 2008
 - Paroni M. et al. "Pathogenicity of environmental *Burkholderia cenocepacia* strains" Poster + Oral communication: 10° Convegno FISV – Federazione italiana scienze della vita, Riva del Garda (Trento), 24-27 settembre 2009
 - Pirone L. et al. "Dual-species biofilm formation and cell invasion of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia*" 10° Convegno FISV – Federazione italiana scienze della vita, Riva del Garda (Trento), 24-27 settembre 2009
 - FFC Project#8/2006 **"A genome-wide approach to the identification of novel targets for immuno-antibacterials in *Pseudomonas aeruginosa*"**
Alessandra Bragonzi (Istituto per il trattamento sperimentale della fibrosi cistica, Osp. S. Raffaele, Milano) Giovanni Bertoni (Dipart. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie - Univ. Milano), Maria Scarselli (Centro Ricerche Chiron - Unità Bioinformatica – Siena)
- Publications
- Vecchietti D. et al. "Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* cell envelope proteome by capture of surface-exposed proteins on activated magnetic nanoparticles" PlosOne 2012 Nov 7(11):e51062
- Abstracts
- Bragonzi A. et al. " *Pseudomonas aeruginosa* pathogenecity within clonal strains from patients with cystic fibrosis" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: S17
 - Leone M. et al. "Chemical and biological characterization of lipopolysaccharide and peptidoglycan of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a patient at different stages of cystic fibrosis" Pediatric pulmunology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 265.
 - Bragonzi A. et al. "Genetic adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* for the commitment to chronic lung infection" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 342
 - Bianconi I. et al. "Positive signature-tagged mutagenesis in *Pseudomonas aeruginosa*: tracking patho-adaptive mutations promoting airways chronic infection" PLoS Pathog. 2011 Feb 3;7(2):e1001270.
 - Alcalà-Franco B. et al. "Antibiotic pressure compensates the biological cost associated with *Pseudomonas aeruginosa* hypermutable phenotypes in vitro and in a murine model of chronic airways infection" J Antimicrob Chemother. 2012 Apr;67(4):962-9. Epub 2012 Feb 1.
 - Vecchietti D. et al. "Analysis of Cell Envelope Proteome of *Pseudomonas aeruginosa* by Capture of Surface-Exposed Proteins on Activated Magnetic Nanoparticles" Pediatric Pulmonology 47: 341. 2012 Cystic Fibrosis Conference
 - FFC Project#9/2006 **"Counteracting *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by inhibition of novel targets: regulation of the levels of the di-cyclic-GMP signal molecule"**
Paolo Landini (Università di Milano Dip.to Scienze Biomolecolari e Biotecnologie), Anna Bernardi (Università di Milano, Dip. Chimica Organica ed Industriale), Pierfausto Seneci (Università di Milano, Dip. Chimica Organica e Industriale)
- Publications
- Antoniani D. et al. "Monitoring of diguanylate cyclase activity and of cyclic-di-GMP biosynthesis by whole-cell assays suitable for high-throughput screening of biofilm inhibitors" Appl Microbiol Biotechnol, August 2009, DOI 10.1007/s00253-009-2199-x, ahead of print.
 - FFC Project#10/2006 **"The role of RND drug efflux transporters in the intrinsic antibiotic resistance of *Burkholderia cenocepacia*"**
Giovanna Riccardi (Università di Pavia Dip.to Genetica e Microbiologia), Miguel Valvano (Dept. of Microbiology and Immunology, University of Ontario, Canada)
- Publications
- Buroni S. et al. "Assessment of three Resistance-Nodulation-Cell Division drug efflux transporters of *Burkholderia cenocepacia* in intrinsic antibiotic resistance" BMC Microbiology 2009, 9:200, <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/200>
- Abstracts
- Buroni S. et al. "The role of RND drug efflux transporters in intrinsic antibiotic resistance of *Burkholderia cenocepacia*" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie micrerie, Spoleto, June 11-13, 2009
 - FFC Project#11/2006 **"A structure-function investigation of exopolysaccharides and lipopolysaccharides produced by clinical strains of the *Burkholderia cepacia* complex and of their interaction with antimicrobial peptides of the host innate immune system"**
Roberto Rizzo (Dipart. Biochimica, Biofisica e Chimica Macrocellulare - Univ. Trieste), Antonio Molinaro (Dipart. Chimica Organica e Biochimica - Univ. Napoli), Enrico Tonin (Dipart. Scienze Biomediche - Univ. Trieste)
- Publications
- Herasimenka Y. et al. "Exopolysaccharides produced by *Inquilinus limosus*, a new pathogen of cystic fibrosis patients: novel structures with usual components" Carbohydrate. Res. (2007); 342, 2404:2415
 - De Soyza A. et al. "Chemical and biological features of *Burkholderia cepacia* complex lipopolysaccharides" Innate Immunity (2008); 14(3): 127-144
 - Herasimenka Y. et al. "Macromolecular properties of cepacian in water and dimethylsulphoxide" Carbohydr. Res. 343 (2008) 81-89
 - Ieranò T. et al. "The structure and pro-inflammatory activity of the lipopolysaccharide from *Burkholderia multivorans* and the differences between clonal strains colonizing pre- and post-transplanted lungs" Glycobiology, 2008, 18: 871-881
 - Cescutti P. "Bacterial capsular polysaccharides and exopolysaccharides" in "Microbial Glycobiology Structures, Relevance and Applications"

- cation" Eds. Moran A. P., Brennan P. J., Holst O., and von Itzstein M., Elsevier, 2009, 93-108
- Foschiatti M. et al. "Inhibition of cathelicidin activity by bacterial exopolysaccharides" Molecular Microbiology 72, 2009, 1137-1146
 - Ieranò T. et al. "Structural and conformational behavior of the two lipopolysaccharide O-antigens produced by the cystic fibrosis pathogen *Burkholderia multivorans*" Chemistry European Journal, 2009, 15:7156-7166
 - Kuttel M. et al. "Conformational properties of two exopolysaccharides produced by *Inquilinus limosus*, a cystic fibrosis lung pathogen" Carbohydr Res. 2012 Mar 1;350:40-8.

Abstracts

- Furlanis L. et al. "Determinazione dell'unità ripetitiva del cepaciano traslocata nello spazio periplasmico da una flippasi codificata dal gene *bceQ*" 37° Congresso Nazionale di Microbiologia, Torino 11 - 14 Ottobre 2009
- Rizzo R. et al. "Aggregation properties of cepacian. A model for biofilm formation" 15th European Carbohydrate Symposium - Vienna Luglio 19 - 24, 2009
- Cescutti P. et al. "Identification of the gene involved in the transfer of cepacian repeating unit to the periplasmic space. Determination of the biological repeating unit of cepacian" 15th European Carbohydrate Symposium - Vienna Luglio 19 - 24, 2009
- Rizzo R. et al. "Aggregation properties of cepacian. A model for biofilm formation" 13th Annual Meeting of the International *Burkholderia cepacia* working group, 2009, April 23-26 University of Toronto - Canada
- Cescutti P. "Determination of the biological repeating unit of cepacian translocated to the periplasmic space by a flippase coded by the *bceq* gene" 13th Annual Meeting of the International *Burkholderia cepacia* working group, 2009, April 23-26 University of Toronto - Canada
- Molinaro A. "Analysis of endotoxin from *B. cepacia*" XI Convegno Scuola sulla Chimica dei Carboidrati, Pontignano (Siena, Italy), June 22-26, 2008
- Silipo A. "Structure and pro-inflammatory activity of endotoxin from the *Burkholderia cepacia* complex" International *Burkholderia Cepacia* Working Group, Ca' Tron di Roncade (TV - Italy) April 14-17, 2008
- T. Ierano, "Analysis of endotoxins from *B. cepacia* complex" European CF Young Investigator Meeting, Lille (France), August 27 - 29, 2008
- T. Ierano' "Analysis of endotoxins from *B. cepacia* complex" Summer Course Glycosciences-10th European Training Course on Carbohydrates - Wageningen (The Netherlands), June 9-12, 2008
- Rizzo R. et al. "Structure and Functions of Exopolysaccharides Produced by *Inquilinus limosus*: A Pathogen of Cystic Fibrosis Patients" International carbohydrate symposium, Oslo (Norway), 27 July - 1 August 2008
- Furlanis L. et al. "L'esopolisaccaride batterico come fattore di patogenicità nelle infezioni respiratorie da *Burkholderia cepacia*" 36° Congresso Società Italiana di Microbiologia, Roma (Italy) 12-15 ottobre 2008
- Cescutti P. et al. "Structure-function relationships in cepacian biofilm formation" 14th European Carbohydrate Symposium, Lubeck 3-7 September 2007
- Cescutti P. et al. "Structure-function relationships in cepacian biofilm formation" XVIII convegno dell'Associazione Italiana di Scienza e Tecnologia delle Macromolecole, Catania 16-20 September 2007
- Cescutti P. et al. "Exopolysaccharides as bacterial defence tools: the case of *Burkholderia cepacia* - Complex" XIV European Meeting on Carbohydrates, Lubeck, September 3-7, 2007

- FFC Project#14/2006 "Longitudinal study of *Pseudomonas aeruginosa* resistance: selection and evolution of resistance mechanisms in relation to antibiotic treatment in cystic fibrosis patients" Anna Silvia Neri (Dipart. Pediatria - Centro FC - Ospedale Meyer - Firenze), Gianmaria Rossolini (Dipart. Biologia Molecolare - Policlinico "Le Scotte" - Siena)

Abstracts

- Campana S. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* e metallo beta-lattamasi in pazienti affetti da fibrosi cistica: prevalenza e persistenza nel tempo" XII Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, Firenze 23-25 Nov. 2006
- Campana S. et al. "Persistence of metallo -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients" 30th European CF Conference, Belek, Turkey; 13-16 June 2007
- Pollini S. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* e metallo-β-lattamasi in pazienti con fibrosi cistica: prevalenza e persistenza" XXXVI Con-

gresso Nazionale - Associazione Microbiologi Clinici Italiani, Rimini; 2-5 Ottobre 2007.

- Mugnaioli C. et al. "Meccanismi di resistenza acquisita in *Pseudomonas Aeruginosa* da pazienti con fibrosi cistica cronicamente colonizzati" XXXVII AMCLI, 2008, Stresa (VB), 5-8 Ottobre; NACFC, 2008, Orlando (Florida, USA), 23-25 October
- Mugnaioli C. et al. "Evolution of acquired resistance mechanism in *Pseudomonas Aeruginosa* isolated from chronically-infected cystic fibrosis patients" XXXVII AMCLI, 2008, Stresa (VB), 5-8 Ottobre; NACFC, 2008, Orlando (Florida, USA), 23-25 October

- FFC Project#6/2007 "Dissecting a surface target candidate for the rational design of novel antibacterial drugs against *Pseudomonas aeruginosa*"

Francesco Bonomi (Dipartimento di Scienze Molecolari Agroalimentari, Università degli Studi di Milano), Giovanni Bertoni (Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli Studi di Milano)

Publications

- Milani A. et al. "Tgpa, a protein with a eukaryotic-like Transglutaminase domain, plays a critical role in the viability of *Pseudomonas aeruginosa*" PLoS One. 2012;7(11):e50323

Abstracts

- Milani A. et al. "Analysis of a novel membrane protein in the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*" Poster ed abstract: 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009.
- Milani A. et al. "Analysis of a novel membrane protein in the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*" Poster: 10^o Convegno FISV - Federazione italiana scienze della vita, Riva del Garda (Trento), 24-27 settembre 2009.
- Iametti S. et al. "A fluorescence-based assay for bacterial transglutaminase activity" Poster: VII European Symposium of the Protein Society, Zurich (Switzerland), June 14-18, 2009.

- FFC Project#7/2007 "Stenotrophomonas maltophilia, a multidrug resistant emergent pathogen associated to cystic fibrosis: a postgenomic approach to identify new immunological and therapeutical targets"

Bianca Colonna (Dipart. Biologia Cellulare e dello Sviluppo - Lab. Microbiologia Molecolare - Univ. La Sapienza - Roma), Maurizio Sanguinetti (Ist. Microbiologia - Univ. Sacro Cuore - Roma), Mauro Nicoletti (Dipart. Scienze Sanità Pubbli. - Sez. Microbiologia - Univ. La Sapienza - Roma), Mariassunta Casalino (Dipart. Microbiologia - Univ. Roma 3)

Publications

- Di Bonaventura G. et al. "Molecular characterization of virulence determinants of *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from patients affected by cystic fibrosis" Int. J. Immunopathol. Pharmacol., 2007, Vol. 20, n. 3, pp. 529-537.
- Roscetto E. et al. "PCR-based rapid genotyping of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates", BMC Microbiol, 2008, 8:202 doi:10.1186/1471-2180-8-202
- Rocco F. et al. "*Stenotrophomonas maltophilia* isolated from patients affected by cystic fibrosis: genotyping analysis and molecular characterisation of virulence determinants" Int. J. Med. Microbiol., 2009, Jun 30 (Ahead of print)
- Rocco F. et al. "*Stenotrophomonas maltophilia* genomes: a start-up comparison" Int. J. of Med Microbiol 299 (2009) 535-546
- Pompilio A. et al. "Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients" BMC Microbiology 2010, 10:102
- Di Bonaventura G. et al. "Role of Excessive Inflammatory Response to *Stenotrophomonas maltophilia* Lung Infection in DBA/2 Mice and Implications for Cystic Fibrosis" Infection and Immunity June 2010, Vol. 78, (6):2466-76
- Nicoletti M. et al. "*Stenotrophomonas maltophilia* strains from cystic fibrosis patients: genomic variability an molecular characterization of some virulence determinants" Int J of Med Microbiol 301 (2011):34-43
- De Carolis E. et al. "Analysis of heat-induced changes in protein expression of *Stenotrophomonas maltophilia* K279a reveals a role for GroEL in the host-temperature adaption" Int J Med Microbiol. 2011 Apr;301(4):273-81
- Pompilio A. et al. "Phenotypic and genotypic characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from patients with cystic fibrosis: genome diversity, biofilm formation, and virulence" BMC Microbiol. 2011 Jul 5;11:159.

Abstracts

- Di Bonaventura G. et al. "Effetto di concentrazioni subinibenti di

- moxifloxacina su *Stenotrophomonas maltophilia* isolati da fibrosi cistica" 34° Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Genova 15-18 ottobre 2006.
- Prosseda G. et al. "Virulence factors of *Stenotrophomonas maltophilia*, an emergent pathogen associated to cystic fibrosis" 9° Convegno Nazionale FISV, Riva del Garda (TN), 26- 29 Sett. 2007
 - Casalino M. et al. "Molecular characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from cystic fibrosis patients" 9° Convegno Nazionale FISV, Riva del Garda (TN), 26- 29 Sett. 2007
 - Di Bonaventura G. et al. "Interazione in vitro tra *Stenotrophomonas maltophilia* e cellule epiteliali bronchiali IB3-1: implicazioni in fibrosi cistica" 35° Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Catania 30 settembre – 3 ottobre 2007
 - Fiscarelli E. et al. "Stenotrophomonas maltophilia isolated from patients affected by cystic fibrosis: genotyping analysis and molecular characterisation of virulence determinants" 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, 19-22 April 2008
 - Di Bonaventura G. et al. "Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by Stenotrophomonas maltophilia: implications in cystic fibrosis" 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, 19-22 April 2008
 - Fiscarelli E. et al. "Caratterizzazione molecolare di ceppi di *Stenotrophomonas maltophilia* isolati da pazienti con fibrosi cistica" 36° Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Roma 12-15 ottobre 2008.
 - Di Bonaventura G. et al. "Caratterizzazione fenotipica e genotipica della formazione di biofilm da parte di *Stenotrophomonas maltophilia* isolati da pazienti con fibrosi cistica" 36° Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Roma 12-15 ottobre 2008.
 - Di Bonaventura G. et al. "Patogenesi microbica in fibrosi cistica: clearance di *Stenotrophomonas maltophilia* ed infiammazione in un modello murino di infezione polmonare" 36° Congresso nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Roma 12-15 ottobre 2008.
 - Michelacci V. et al. "Identification of genes expressed at the host temperature in *S. maltophilia*, an emergent pathogen in CF patients" 7th Louis Pasteur Conference on Infectious Disease, 11-13 Novembre 2008, Paris, France.
 - Cipresso R. et al. "Epidemiology of health care-associated *Stenotrophomonas maltophilia* infections in CF and ICU patients: role of biofilm formation. Clinical Microbiology and Infection" 2009; 15(s4):S401. Proceedings of the 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Helsinki, Finland.
 - Iacobino A. et al. "Analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* virulence factors" SIMGBM 11-13 giugno 2009, Spoleto.
 - Barchitta M. et al. "Ruolo epidemiologico del biofilm in isolati di *Stenotrophomonas maltophilia* da pazienti con fibrosi cistica e da pazienti ricoverati in unità di terapia intensiva" XI° Conferenza Nazionale di Sanità Pubblica, Napoli 2009
 - Iacobino A. et al. "Virulence factors of *Stenotrophomonas maltophilia*: an opportunistic pathogen" FISV2009 11th Annual Congress Riva del Garda, 23-25 Sept.2009.
 - Ciavardelli D. et al. "Alterazione dei livelli tessutali di ioni metallici in un modello murino di infezione polmonare da *Stenotrophomonas maltophilia*" XXXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Torino 11-14 Ottobre 2009.
 - Picciani C et al. "Analisi proteomica del biofilm formato da un ceppo di *Stenotrophomonas maltophilia* isolato da fibrosi cistica" XXXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Torino 11-14 Ottobre 2009.
 - Nicoletti M. et al. "Analisi genotipica e caratterizzazione molecolare di determinanti di virulenza espressi da ceppi di *Stenotrophomonas maltophilia* isolati da pazienti affetti da fibrosi cistica" XXXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Torino 11-14 Ottobre 2009.
 - De Carolis E. et al. "Caratterizzazione e analisi molecolare dell'espressione dell'operone groESL di *Stenotrophomonas maltophilia*" XXXVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Torino 11-14 Ottobre 2009.
- FFC Project#9/2007 "Burkholderia cepacia complex: closing down on the major virulence factors"
- Vittorio Venturi (ICGB Trieste)
- Publications
- Rampioni G. et al. "RsaL provides quorum sensing homeostasis and functions as a global regulator of gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*" Molec. Microbiol. (2007) 66 (6), 1557-1565
 - Licciardello G. et al. "Pseudomonas corrugata contains a conserved N-acyl homoserine lactone quorum sensing system; its role in to-
- mato pathogenicity and tobacco hypersensitivity response" FEMS Microbiol Ecol 61 (2007) 222-234.
- Steindler L. et al. "The presence, type and role of N-acyl homoserine lactone quorum sensing in fluorescent *Pseudomonas* originally isolated from rice rhizospheres are unpredictable" FEMS Microbiol. Lett. 288 (2008) 102-111.
 - Steindler L. et al. "LasI/R and RhI/R Quorum Sensing in a strain of *Pseudomonas aeruginosa* beneficial to plants" Appl. Environ. Microbiol., August 2009, p. 5131-5140.
 - Netoeta S. et al. "A simple model for the early events of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: modeling bacterial swarming as the movement of an "activation zone" Biology direct 2009, 4:6, <http://www.biology-direct.com/content/4/1/6>
- FFC Project#8/2007 "The structure and immunological activity of lipopolysaccharide and peptidoglycan of Ps aeruginosa before and after the onset of chronic infection"
- Antonio Molinari (Dip. di Chimica Organica e Bioch. - Univ. di Napoli Federico II, Complesso Universitario Monte Santangelo, Napoli), Maria Lina Bernardini (Dip. Biol. Cell. – Univ. La Sapienza, Roma)
- Publications
- Cigana C. et al. "Pseudomonas aeruginosa Exploits Lipid A and Muropeptides Modification as a Strategy to Lower Innate Immunity during Cystic Fibrosis Lung Infection" PLoS ONE, December 2009, Vol. 4, Issue 12, e8439
- FFC Project#10/2007 "Iron uptake and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* virulence"
- Paolo Visca (Dip. Biologia – Lab. Microbiologia Clinica e Virologia – Univ. Roma 3), Livia Leoni (Dip. Biologia – Lab. Microbiologia Molecolare e Biotecnologie dei Microorganismi – Univ. Roma 3)
- Publications
- Gaines J. M. et al. "Regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* toxA, regA and ptxR genes by the iron-starvation sigma factor PvdS under reduced levels of oxygen" Microbiology (2007) Vol 153: 4219-33
 - Tiburzi F. et al. "Intracellular levels and activity of PvdS, the major iron starvation sigma factor of *Pseudomonas aeruginosa*" Mol. Microbiol. (2008) Vol. 67: 213-227
 - Rampioni G. et al. "RsaL provides quorum sensing homeostasis and functions as a global regulator of gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*" Mol. Microbiol. (2007) Vol. 66: 1557-1565
 - Imperi F. et al. "Membrane-association determinants of the -amino acid monooxygenase PvdA, a pyoverdine biosynthetic enzyme from *Pseudomonas aeruginosa*" Microbiology, 2008 Sept., 154(Pt 9):2804-13
 - Tiburzi F. et al. "Is the host heme incorporated in microbial heme-proteins?" IUBMB Life, 61(1):80-83 January 2009
 - Imperi F. et al. "Analysis of the periplasmic proteome of *Pseudomonas aeruginosa*, a metabolically versatile opportunistic pathogen" Proteomics 2009, 9, 1901-1915
 - Imperi F. et al. "Transcriptional control of the pvdS iron starvation sigma factor gene by the masterregulator of sulphur metabolism CysB in *Pseudomonas aeruginosa*" Envir. Microbiol. (2010) Vol. 12(6): 1630-1642
 - Imperi F. et al. "Molecular basis of pyoverdine siderophore recycling in *Pseudomonas aeruginosa*" Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Dec 1;106(48):20440-5
- Abstracts
- Rampioni G. et al. "RsaL is a global regulator controlling quorum sensing homeostasis and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*" ASM Conference Pseudomonas 2007, Seattle, Washington, 26-30 August 2007, pp. 15-16.
 - Rampioni G. et al. "RsaL, a quorum sensing homeostatic effector controlling virulence and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*" 9° Convegno Nazionale FISV, Riva del Garda (TN), 26-29 Sett. 2007
 - Rampioni G. et al. "RsaL is a global regulator controlling quorum sensing homeostasis and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*" ASM Conference Cell-Cell Communication in Bacteria, Austin, Texas, 7-10 October 2007, p. 41
 - Tiburzi F. et al "A new regulator involved in the control of pyoverdine synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: the role of the LysR-type transcriptional regulator CysB" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009.
- FFC Project#6/2008 "Design of non-conventional antibiotics against cystic fibrosis-related pathogens"
- Giovanni Bertoni(Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli Studi di Milano), Stefano Maiorana (Dip. Chimica Organica e Industriale, Università degli Studi di Milano)

Degree thesis

- Luca Sorrentino "Disegno ed utilizzo di oligomeri antisenso nel batterio patogeno opportunista *Pseudomonas aeruginosa*" Università degli Studi di Milano – A.A. 2009-2010
- FFC Project#7/2008 "Burkholderia cenocepacia pathogenicity: synergistic interactions with *Pseudomonas aeruginosa* and adaptation to CF host"
Annamaria Bevvivino (ENEA C.R. Casaccia - Biotecn. Agroindustriale e Protezione della Salute), Fiorentina Ascenzioni (Dip. Biologia Cellulare e dello Sviluppo - Univ. La Sapienza)

Publications

- Bevvivino A. et al. "Interaction of environmental *Burkholderia cenocepacia* strains with cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchial epithelial cells *in vitro*" Microbiology. 2012 May;158(Pt 5):1325-33

Abstracts

- Pirone L. et al. "Interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia* strains in biofilm and in a mouse model of chronic infection" Eurobiofilms, Rome, 2-5 September 2009
- Paroni M. et al. "Interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia* strains in biofilm and in a mouse model of chronic infection" Poster + oral communication: XV Congresso Italiano della Fibrosi Cistica – V Congresso SIFC, 1-4 ottobre 2009, Soverato, Squillace, (CZ)
- Paroni M. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia* polymicrobial interactions in biofilm and murine model of chronic infection" XXVIII Convegno nazionale SIMGBM, Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, 11/13 Giugno 2009
- Paroni M. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia* polymicrobial interactions in biofilm and murine model of chronic infection" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Farulla I et al "Clinical and environmental *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia* strains: dual-species interactions in biofilm and in a mouse model of chronic infection" Environmental Microbiology Meeting (BMMA) 2010, 21-22 May, Bertinoro (FC), Italy
- Paroni M et al "*Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia* polymicrobial interactions in biofilm and in a murine model of chronic infection" Pseudomonas 2010, Pseudomonas in the Test Tube and in the Environment, 28-29 January 2010, Milan, Italy
- Bevvivino A. et al. "Environmental *Burkholderia cenocepacia* strains can disrupt epithelial integrity in bronchial epithelial cells *in vitro* and have a more profound effect on ZO-1 in CF cells" 35th European Cystic Fibrosis Conference (ECFS 2012), Dublin, June 6-9, 2012.

FFC Project#8/2008 "Development and validation of a novel screening system for the identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence inhibitor"

Livia Leoni (Lab. Microbiologia molecolare e Biotecnologie dei microrganismi, Dip. Biologia, Università "Roma 3"), Paolo Visca (Lab. Microbiologia clinica e Virologia, Dip. Biologia, Università "Roma Tre")

Publications

- Rampioni G. et al. "Contribution of the RsaL global regulator to *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation" FEMS Microbiol Lett 301 (2009): 210-217
- Imperi F et al "Molecular basis of pyoverdine siderophore recycling in *Pseudomonas aeruginosa*" Proc Natl Acad Sci U S A. 2009. 48:20440-5.
- Imperi F et al "Transcriptional control of the pvdS iron starvation sigma factor gene by the master regulator of sulfur metabolism CysB in *Pseudomonas aeruginosa*" Environ Microbiol. 2010. 6:1630-42.
- Massai F. et al "A multitask biosensor for micro-volumetric detection of N-3-oxo-dodecanoyl-homoserin lactone quorum sensing signal" Biosens Bioelectron. 2011 Apr 15;26(8):3444-9.

Abstracts

- Rampioni G. et al. "Role of the RsaL quorum sensing regulator in *Pseudomonas aeruginosa* pathogenic potential" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009
- Rampioni G. et al. "Role of the RsaL quorum sensing regulator in *Pseudomonas aeruginosa* pathogenic potential" Pseudomonas XII Conference, August 3-17 2009, Hannover, Germany
- Rampioni G. et al. "The RsaL quorum sensing regulator controls surface motility and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*" Eurobiofilms, Rome, 2-5 September 2009
- Longo F. et al. "Picking up *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulators" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia

generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009

- Massai F. et al. "Development and validation of screening systems for the identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence inhibitors" 28th National Meeting Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, June 11-13, 2009
- FFC Project#9/2008 "Longitudinal study of *Pseudomonas aeruginosa* resistance: selection and evolution of resistance mechanisms in relation to antibiotic treatment in cystic fibrosis patients" Anna Silvia Neri (Centro Reg. FC - Dip. Pediatria - Ospedale Meyer Firenze), Gian Maria Rossolini (Dip. Biologia Molecolare - Università di Siena, Policlinico S. Maria alle Scotte)

Abstracts

- Cocchi P. et al. "Molecular characterization of MRSA involved in persistent lung infections in cystic fibrosis patients: emergence of epidemic clones" J Cyst Fibros 2010; 9: S33
- Cocchi P. et al. "Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains responsible for the first infection in cystic fibrosis" J Cyst Fibros 2010; 9:S34

FFC Project#10/2008 "Essential proteins of *Pseudomonas aeruginosa* other membrane biogenesis as novel targets for new antimicrobial drugs design and synthesis"

Alessandra Polissi (Dipartimento Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca Milano), Gianni Dehò (Dipartimento Scienze Biomolecolari e Biotecnologie – Università di Milano), Cristina De Castro (Dipartimento di Chimica e Biochimica Organica – Università di Napoli "Federico II"), Martino Bolognesi (Dipartimento Scienze Biomolecolari e Biotecnologie – Università di Milano), Laura Cipolla (Dipartimento Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca Milano), Luca De Gioia (Dipartimento Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca Milano)

Publications

- Sommaruga S. et al. "Structure prediction and functional analysis of KdsD, an enzyme involved in lipopolysaccharide biosynthesis" Biochemical and Biophysical Research Communication, 388 (2009) 222-227
- Airolidi C. et al. "Targeting Bacterial Membranes: Identification of *Pseudomonas aeruginosa* d-Arabinose-5P Isomerase and NMR Characterisation of its Substrate Recognition and Binding Properties" ChemBioChem DOI: 10.1002/cbic.201000754

Abstracts

- Airolidi C. et al. "D-arabinose-5-phosphate isomerase: NMR characterisation of natural substrates recognition and binding requirements" Biotech.org - Chimica Organica e Biotecnologie: Sfide e Opportunità, May 20-23, 2009, Forte dei marmi (Lucca)
- Sommaruga S. et al. "3D structure by homology modeling of the *Escherichia coli* KdsD, an enzyme involved in lipopolysaccharide biosynthesis" FISV 2008 10th Annual Congress (Riva del Garda – TN, 24-27 Settembre 2008)
- Airolidi C. et al. "NMR as tool for the characterization of carbohydrate processing enzymes: the example of *E. coli* arabinose 5-phosphate isomerase (API)" XI Convegno-Scuola sulla Chimica dei Carboidrati, 22-26 Settembre 2008, Pontignano (Siena)
- Sommaruga S. et al. "Structural and biochemical characterization of KdsD, an enzyme involved in lipopolysaccharide biosynthesis" XXVIII Convegno nazionale SIMGBM, Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, 11/13 Giugno 2009
- Sperandeo P. et al. "Biogenesis of lipopolysaccharide, an immunomodulatory molecule of the outer membrane of Gram-negative bacteria" XXVIII Convegno nazionale SIMGBM, Società Italiana di Microbiologia generale e Biotecnologie microbiche, Spoleto, 11/13 Giugno 2009
- Polissi A. "Biogenesis of outer membrane of Gram-negative bacteria: new genes implicated in Lipopolysaccharide transport to the cell surface" Meeting on: Cellular Lipid Transport Processes and their Role in Human Disease, October 22-26, 2008 Canmore (Alberta, Canada)

FFC Project#10/2009 "Validation of novel vaccine candidates of *Pseudomonas aeruginosa*"

Alessandra Bragonzi (Unità di Infezione e fibrosi cistica - Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto San Raffaele - Milano), Giovanni Bertoni (Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli studi di Milano)

Abstracts

- Bianconi I. et al. "Genome sequence and functional comparative genomics of *P. aeruginosa* RP73: defining host-bacterial interactions in a persistent lifestyle" NACFC 2012, Orlando, Florida, USA

- FFC Project#11/2009 **“Community-acquired MRSA and hospital-acquired MRSA in cystic fibrosis patients: a multicentre study regarding antibiotic susceptibility, epidemiology, natural history and clinical relevance”**

Silvia Campana (Dipart. Pediatria – Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer – Firenze)

Abstracts

- Cocchi P et al “Molecular characterization of MRSA involved in persistent lung infections in cystic fibrosis patients: emergence of epidemic clones” XXXIII ECFS Conference, Valencia, Spain 2010
- Cocchi P et al “Diffusion of MRSA strains in the Italian CF population: a multicenter study” XXIV NACFC Conference Baltimore 2010
- Cocchi P. et al. “Genetic background of MRSA collected from cystic fibrosis (CF) patients versus MRSA collected from intensive care unit (ICU) patients: does any difference exist?” NACF 2012, Orlando, Florida, USA
- Galici V. et al. “Clinical impact of Methylcillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in cystic fibrosis patients: a longitudinal multi-center Italian study” NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
- FFC Project#12/2009 **“Novel strategies for respiratory infection therapy in CF. Use of natural and designed antibacterial peptides”**

Renato Gennaro (Dipart. Scienze della Vita, Università di Trieste), Giovanni Di Bonaventura (Dip. Scienze Biomediche – Univ. “G. D’Annunzio” Pescara), Ersilia Fiscarelli (Osp. Pediatrico “Bambini Gesù”, Roma)

Publications

- Pompilio A. et al. “Antibacterial and anti-biofilm effects of cathelicidin peptides against pathogens isolated from cystic fibrosis patients” Peptides. 2011 Sep;32(9):1807-14. Epub 2011 Aug 7.
- Pompilio A. et al. “Potential novel therapeutic strategies in cystic fibrosis: antimicrobial and anti-biofilm activity of natural and designed α -helical peptides against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Stenotrophomonas maltophilia*” BMC Microbiol. 2012 Jul 23;12:145

Abstracts

- Di Bonaventura G. et al. “Attività antibatterica ed anti-biofilm di bmap-27 e bmap-28 verso ceppi multiresistenti isolati da pazienti affetti da fibrosi cistica” VI Congresso Nazionale della Società Italiana per lo studio della Fibrosi Cistica; Rimini, 18-21 novembre 2010
- Di Bonaventura G. et al. “*In vitro* bactericidal and anti-biofilm activity of bovine myeloid antimicrobial peptides against multidrug-resistant bacteria from patients with cystic fibrosis” poster at 21 st ECCMID – 27th ICC, Milan, Italy 7-10 May 2011
- Pompilio A. et al. “Attività antibatterica ed anti-biofilm del peptide P19(9/B) verso isolati multi resistenti da pazienti affetti da fibrosi cistica” XXXIX Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, Riccione, 3-6 ottobre 2011
- FFC Project#13/2009 **“Prevention of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by inhibition of cyclic-di-GMP (c-di-GMP) metabolism”**

Paolo Landini (Dipartimento Scienze Biomolecolari e Biotecnologia - Università degli Studi di Milano), Pierfausto Seneci (Dipartimento Chimica organica e industriale - Università degli Studi di Milano), Anna Bernardi (Dipartimento Chimica organica e industriale - Università degli Studi di Milano), Francesca Cutruzzolà (Dipart. Scienze Biochimiche - Università “La Sapienza” Roma)

Publications

- Antoniani D. et al. “Discovery of novel inhibitors of bacterial biofilm formation targeting enzymes involved in the metabolism of the second messenger cyclicdi-GMP” 2010, Special Abstracts / Journal of Biotechnology 150S-S101 (Published Meeting Abstract).
- Stelitano V. et al. “Structure and function of representative HD-GYP proteins controlling biofilm formation” Manuscript in preparation
- Antoniani D. et al. “The immunosuppressive drug azathioprine inhibits biosynthesis of the bacterial signal molecule cyclic-di-GMP by interfering with intracellular nucleotide pool availability” Appl Microbiol Biotechnol. 2013 Aug; 97(16):7325-36
- Giardina G. et al. “Investigating the allosteric regulation of YfiN from *Pseudomonas aeruginosa*: clues from the structure of the catalytic domain” PLoS One. 2013 Nov 22;8(11):e81324

Abstracts

- Antoniani D. et al. “Inhibition of metabolism of the signal molecule cyclic-di-GMP affects biofilm formation in *Escherichia coli*”, Cortona, Procarioti 2010, 14-15 April 2010, Cortona (AR) (oral presentation)
- Antoniani D. et al. “Discovery of novel inhibitors of bacterial biofilm formation targeting enzymes involved in the metabolism of the second messenger cyclicdi- GMP” 14th International Biotechnol-

ogy Symposium and Exhibition, 14-18 September 2010, Rimini (oral presentation)

- Stelitano V. et al. “Characterization of proteins from *Pseudomonas aeruginosa* involved in c-di-GMP turnover” 36th FEBS Congress “Biochemistry for Tomorrow’s Medicine” Torino, 25-30 June 2011 (oral presentation)
- Stelitano V. et al. “In vitro characterization of the two HD-GYP phosphodiesterases from *Pseudomonas aeruginosa* involved in c-di-GMP-dependent biofilm formation” EMBO Meeting 2011, Vienna (Austria) 10-13 September 2011 (poster presentation)
- Stelitano V. et al. “In vitro characterization of the two HD-GYP phosphodiesterases from *Pseudomonas aeruginosa* involved in c-di-GMP-dependent biofilm formation” 29° SIMGBM meeting 20-23 September 2011, Pisa (poster presentation)
- Rinaldo S. et al. “Inhibition of bacterial biofilms: new molecular strategies targeting diguanylate cyclase” 29° SIMGBM meeting 20-23 September 2011, Pisa (poster presentation)

- FFC Project#14/2009 **“In vivo characterization of a novel branched antimicrobial peptide specific for Gram-negative bacteria. Efficacy in *P. aeruginosa* lung infection and pharmacological profile”**

Alessandro Pini (Dipart. di Biologia Molecolare, Sezione di Chimica Biologica, Università di Siena)

Publications

- Pini A. et al. “A novel tetrabranched antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock *in vivo*” The FASEB J. 2010 24:1015-22
- Pini A. et al. “Efficacy and toxicity of the antimicrobial peptide M33 produced with different counter-ions” Amino Acids. 2012 Jul;43(1):467-73

Abstracts

- Pini A. et al. “A novel tetrabranched antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock *in vivo*” Gordon Research Conference on Chemistry and Biology of Peptides February 28-March5 2010, Ventura, CA, USA
- Pini A. et al. “A novel tetrabranched antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock *in vivo*” 12th Naples Workshop on bioactive peptides-2nd Italy-Korea Symposium on antimicrobial peptides. 4-7 June 2010, Naples, Italy
- Pini A. et al. “A novel tetrabranched antimicrobial peptide that neutralizes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock *in vivo*” 31st European Peptide Symposium, 5-7 September 2010, Copenhagen, DK

- FFC Project#15/2009 **“The role of RND transporters in Burkholderia cenocepacia life by microarray analysis”**

Giovanna Riccardi (Dipart. Genetica e microbiologia – Università degli Studi di Pavia)

Publications

- Perrin E. et al. “Exploring the HME and HAE1 efflux systems in the genus Burkholderia” BMC Evolutionary Biol (2010), 10:164
- Coenye T. et al., “Molecular mechanisms of chlorhexidine tolerance in *Burkholderia cenocepacia* biofilms” Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 55: 1912-1919
- Bazzini S. et al. “Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*” PLoS One. 2011 Apr 19;6(4):e18902
- Pasca M. et al. “Evaluation of fluoroquinolone resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* MDR clinical isolates” Microbial Drug Resistance, 2012 Feb;18(1):23-32. Epub 2011 Jul 28
- Bazzini S. et al. “Molecular approaches to pathogenesis study of Burkholderia cenocepacia, an important cystic fibrosis opportunistic bacterium” Appl Microbiol Biotechnol. 2011 Dec;92(5):887-95. Epub 2011 Oct 14.

Abstracts

- Perrin E. et al., “Exploring the HME and HAE1 efflux systems in the genus Burkholderia” Cortona, Procarioti 2010, Cortona (AR), 14-15 Aprile 2010
- Perrin E. et al., “Evolution of the HME and HAE1 efflux systems in the genus Burkholderia” Convegno SIBE, Milano, 2-4 Settembre 2010
- Fani R. et al., “Genomic, transcriptomic, and phenomic analysis of Burkholderia cepacia mutants impaired in HAE efflux pumps” 2nd Florence Conference on Phenotype MicroArray Analysis of Microorganisms, Firenze, 13-15 Settembre 2010
- Pasca MR. et al., “Pompe di efflusso e farmacoresistenza di stipiti di *Pseudomonas aeruginosa* isolati presso la fondazione IRCCS S. Matteo di Pavia” XXXIX Congresso Nazionale AMCLI, Rimini, 20-22 Ottobre 2010
- Bazzini S. et al., “Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*” Convegno Congiunto DGM-CNR, Pavia, 22-23 Febbraio 2011

- Buroni S. et al., "The role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia* life" International Burkholderia cepacia Working Group-15th Annual Meeting, Praga (Repubblica Ceca), 13-16 Aprile 2011.
- Bazzini S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" I discepoli di Adriano Buzzati-Traverso: la Genetica Molecolare tra Università e CNR, Pavia, 24/5/2011.
- Buroni S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" FEMS 2011, 4th Congress of European Microbiologists, Geneva (Switzerland), 26-30 Giugno 2011.
- Bazzini S. et al., "New insight into *Burkholderia cenocepacia* RND efflux systems" SIMGBM 29th Annual Meeting, Pisa, 21-23 Settembre 2011.
- Perrin E. et al., "In silico analysis of RND superfamily in the *Burkholderia* genus" SIMGBM 29th Annual Meeting, Pisa, 21-23 Settembre 2011.
- Papaleo M.C. et al., "Analyzing the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*: a proteomic analysis" SIMGBM 29th Annual Meeting, Pisa, 21-23 Settembre 2011.
- Bazzini S. et al., "Two different approaches to fight *Burkholderia cenocepacia* infections" FISV 2012, 12th Congress, Università La Sapienza, Roma

- FFC Project#16/2009 **"In vitro and in vivo studies of novel antimicrobials targeting bacterial cytoskeleton and cell surface virulence markers in the treatment of *Burkholderia cepacia* complex infection"**
Alba Silipo (Dipartimento di Chimica Organica e Biochimica - Università degli Studi "Federico II" - Napoli), Anthony De Soyza (Dipartimento di Medicina Respiratoria, Freeman Hospital - Gruppo di Immunobiologia Applicata e Trapianti, Istituto di Medicina cellulare - The Medical School University of Newcastle)

Publications

- Nicholson A. et al. "In vitro activity of S-(3,4-dichlorobenzyl)isothiourea hydrochloride and novel structurally related compounds against multi-drug resistant bacteria including *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* complex" Int J Antimicrob Agents. 2012 Jan;39(1):27-32. Epub 2011 Oct 10.

Abstracts

- Carnell S. et al., "The bacterial cytoskeleton-A new antimicrobial target in cystic fibrosis pathogens?" In: Thorax: British Thoracic Society Winter Meeting. 2010, Westminster, UK: BMJ Group
- Carnell S. et al., "The bacterial cytoskeleton – a new antimicrobial target in cystic fibrosis pathogens?" International *Burkholderia cepacia* Working Group Annual Meeting, Prague, April 2011
- Carnell S. et al. "The bacterial cytoskeleton-complexities with a new antimicrobial target in cystic fibrosis pathogens"- British Association for Lung Research conference, Newcastle-upon-Tyne, July 2011

- FFC Project#9/2010 **"Pathogenicity of *Staphylococcus aureus* and its role in the progression of *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection"**

Daniela Maria Cirillo (Emerging Bacterial Pathogens Unit, Div. of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, Scientific Institute H. S. Raffaele, Milano), Alessandra Bragonzi (Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, H. S. Raffaele, Milano), Barbara Kahl (UniversitätsKlinikum Münster, Institute für Medizinische Mikrobiologie, Münster)

Publications

- Baldan R. et al. "Factors contributing to epidemic MRSA clones replacement in a hospital setting" PLoS One. 2012;7(8):e43153.
- Montuschi P. et al. "Letter to Editor- Nuclear Magnetic Resonance-based Metabolomics Discriminates Primary Ciliary Dyskinesia from Cystic Fibrosis" American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Vol 190 No 2
- Montuschi P. et al. "Nuclear magnetic resonance-based metabolomics discriminates primary ciliary dyskinesia from cystic fibrosis" Am J Respir Crit Care Med. 2014 Jul 15;190(2):229-33
- Baldan R. et al. "Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis airways influences virulence of *Staphylococcus aureus* in vitro and murine models of co-infection" PLoS One. 2014 Mar 6;9(3):e89614

- FFC Project#10/2010 **"Exploring thermostable quorum quenching lactonases to counteract bacterial infections in cystic fibrosis"**
Giuseppe Manco (Istituto di Biochimica delle Proteine CNR, Napoli); Davide Andrenacci (Istituto di Genetica e Biofisica CNR, Napoli)

Publications

- Porzio E. et al. "Mn²⁺ modulates the kinetic properties of an archaeal member of the PLL family" Chem Bio Int, submitted (2012)

- Mandrich L. et al. "Exploring thermostable quorum quenching lactonases to counteract bacterial infections in cystic fibrosis" in Science and Technology against microbial pathogens. Research, Development and Evaluation, pp. 150-154 (2011)

Abstracts

- Porzio E. et al., "Exploring thermostable quorum quenching lactonases as a tool to interfere with *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis" Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, 7-11 October 2011, Vico Equense, Italy
- Porzio E. et al. "Exploring paraoxonases/lactonases to counteract *Pseudomonas* infection" Fifth International Conference on Paraoxonases (5PON), July 15-18 2012, Columbus, Ohio, USA. (Poster) P56
- Porzio E. et al. "Quorum quenching activity of archaeal lactonases against *Pseudomonas aeruginosa* in a *Drosophila* infection mode" 2015 1 International Symposium on Quorum Sensing Inhibition. Santiago de Compostela, Spain

- FFC Project #13/2010 **"*Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide cell surface transport is a target process for developing new antimicrobials"**

Alessandra Polissi (Dip. Biotecnologie e Bioscienze, Università Milano-Bicocca), Martino Bolognesi (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano), Gianni Dehò (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano), Francesco Peri (Dip. Biotecnologie e Bioscienze, Università Milano-Bicocca), Cristina De Castro (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università di Napoli), Luca De Gioia (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano)

Publications

- Sperandeo P. et al. "Lipopolysaccharide export to the outer membrane" In "Bacterial Lipopolysaccharide: structure, chemical synthesis, biogenesis and interaction with host cells" Knirel Y.A. and Valvano M.A. Eds., Springer WienNewYork pp. 311-337
- Villa R. et al. "The Lpt transenvelope protein complex for lipopolysaccharide export is assembled via conserved structurally homologous domains" (submitted)
- Sperandeo P. et al. "The outer membrane of Gram-negative bacteria: lipopolysaccharide biogenesis and transport" In "Bacterial Membranes: Structural and Molecular Biology" Remaut H. and Fronzes R. Eds., Horizon Scientific Press (in press)

Abstracts

- Martorana A. et al. "New insights into the Lpt Machinery for Lipopolysaccharide tran sport to the cell surface: functional dissection of LptC protein" 12th FISV Congress, Rome, September 24-27, 2012

- FFC Project #14/2010 **"Non-conventional strategies against *Pseudomonas aeruginosa* infection: interference with iron homeostasis and quorum sensing"**

Paolo Visca (Dipart. Biologia, Università Roma Tre, Roma); Livia Leoni (Dipart. Biologia, Università Roma Tre, Roma)

Publications

- Bazzini S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" 2011. PLoS One. 6:e18902.
- Venturi V. et al., "The virtue of temperance: built-in negative regulators of quorum sensing in *Pseudomonas*" Mol Microbiol. 2011 Dec;82(5):1060-70
- Rampioni G. et al., "Functional characterization of the Quorum Sensing Regulator RsaL in the plant-beneficial strain *Pseudomonas putida* WCS358" Appl Environ Microbiol. 2012 Feb;78(3):726-34.
- Minandri F. et al., "Promises and failures of gallium as an antibacterial agent" Future Microbiology, 2014, 9(3), 379–397
- Bonchi C. et al. "Repurposing of gallium-based drugs for antibacterial therapy" Biofactors 2014 May-Jun;40(3):303-12.
- Frangipani E. et al. "Pyochelin Potentiates the Inhibitory Activity of Gallium on *Pseudomonas aeruginosa*" Antimicrob Agents Chemother. 2014 Sep;58(9):5572-5

Abstracts

- Buroni S. et al., "The role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia* life" International Burkholderia cepacia working group – 15th annual meeting. Praga, 13-16 Aprile 2011
- Longo F. et al., "Picking up novel *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulators" FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011
- Buroni S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*. FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011
- Imperi F. et al. "A new biosensor provides fast and cost-effective identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence inhibitors" FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011

- Bazzini S. et al. "New insight into Burkholderia cenocepacia RND efflux systems" SIMGBM 2011- 29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011
- Longo F. et al. "Picking up novel *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulators" SIMGBM 2011- 29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011
- Ramachandran Pillai C. et al., "Non conventional strategies against *Pseudomonas aeruginosa*: evaluation of efflux pumps inhibitors as anti-virulence drugs" SIMGBM 2011- 29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011

• FFC Project #10/2011 **"Pulmonary delivery of inhaled peptidomimetic as novel antibiotics to control *Pseudomonas aeruginosa* infection in murine models"**

Alessandra Bragonzi (Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, San Raffaele Scientific Institut, Milano), Daniel Obrecht (Polyphor Ltd, Switzerland)

Abstracts

- Bragonzi A. et al., "Evaluation Of Efficacy of POL7001 Against *Pseudomonas aeruginosa* in Lung Infection Models" 35th European Cystic Fibrosis Conference- 6-9 June 2012, Dublin
 - FFC Project #11/2011 **"Design, synthesis, in vitro biological evaluation and anti-biofilm activity of new beta-lactam and linezolid-like compounds as potential antibacterial agents against *Staphylococcus aureus* infections in cystic fibrosis patients"**
- Clementina Elvezia Cocuzza (Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università di Milano-Bicocca), Lisa Cariani (Fond. IRCCS Ca' Granda, Osp. Maggiore Policlin., Dip. Pediatria, Milano), Daria Giacomini (Dip. Chimica, Università di Bologna)

Publications

- Cervellati R. et al. "Monocyclic -lactams as antibacterial agents: facing antioxidant activity of N-methylthio-azetidinones" Eur J Med Chem. 2013 Feb;60:340-9. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.12.024. Epub 2012 Dec 20.
- Galletti P. et al. "Antibacterial agents and cystic fibrosis: synthesis and antimicrobial evaluation of a series of N-thiomethylazetidinones" ChemMedChem. 2011 Oct 4;6(10):1919-27. doi: 10.1002/cmdc.201100282. Epub 2011 Aug 10.
- Braschi I, Blasioli S, Fellet C, Lorenzini R, Garelli M, Giacomini D. "Persistence and degradation of new beta-lactam antibiotics in the soil and water environment" Chemosphere 2013; 93: 152-159
- Cervellati R, Galletti P, Greco E, Cocuzza C.E. et al. "Monocyclic betalactams as antibacterial agents: facing antioxidant activity of N-methyl-azetidones" European Journal of Medicinal Chemistry 2013; 60: 340-349

Abstracts

- Soldati R. et al. "Synthesis of new bioactive betalactam derivates (from dual activity compounds to integrin inhibitors through differentiating agents)" XXV Congresso Società Chimica Italiana
- FFC Project #12/2011 **"New drugs for *Burkholderia cepacia* from Antarctic bacteria"** Renato Fani (Dip. Biologia dell'Evoluzione, Università di Firenze); Maria Luisa Tutino (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università Federico II, Napoli); Paolo Rovero (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Firenze)

Publications

- Romoli R. et al. "Characterization of the volatile profile of Antarctic bacteria by using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry" J Mass Spectrom. 2011 Oct;46(10):1051-9.
- Papaleo MC. et al. "Sponge-associated microbial Antarctic communities exhibiting antimicrobial activity against *Burkholderia cepacia* complex bacteria" Biotechnol Adv. 2012 Jan-Feb;30(1):272-93. Epub 2011 Jun 29
- Fondi M. et al. "Draft Genome Sequence of the Volatile Organic Compound-Producing Antarctic Bacterium Arthrobacter sp. Strain TB23, Able To Inhibit Cystic Fibrosis Pathogens Belonging to the *Burkholderia cepacia* Complex" J Bacteriol. 2012 Nov;194(22):6334-5
- Papaleo MC. et al. "Bioactive volatile organic compounds from Antarctic (sponges) bacteria" N Biotechnol. 2013 Sep 25;30(6):824-38
- Romoli R. et al. "GC-MS volatolomic approach to study the antimicrobial activity of the antarctic bacterium *Pseudomonas* sp. TB41" Metabolomics, June 2013
- Fondi M. et al. "Draft genomes of three Antarctic Psychrobacter strains producing antimicrobial compounds against *Burkholderia cepacia* complex, opportunistic human pathogens" Mar Genomics. 2014 Feb;13:37-8. doi: 10.1016/j.margen.2013.12.009. Epub 2014 Jan 5.

Abstracts

- Papaleo MC. et al. "Volatile organic compounds (VOCs) from antarctic communities bacteria inhibiting cystic fibrosis pathogens" 12th FIVS Congress: 70, Roma 24-27 settembre, 2012
- Papaleo MC. et al. "Bioactive volatile organic compounds (VOCs) from antarctic sponges bacteria" EMB 2012, Bologna, Italy, April 10-12, 2012

• FFC Project #13/2011 **"Identification and characterization of novel drugs suppressing *Pseudomonas aeruginosa* virulence in chronic infection"**

Livia Leoni (Dip. Biologia, Università di Roma Tre, Lab. Microbiol. Molecolare e Biotec. Microrganismi), Francesco Imperi (Dip. Biologia e Biotecnologie, Università "La Sapienza", Roma)

Publications

- Venturi V. et al. "The virtue of temperance: built-in negative regulators of quorum sensing in *Pseudomonas*" Mol Microbiol. 2011 Dec;82(5):1060-70
- Stano P. et al. "Semi-synthetic minimal cells as a tool for biochemical ICT" BioSystems, Biosystems. 2012 Jul;109(1):24-34
- Imperi F. et al. "Repurposing the antimycotic drug flucytosine for suppression of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity" Proc Natl Acad Sci USA, 2013 Apr 8
- Imperi F. et al. "Pseudomonas aeruginosa pyoverdine" SciBX 6(15), April 8, 2013
- Frangipani E. et al. "The Gac/Rsm and cyclic -di-GMP signalling networks coordinately regulate iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*" Environ Microbiol. 2014 Mar;16(3):676-88
- Malvezzi Campeggi F. "Latest advances in drug repurposing for Cystic Fibrosis lung infections" Journal of Postdoctoral Research Vol 2:2
- Rampioni G. et al. "The art of antibacterial warfare: Deception through interference with quorum sensing-mediated communication" Bioorg Chem. 2014 Aug;55:60-8. doi: 10.1016/j.bioorg.2014.04.005. Epub 2014 Apr 21.

• FFC Project#14/2011 **"Development of new host-defence like peptides and lipopeptides against lung pathogens: in vitro and in vivo studies"**

Maria Luisa Mangoni (Dip. Scienze Biochimiche, Univ. "La Sapienza", Roma), Shai Yechiel (Dep. of Biological Chemistry, The Weizmann Institute of Science, Israel)

Publications

- Luca V. et al. "Esculentin(1-21), an amphibian skin membrane-active peptide with potent activity on both planktonic and biofilm cells of the bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa*" Cell Mol Life Sci. 2013 Aug;70(15):2773-86. doi: 10.1007/s00018-013-1291-7. Epub 2013 Mar 16.
- Tia Segev-Zarko et al. "A comparative study on the mechanism of biofilm inhibition and degradation by antimicrobial peptides" manuscript in preparation
- Di Grazia A. et al. "D-Amino acids incorporation in the frog skin-derived peptide esculentin-1a(1-21)NH₂ is beneficial for its multiple functions" Amino Acids. 2015 Jul 11. [Epub ahead of print]
- Segev-Zarko L. et al. "Mechanisms of biofilm inhibition and degradation by antimicrobial peptides" Biochem J. 2015 Jun 1;468(2): 259-70
- Mangoni ML. et al. "Fighting microbial infections: A lesson from amphibian skin-derived esculentin-1 peptides" Peptides. 2015 Sep;71:286-95

Abstracts

- Luca V. et al. "Antipseudomonal activity of the amphibian antimicrobial peptide Esculetin (1.21) and plausible mode of action" 2014 FISV-XIII Congress (Pisa, 24-27 September)

• FFC Project#16/2011 **"Achromobacter xylosoxidans an emerging pathogen in Cystic Fibrosis patients: from molecular characterization to development of innovative therapeutic strategies based on the antibacterial activities of *Bdellovibrio* predator bacteria"**

Serena Quattrucci (Dip. Pediatria e Neuropsichiatria Inf., Univ. "La Sapienza", Policlin. Umberto I, Centro fibrosi cistica, Roma), Maria Trancassini (Dip. Salute Pubblica e Malattie Infettive, Università "La Sapienza" Roma), Serena Schippa (Dip. Salute pubblica e Malattie Infettive, Univ. La Sapienza, Roma), Mauro Nicoletti (Dip. Scienze Biomediche, Università "G. D'Annunzio", Chieti)

Publications

- Ielba V. et al. "Bdellovibrio bacteriovorus directly attacks *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* Cystic fibrosis isolates" Front Microbiol. 2014 Jun 5;5:280. doi: 10.3389/fmicb.2014.00280. eCollection 2014.

- FFC Project#24/2011 **"Preclinical development of the antimicrobial peptide M33. Efficacy against *P. aeruginosa* lung infections and pharmacokinetics studies in animals"**

Alessandro Pini (Dipartimento di Biotecnologie, Università di Siena)
Publications

- Falciani C. et al. "Isomerization o fan Antimicrobial peptide broadens antimicrobial spectrum to Gram-Positive bacterial pathogens" *PLoS One.* 2012;7(10):e46259

- FFC Project#8/2012 **"Investigation of cystic fibrosis airway microbiome in patients showing a severe decline in lung function and not responding to conventional antimicrobial therapy"**

Annamaria Bevvivino (Unità per lo Sviluppo Sostenibile e Innovazione Sistema Agro-Industriale, ENEA, Roma), Alessio Mengoni (Dip. Biologia dell'Evoluzione, Università di Firenze), Giovanni Taccetti (Centro FC, Ospedale "A. Meyer", Firenze), Ersilia Fiscarelli (Laboratorio Microbiologia, Ospedale "Bambin Gesù", Roma), Graziana Manno (Dip. di Scienze Pediatriche, Università di Genova)

Publications

- Bevvivino A. et al. "The evolving polymicrobial composition in the airways of patients with cystic fibrosis: implications for disease progression and clinical management" www.currentmedicalliterature.com 2013 CML-Cystic fibrosis
- Paganin P. et al. "Changes in cystic fibrosis airway microbial community associated with a severe decline in lung function" *PLoS One.* 2015 Apr 21;10(4):e0124348

Abstracts

- Bevvivino A. et al. "Investigation of cystic fibrosis airway microbiome in patients showing a severe decline in lung function and not responding to conventional antimicrobial therapy" 36th European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Lisboa, 12-15 June, 2013
- Bevvivino A. et al. "Microbiota composition in the airways of cystic fibrosis with severe decline in lung infection" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
- Fiscarelli E, Paganin P, Tuccio V, Chiancianesi M, Taccetti G, Lucidi V, De Alessandri A, Mengoni A, Bevvivino A. "Airway microbiota in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function" 24th ECCMID 10-13 May, Barcelon, Spain

- FFC Project#10/2012 **"A very promising drug against *Burkholderia cenocepacia*"**

Giovanna Riccardi (Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)

Publications

- Udine C. et al. "Phenotypic and genotypic characterisation of *Burkholderia cenocepacia* J2315 mutants affected in homoserine lactone and diffusible signal factor-based quorum sensing systems suggests interplay between both types of systems" *PLoS One.* 2013;8(1):e55112
- Perrin E. et al. "A census of RND-superfamily proteins in the *Burkholderia* genus" *Future Microbiol.* 2013 Jul;8:923-37

- FFC Project#12/2012 **"Naturally occurring antimicrobials to counteract lung infections in cystic fibrosis patients: Cecropin A-Melittin (CA-M) hybrid peptides and polymixins"**

Alba Silipo (Dip. Scienze Chimiche, Università "Federico II", Napoli), Giovanni Di Bonaventura (Dip. Scienze Biomediche, Università Chieti-Pescara)

Publications

- Di Lorenzo F. et al. "Persistent cystic fibrosis isolate *Pseudomonas aeruginosa* strain RP73 exhibits an under-acylated LPS structure responsible of its low inflammatory activity" *Mol Immunol.* 2014 May 21. pii: S0161-5890(14)00084-4. doi: 10.1016/j.molimm.2014.04.004. [Epub ahead of print]
- Kukavica-Ibrulj I. et al. "Assessing *Pseudomonas aeruginosa* Virulence and the Host Response Using Murine Models of Acute and Chronic Lung Infection" *Methods Mol Biol.* 2014;1149:757-71. doi: 10.1007/978-1-4939-0473-0_58.

Abstracts

- Vitiello G. et al. "Investigation of liposome-based membranes formed by lipopolysaccharides and their interaction with hybrid antimicrobial peptides" Poster Communication. XXIV Congresso della Società Italiana di Spettroscopia Neutronica (SISN), Milano 11-12 Settembre 2013.
- Silipo A. "STD NMR as a tool for studying protein-ligand interactions", PhD Lecture in Gliwice, Department of Organic Chemistry, Bioorganic Chemistry and Biotechnology, Faculty of Chemistry, Silesian University of Technology, Gliwice, Poland <http://www.chemia-bioorganiczna.polsl.pl/default.htm>
- Molinaro A. "Structural Glycoscience", 4-6 Nov 2013, Grenoble, France, COST Training School nell'ambito della COST Action BM1003. <http://www.cost-bm1003.info/>

ble, France, COST Training School nell'ambito della COST Action BM1003. <http://www.cost-bm1003.info/>

- FFC Project#13/2012 **"Role of high affinity zinc transporters in *Pseudomonas aeruginosa* ability to colonize the inflamed cystic fibrosis lung"**

Andrea Battistoni (Dip. Biologia, Università Tor Vergata, Roma)

Publications

- D'Orazio M. et al. "Pseudomonas aeruginosa capability to colonize the CF lung may be favored by its remarkable ability to recruit zinc under conditions of limited metal availability" *Journal of Cystic Fibrosis Suppl Goteborg* 13, S3
- D'Orazio M. et al. "The capability of *Pseudomonas aeruginosa* to recruit zinc under conditions of limited metal availability is affected by inactivation of the ZnuABC transporter" *Metalomics.* 2015 Jun;7(6):1023-35

Abstracts

- D'Orazio M. et al. "Pseudomonas aeruginosa capability to colonize the CF lung may be favored by its remarkable ability to recruit zinc under conditions of limited metal availability" Poster presented at the ECFS 2014 Meeting, Goteborg
- D'Orazio M. et al. "Involvement of Enzymes of the Protein Disulphide Isomerase Family in the Interaction of *Burkholderia cenocepacia* with Epithelial Cells" ECFS Basic Science Conference, Malaga 2013

- FFC Project#17/2012 **"The role of vascular endothelium in cystic fibrosis inflammation"**

Mario Romano (Dip. Scienze Biomediche, Università Chieti-Pescara, Lab. Medicina Molecolare), Licia Totani (Dip. Farmacologia Traslazionale, Consorzio "Mario Negri" Sud, Chieti), Marco Marchisio (Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Università Chieti-Pescara), Paolo Moretti (Centro FC, Teramo)

Publications

- Pierdomenico AM et al. "MicroRNA-181b regulates ALX/FPR2 receptor expression" *J Biol Chem.* 2015 Feb 6;290(6):3592-600
- FFC Project#8/2013 **"Exploring pyrazinamide derivatives as novel *Pseudomonas aeruginosa* inhibitors: unexploited antibacterial molecules for a new antibiotics target"**

Federica Briani (Dip. di Bioscienze-Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Bergamini G. et al. "Azitromycin effect on lung inflammation induced by *Pseudomonas aeruginosa* released proteases as shown by in vivo imaging in IL-8 transiently transgenized mice" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014

- FFC Project#10/2013 **"Anti-virulence therapy against *Pseudomonas aeruginosa*: identification of antibiotic drugs and development of inhalable Niclosamide and Flucytosine formulations"**

Livia Leoni (Dip. di Scienze, Università "Roma Tre"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II), Francesco Imperi (Dip. di Biologia e Biotecnologia, Università "La Sapienza", Roma), Ersilia Fiscarelli (Ospedale e Ist. di ricerca "Bambin Gesù", Lab. Microbiologico fibrosi cistica, Roma)

Publications

- D'Angelo I. et al. "Improving the efficacy of inhaled drugs in cystic fibrosis: challenges and emerging drug delivery strategies" *Adv Drug Deliv Rev* 2014; 30: 92-111
- Imperi F. et al. "Antivirulence activity of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa*" *Frontiers in Microbiology* 2014;5: 178
- Llamas MA. Et al. "Cell-surface signaling in *Pseudomonas*: stress response, iron transport and pathogenicity" *FEMS Microbiol Rev* 2014; 38:569-97

Abstracts

- Costabile G. et al. "Repositioning niclosamide for anti-virulence therapy against *P. aeruginosa* lung infections: development of nano-suspensions for inhalation" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Visaggio D. et al. "Exopolysaccharide-mediated aggregation promotes pyoverdine-dependent iron uptake and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project#11/2013 **"Inhalable dry powders for chemically-modified human Cationic AntiMicrobial Peptides (CAMPs): moving toward in vivo application"**

Eugenio Notomista (Dip. Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II)

Publications

- D'Angelo I. et al. "Improving the efficacy of inhaled drugs in cystic fibrosis: Challenges and emerging drug delivery strategies" *Adv Drug Deliv Rev* 2014 Aug 30;75C:92-111

Abstracts

- D'Angelo I. et al. "Nano-Embedded Microparticles for Lung Delivery of Antimicrobial Peptides against *P. Aeruginosa* Infections: Overcoming Lung Barriers" In: 2nd International Conference on Nanotechnology in Medicine, University College London, Royal Free Hospital Campus, United Kingdom 26-28 February 2014. Selected as oral presentation
- D'Angelo I. et al. "Inhalable dry powders for local administration of antimicrobial peptides against *P. aeruginosa*: overcoming lung barriers" International Conference and Workshop on Biological Barriers, 16-21 February, 2014, Saarland University, Germany
- FFC Project#12/2013 **"Preclinical development of the antimicrobial peptide M33 and onset of regulatory procedures for clinical trials"** Alessandro Pini (Dip. di Biotecnologie Mediche, Università di Siena)

Publications

- Brunetti J. et al. "A Novel Phage-Library-Selected Peptide Inhibits Human TNF- α Binding to Its Receptors" *Molecules* 2014; 19:7255-7268
- FalcianiC. et al. "Site-specific pegylation of an antimicrobial peptide increases resistance to *Pseudomonas aeruginosa* elastase" *Amino-Acids* 2014; 45(5):1403-1407
- Roscia G. et al. "In vitro and in vivo characterization of a novel synthetic antimicrobial peptide for lung infections and sepsis" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

Abstracts

- Brunetti J. et al. "A novel synthetic antimicrobial peptide. A new weapon for multidrug resistant bacteria?" 14th Naples Workshop on Bioactive Peptides, June 12-14, 2014
- FFC Project#10/2014 **"Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiomebased therapy"** Bevivino Annamaria (Technical Unit for Sustainable Development and Innovation of Agro-Indsutrial System, ENEA Casaccia Research Center, Lab. Microbiology, Rome), Alessio Mengoni (Dip. Biologia, Università di Firenze), Giovanni Taccetti (Dip. di pediatria, Centro FC, Ospedale "A. Meyer", Firenze), Ersilia Vita Fiscarelli (Labora-

torio Microbiologia, Ospedale "Bambin Gesù", Roma), Alessandra De Alessandri (Dip. di Scienze Pediatriche, Centro FC, Università di Genova, Istituto "G. Gaslini")

Abstracts

- Bacci G. et al. "Exploring the airway microbiome of cystic fibrosis patients: an opportunity for a personalized microbiome-based therapy" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Bevivino A. "Taxonomic and functional analysis of the airway samples from cystic fibrosis patients with lower and higher pulmonary function decline", 3 World Congres on Targeting Microbiota, October 21-23, 2015 Institute Pasteur, Paris
- Bacci G. et al. "Taxonomic signatures of CF airway microbiota distinguish between patients with lower and higher pulmonary function decline", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015

- FFC Project#11/2014 **"Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung infections"** Maria Luisa Mangoni (Dip. di Scienze Biochimiche, Università "La Sapienza", Roma)

Abstracts

- Luca V. et al. "Anti-Pseudomonal activity of the amphibian antimicrobial peptide Esculentin (1-21) and plausible mode of action", FISV 2014-XIII Congress (Pisa, 24-27 September)
- FFC Project#12/2014 **"Inhalable dry powders for chemically-modified human Cationic AntiMicrobial Peptides (CAMPs): moving toward in vivo application"** Eugenio Notomista (Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli "Federico II")

Publications

- d'Angelo I. et al. "Overcoming barriers in *Pseudomonas aeruginosa* lung infections: Engineered nanoparticles for local delivery of a cationic antimicrobial peptide" *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015 Aug 22;135:717-725

Abstracts

- Avitabile A. e al. "The activation peptide of human pepsinogen is an antimicrobial peptide" IMAP Meeting 2015
- Pane K. et al. "Development of new carrier protein for AMPs production" IMAP Meeting 2015

4. INFLAMMATION

Infiammazione

- Progetti FFC#3/2002, FFC#10/2005 e FFC#17/2006 **"Roles of azithromycin other than bactericidal: relevance for therapy of cystic fibrosis"**

Paola Melotti (Lab. Patologia Molecolare – Centro FC – Ospedale Civile Maggiore – Verona)

Publications

- Cigana C. et al. "Azithromycin selectively reduces tumour necrosis factor alpha levels in Cystic Fibrosis airway epithelial cells" *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Mar. 2007, vol. 51, No. 3, p. 975-981
- Cigana C. et al. "Anti-inflammatory effects of azithromycin in cystic fibrosis airway epithelial cells" *Elsevier, Biochemical and Biophysical Research Communications* 350 (2006) 977-982
- Nicolis E. et al. "The GCC repeat length in the 5'UTR of MRP1 gene is polymorphic: a functional characterization of its relevance for cystic fibrosis" *BMC Med Genet.* 2006 Feb 7;7:7.
- Cigana C. et al. "Effects of Azithromycin on the Expression of ATP Binding Cassette Transporters in Epithelial Cells from the Airways of Cystic Fibrosis Patients" *J. of Chemotherapy* (2007) 19; 643:649
- Bergamini G. et al. "Effects of Azithromycin (AZM) on Glutathione-S-Transferases (GST)s in cystic fibrosis airways cells" *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009 Aug;41(2):199-206

Abstracts

- Cigana C. et al. "Azithromycin reduces tumour necrosis factor alpha expression in CF airway epithelial cells" The 20th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Denver, Colorado, Nov. 2-5, 2006
- Bergamini G. et al. "Azithromycin (AZM) decreases Glutathione-S-

Transferase (GST)-T1 expression and activity in CF airway epithelial cells" 30th European Cystic Fibrosis Conference, Belek, Turkey, 13-16 June 2007

- Cigana C. et al. "Possible mechanisms of action of azithromycin in cystic fibrosis" 15th ERS Annual Congress. Copenhagen, Denmark – September 17-21 2005.
- Cigana C. et al. "Anti-inflammatory effects of azithromycin in cystic fibrosis airway epithelial cells" 16th European Congress of Immunology. Paris, 6-9 September 2006.
- Cigana C. et al. "Reduction of tumour necrosis factor alpha (TNF α) expression by azithromycin (AZM) in CF airway epithelial cells" *Journal of Cystic Fibrosis*, 29th European Cystic Fibrosis Conference. Copenhagen, 15-18 June 2006.
- Nicolis E. et al. "Analisi della ripetizione GCC nel promotore del gene Multidrug Resistance-Associated Protein 1 (MRP1) in pazienti con Fibrosi Cistica (FC) 6° Congresso Nazionale S.I.G.U. Società Italiana di Genetica Umana – Verona 24-27 settembre 2003;
- Cigana C. et al. "Differential expression of the multidrug resistance-associated protein 1 in isogenic CF and non-CF human bronchial epithelial cells" *Journal of Cystic Fibrosis* 3 (2004) S4-S9 27th European CF Conference. Birmingham, UK 12-17 June 2004
- Pasetto M. et al. "Inhibitory effects of azithromycin on interleukin 8 expression by CF airway epithelial cells" *Journal of Cystic Fibrosis* 3 (2004) S20-S25 27th European CF Conference. Birmingham, UK 12-17 June 2004
- Pasetto M. et al. "Inhibitory effects of azithromycin on interleukin 8 production by Cystic Fibrosis airway epithelial cells" *Paediatric Pulmonology* – The 18th annual North American CF Conference –

- America's Center, St. Louis, Missouri, October 14-17, 2004;
- Cigana C. et al. "ATP binding cassette proteins: differential expression in isogenic cystic fibrosis and non-cystic fibrosis human bronchial epithelial cell lines" 7° Congresso Nazionale S.I.G.U. – Pisa 13-15 Ottobre 2004;
 - Nicolis E. et al. "Is the GCC repeat polymorphic length in the Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1) gene relevant for regulating transcriptional activity constitutively and in response to azithromycin (AZM)?" 28th European CF Conference – Crete, Greece: 22-25 June 2005;
 - Cigana C. et al. "Azithromycin (AZM) inhibits Nuclear Factor- κ B (NF- κ B) activity and expression of interleukin 8 (IL8) in CF airway epithelial cells" Journal of Cystic Fibrosis 4 (2005) S26-S33; 28th European CF Conference – Crete, Greece: 22-25 June 2005;
 - Cigana C. et al. "Effects of macrolides on interleukin 8 expression in cystic fibrosis airway epithelial cells" 4th National Conference SIICA; Brescia – June 8-11 2005;
 - Cigana C. et al. "Regulation of pro-inflammatory transcription factors by azithromycin in Cystic Fibrosis airway epithelial cells" 2005 North American Cystic Fibrosis Conference – Baltimore, Maryland October 20-23 2005;
 - Nicolis E. et al. "Meccanismi non antibiotici dell'Azitromicina: rilevanza per la terapia della fibrosi cistica" X Congresso Nazionale di Fibrosi Cistica – Palermo, 27-30 ottobre 2004
 - Cigana C. et al. "Possible mechanisms of action of Azithromycin in cystic fibrosis" ERSNET, 2005
 - Melotti P. "Detection of bacterial secretion variations among *Pseudomonas aeruginosa* strains by multidimensional protein identification technology" Rediscovering Biomarkers, San Diego, July 23-24 2007
 - Bergamini G. et al. "Azithromycin (AZM) decreases Glutathione-S-Transferase (GST)-T1 and M1 (GSTM1) expression and activity in CF airway epithelial cells" North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim, California, 3-6 Oct. 2007
 - Cigana C. et al. "Relevance of oxygen limitation on *Pseudomonas aeruginosa* strains: effects on released proteins expression" North American Cystic Fibrosis Conference, Anaheim, California, 3-6 Oct. 2007
 - Cigana C. et al. "Mudpit analysis of *Pseudomonas aeruginosa* secretome: consequences of oxygen limitation in clinical and laboratory strains" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: S16
 - Cigana C. et al. "Proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* (PA) referent and clinical strains under microaerobiosis and their effects on cystic fibrosis airways" 31st European CF Conference, Prague, June 11-14, 2008
 - Melotti P. et al. "Effects of Azithromycin on regulation of metalloproteases released by *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) clinical strains" NACFC 2012, Orlando, Florida, USA
 - Melotti P. et al. "Molecular imaging of the anti-inflammatory effects of azithromycin in the lung" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA

• FFC Project# 7/2003 **"Proteomics of the airway surface liquid: implications for cystic fibrosis"**

Olga Zegarra Moran (Lab. Gen. Molec. – Ist. Gaslini – Genova), Giovanni Candiano (Lab. Nefrologia – Ist. "G. Gaslini" – Genova), Luca Bini (Dipart. Biologia Molecolare – Univ. Siena)

Publications

- Candiano G. et al. "Gelsolin secretion in interleukin 4 treated bronchial epithelia and in asthmatic airways" Am J Respir Crit Care Med. 2005; Vol 172 pp 1-7
- Candiano G. et al. "Proteomic analysis of the airway surface liquid: modulation by proinflammatory cytokines" Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2007 Jan;292(1):L185-98

Abstracts

- Zegarra-Moran O. et al., Proteomic analysis of the periciliary fluid in cultured human bronchial epithelial cells. Pediatr. Pulm. S25:182. Presented at the 17th Annual North American Cystic Fibrosis Conference. 2003 (Anaheim, U.S.A.)
- Zegarra-Moran O. et al., Increased gelsolin secretion in interleukin-4 treated bronchial epithelial cells and in asthmatic patient airways. Pediatr. Pulm. S27:146. 18th Annual North American Cystic Fibrosis Conference. 2004 (St. Louis, U.S.A.)
- Zegarra-Moran O., "Identification of components of innate defense in the airway surface fluid". ECFS Conference New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis (Tavira, Portugal), 15-19 April, 2009.
- FFC Project# 14/2004 **"Interaction in vitro between CF pathogens and epithelial cells expressing the CF transmembrane conductance regulator (CFTR)"**

Maria Cristina Dechechchi (Lab. Patologia Molecolare – Centro FC – Ospedale Civile Maggiore – Verona)

Publications

- Dechechchi M. C. et al. "MPB-07 reduces the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic fibrosis bronchial cells" Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. May 2007, Vol. 36 PP. 615-624

Abstracts

- Dechechchi M. C. et al. "Uso di correttori del difetto di maturazione di CFTR come strategia per controllare la risposta infiammatoria all'infezione da *P. aeruginosa* in cellule epiteliali respiratorie" XII Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, Montepaone (CZ), 29-31 maggio 2006
- Dechechchi M.C. et al. "Defective CFTR enhances PAO1-stimulated inflammatory response in epithelial cells" 2005 ECFS Conference – New frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis – 14-17 April, Portugal;
- Dechechchi M.C. et al. "Increased *Pseudomonas aeruginosa* induced inflammatory response in epithelial cells expressing mutated CFTR" Journal of Cystic Fibrosis 4 (2005) S17-S25; 28th European CF Conference, Heronissos, Crete, Greece; 22-25 June 2005
- Dechechchi M.C. et al. "The inflammatory response of CF airway cells to *Pseudomonas aeruginosa* is reduced by benzoquinolizinium compound MPB-07" Congresso NAFC 2006;

• FFC Project# 15/2004 **"Novel diagnostic and therapeutic approaches for CF"**

Roberto Gambari (Dipart. di Biochimica e Biologia Molecolare – Università di Ferrara)

Publications

- Bezzerrini V. et al. "Transcription factor oligodeoxynucleotides to NF- κ B Inhibit Transcription of IL-8 in Bronchial Cells" Am J Respir Cell Mol Biol. 2008 Jul;39(1):86-96
- Borgatti M. et al. "Induction of IL-6 gene expression in a CF bronchial epithelial cell line by *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on transcription factors belonging to the Sp1 superfamily" BBRC 357 (2007) pp. 977-983.
- Piccagli L. et al. "Doking of molecules identified in bioactive medicinal plants extract into the p50 NF-kappaB transcription factor: correlation with inhibition of NF-kappaB/DNA interactions and inhibitory effects on IL-8 gene expression" BMC Structural Biology, 2008 Sep 3:8:38

Abstracts

- Bezzerrini V. Et al. "Selective modulation of *P. Aeruginosa* dependent induction of interleukin-8 by transcription factor decoy oligonucleotides in CF bronchial epithelial cells" XX North American CF Conference, Denver 2-4 Nov. 2006
- FFC Project# 16/2004 **"Nasal polyps of Cystic Fibrosis patients as an ex vivo model to study inflammation and its modulation via the inhibition of the p-38 MAP-kinase pathway: implications for therapy"**

Valeria Raia (Dipart. Pediatria – Univ. Federico II Napoli), Giuseppe Castaldo (CEINGE – Biotec. Avanzate s.c.a.r.l. – Univ. Federico II Napoli)

Publications

- Raia V. et al. "Inhibition of p38 mitogen activated protein kinase controls airway inflammation in cystic fibrosis" Torax 2005; 60: 773-780;
- FFC Project# 11/2005 **"Chronic oxidative lung injury during cystic fibrosis – protective roles of gamma-glutamyltransferase and ascorbic acid"**

Alfonso Pompella (Dipart. Patologia Sperimentale, Biotec. Mediche, Infettivologia ed Epidemiologia – Univ. Pisa)

Publications

- Corti A. et al. "Vitamin C supply to bronchial epithelial cells linked to glutathione availability in elf-A role for secreted γ -glutamyltransferase?" Journal of Cystic Fibrosis, 7 (2008) pp. 174-178.
- FFC Project# 15/2006 **"Contribution of alterations in metal and glutathione homeostasis to the bacterial infections typical of Cystic Fibrosis and examination of the possible protective role of lactoferrin and antioxidants"**

Andrea Battistoni (Dipart. Biologia – Univ. Tor Vergata – Roma)

Publications

- Berluttini F. et al. "Bovine lactoferrin inhibits the efficiency of invasion of respiratory A549 cells of different iron-regulated morphological forms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia*" Int J Immunopathol Pharmacol., 2008 Jan-Mar;21(1):51-9

- FFC Project# 16/2006 **"Effect of correctors of defective CFTR on the *Pseudomonas aeruginosa*-dependent inflammatory response in respiratory epithelial cells"**

Maria Cristina Dechechchi (Lab. Patologia Molecolare – Centro FC – Ospedale Civile Maggiore – Verona), Frederic Becq (Inst. De Physiologie et Biologie Cellulaires – Poitiers (France), Roberto Gambari (Dipart. di Biochimica e Biologia Molecolare – Università di Ferrara)

Publications

- Dechechchi M. C. et al. "Anti-inflammatory effect of miglustat in bronchial epithelial cells" *Journal of Cystic Fibrosis*, 7 (2008) pp. 555-565.

Abstracts

- Dechechchi M. C. et al. "Miglustat and DGJ reduce the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa*, TNF-alpha and IL-1beta in bronchial epithelial cells" NACFC, 2007, Anaheim, California
- Dechechchi M. C. et al. "Correctors of F508del CFTR reduce the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in CF respiratory epithelial cells" ECFS Conference 2007, Tavira, Algarve (Portugal), April 25-29
- Dechechchi M. C. et al. "Miglustat, an inhibitor of the synthesis of glycosphingolipids, has an anti-inflammatory signal *in vitro* and *in vivo*" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, pp. 257-258.
- Dechechchi M. C. et al. "Uso di correttori del difetto di maturazione di CFTR come strategia per controllare la risposta infiammatoria all'infezione da *P. aeruginosa* in cellule epiteliali respiratorie" XII Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, 2006, Firenze, November 23-25.
- Dechechchi M. C. et al. "Anti-inflammatory effect of miglustat in bronchial cells" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: p. S18
- Nicolis E. et al. "Inhibition of pro-inflammatory genes in CF bronchial epithelial cells by medicinal plant extracts" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: p. S18
- Dechechchi M. C. et al. "Anti-inflammatory effect *in vitro* and *in vivo* of miglustat, an inhibitor of the synthesis of glycosphingolipids" XIV Congresso italiano della fibrosi cistica – IV Congresso nazionale Sifc, Torino, 27-29 novembre 2008

- FFC Project#5/2007 **"Novel particulate systems for the delivery of an oligonucleotide decoy to Nuclear Factor-kB: a potential strategy for treating cystic fibrosis"**

abiana Quaglia (Dipart. Chimica Tossicologica e Farmaceutica – Univ. Federico II Napoli), Rosa Carnuccio (Dip.to di Farmacologia Sperimentale, Università di Napoli Federico II)

Publications

- Ungaro F. et al. "Engineering gas-foamed large porous particles for efficient local delivery of macromolecules to the lung" *Eur J Pharm Sci.* 2010 Sep 11;41(1):60-70
- De Stefano D. et al. "Sustained inhibition of IL-6 and IL-8 expression by decoy ODN to NF- κ B delivered through respirable large porous particles in LPS-stimulated cystic fibrosis bronchial cells" *J Gene Med.* 2011 Apr;13(4):200-8

Abstracts

- Giovino C. et al. "Large Porous Particle for lung delivery of hydrophilic macromolecules: preliminary technological studies" 49th Simposio AFL, Rimini 10-12 giugno 2009
- Giovino C. "Veicolazione polmonare di un oligonucleotide decoy contro NF-Kb per il trattamento della fibrosi cistica: progettazione e sviluppo di Large Porous Particles a base di PLGA" 8th Scuola avanzata per Dottorandi di ricerca del settore farmaceutico tecnologico applicativo, Recent ignali in vesicle drug carriers, Università della Calabria, Arcavacata di Rende, 22-27 settembre 2008
- Giovino C. et al. "Design and development of microsphere-loaded drug eluting stents for the controlled release of the antirestenosis agents" AAPA Italian University Network, Fisciano, March 6-7, 2009
- De Stefano D. Et al. "ODN decoy to NF-KB released from respirable PLGA large porous particles: a potential for treating cystic fibrosis?" 34th National Congress of the Italian Pharmacology Society, Rimini, October 14-17, 2009
- Giovino C. et al. "A new approach for cystic fibrosis treatment: large porous particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to Nuclear Factor-kB in the lung" AAPS Annual Meeting and Exposition, Los Angeles, California, November 8-12, 2009
- Ungaro F. et al. "Biodegradable particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to nuclear factor- B in the lung" In Dalby, R.N., Byron, P.R., Peart, J., Suman, J.D., Young, P.M.

(Eds.) *RDD Europe 2011, Book 2*, pp. 511-513. Poster on the podium" at RDD Europe 2011, Berlin, Germany

- Giovino C. et al. "Inhalable large porous particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to NF- κ B in cystic fibrosis" 4th AitUN Annual Meeting – Innovation in Pharmaceutics: a glimpse in the Biotech world, Napoli
- Giovino C. et al. "Respirable large porous particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to nuclear factor-kb: in vitro/in vivo potential in cystic fibrosis" International Meeting on "Lactose as a Carrier for Inhalation Products", September 26-28, 2010, Parma, Italy

- FFC Project# 13/2007 **"A gene-targeted anti-inflammatory approach based on the Transcription Factor "decoy" strategy"**

Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecolare – Centro FC – Ospedale Civile Maggiore – Verona), Roberto Gambari (Dipart. di Biochimica e Biologia Molecolare – Università di Ferrara)

Publications

- Bezzetti V. et al. "Transcription Factor Oligodeoxynucleotides to NF- κ B Inhibit Transcription of IL-8 in Bronchial Cells" *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2008 Jul;39(1):86-96
- Nicolis E. et al. "Pyrogallol, an active compound from the medicinal plant Emblica officinalis, regulates expression of pro-inflammatory genes in bronchial epithelial cells" *Int Immunopharmacol.* 2008 Dec 10;8(12):1672-80
- Piccagli L. et al. "Doking of molecules identified in bioactive medicinal plants extract into the p50 NF- κ pA transcription factor: correlation with inhibition of NF- κ pA/DNA interactions and inhibitory effects on IL-8 gene expression" *BMC Structural Biology,* 2008 Sep 3;8:38
- Gambari R. et al. "Decoy oligodeoxyribonucleotides and peptide nucleic acids-DNA chimeras targeting nuclear factor kappa-B: inhibition of IL-8 gene expression in Cystic Fibrosis cells infected with *Pseudomonas aeruginosa*" *Biochem. Pharmacol.* (2010), doi: 10.1016/j.bcp.2010.06.047
- Cabrini G. et al. "Targeting transcription factor activity as a strategy to inhibit pro-inflammatory genes involved in Cystic Fibrosis: decoy oligonucleotides and low-molecular weight compounds" *Current Medicinal Chemistry,* 2010, 17(35):4392-404
- Finotti A. et al. "Effects of decoy molecules targeting NfkappaB transcription factors in cystic fibrosis UB3-1 cells" *Artif DNA PNA XNA.* 2012 April 1; 3(2): 97–296.

Abstracts

- Bezzetti V. Et al. "Transcription factor (TF) decoy strategy to silence expression of pro-inflammatory genes in cystic fibrosis (CF) bronchial epithelial cell line" 2nd European CF Young Investigator Meeting, 2008, Lille, France
- Cabrini G. et al. "Decoy" molecules for nuclear transcription factors and regulation of expression of proinflammatory genes" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, J. Cyst Fibrosis 2008; 7, suppl. 3: pp. S18.
- Nicolis E. et al. "Isolation of active anti-inflammatory compounds from medicinal plant extracts" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 259.
- Tamanini A. et al. "Effect of furocumarin derivatives on *P. aeruginosa*-dependent pro-inflammatory response in bronchial epithelial cells" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, pp. 260-261.
- Nicolis E. et al. "Does anti-inflammatory treatment have any effect on PAO1 dependent induction of the antimicrobial genes?" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, pp. 261-262.
- Piccagli L. et al. "Anti-inflammatory molecules obtained from virtual screening of a furocoumarin database against NF- κ B" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Nicolis E. et al. "Nigella arvensis extract inhibits the induction of IL-8 gene in bronchial epithelial cells" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Tamanini A. et al. "Combined effects of furocoumarin compounds as anti-inflammatory and CFTR potentiation in CALU-3 epithelial cells" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- FFC Project #14/2007 **"Influence of CFTR mutations in bactericidal activity of human macrophages"**

Paola Del Porto (Dipart. di Biologia Cellulare e dello Sviluppo – Università "La Sapienza", Roma), Fiorentina Ascenzioni (Dipart. di Bio-

logia Cellulare e dello Sviluppo – Università “La Sapienza”, Roma), Serena Quattrucci (Centro Regionale FC – Policlinico “Umberto I”, Roma)

Abstracts

- Socci V. et al. “Influence of CFTR mutations on bactericidal activity of human macrophages” 32nd European Cystic Fibrosis Conference, Brest, France 10 – 13 June 2009 (awarded as best poster in “Inflammation”)
- Socci V. et al. “Espressione del CFTR ed attività battericida dei macrofagi umani” XV Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, V Congresso Nazionale SIFC, 1-4 Ottobre 2009 Soverato, Italia (Premio Annalisa Marzotto)
- FFC Project #15/2007 **“Mechanisms of inflammation resolution in cystic fibrosis”** Mario Romano (Dip. Scienze Biomediche – CeSI – Univ. “G. D’Annunzio” di Chieti)

Publications

- Mattoscio D. et al. “Cystic Fibrosis Transmembrane conductance regulator (CFTR) expression in human platelets: impacts on mediators and mechanisms of the inflammatory response” The Faseb J., 2010 June, doi: 10.1096/fj.10-159921
- Pieroni L et al “Proteomics investigation of human platelets in healthy donors and cystic fibrosis patients by shotgun nUPLC-MS⁶ and 2DE: a comparative study” Mol BioSystems 12 Nov 2010 doi:10.1039/COMB00135J
- Simiele F. et al. “Transcriptional regulation of the human FPR2/ALX gene: evidence of a heritable genetic variant that impairs promoter activity” FASEB J. 2012 Mar;26(3):1323-33. Epub 2011 Nov 30.
- FFC Project# 11/2008 **“Effect of glutathione and lactoferrin on redox regulation, metal homeostasis and inflammatory responses of Cystic Fibrosis bronchial cells upon infection with Burkholderia cenocepacia”**

Andrea Battistoni (Dipart. Biologia – Univ. Tor Vergata – Roma)

Publications

- Valenti P et al. “Lactoferrin decreases inflammatory response in cystic fibrosis bronchial cells invaded by iron modulated biofilm of Burkholderia cenocepacia strains” Submitted to Microbes and Infections (Manuscript Number: MICINF-D-10-00030)
- Ciavardelli D. et al. “Proteomic and ionomic profiling reveals significant alterations of protein expression and calcium homeostasis in cystic fibrosis cells” Mol Biosyst. 2013 Jun 7;9(6):1117-26.

Abstracts

- Berlotti F. et al “Lactoferrin modulates gene expression of cystic fibrosis bronchial cells invaded by iron and zinc modulated biofilm of Burkholderia cenocepacia clinical isolates” IXth International Lactoferrin Conference, Beijing, China, October 18-22, 2009.
- Ammendolia MG. et al “Bovine lactoferrin interacts with cable pili of Burkholderia cenocepacia” IXth International Lactoferrin Conference, Beijing, China, October 18-22, 2009
- Ciavardelli D. et al. “Proteomics and ionomics profiling reveals significant alteration of 14-3-3 signalling pathway and calcium homeostasis in cystic fibrosis cells” VII Italian Proteomic Association (ItPA) Annual Congress, Viterbo, June 12-15, 2012
- FFC Project#12/2008 **“Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid ceramide metabolism as a therapeutic target for CF lung disease”**

Maria Cristina Dechechchi (Lab. di Patologia Molecolare, Lab. Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Università di Verona), Roberto Gambari (Dipart. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara)

Publications

- Dechechchi MC. et al. “Anti-inflammatory effect of miglustat in bronchial epithelial cells” J Cyst Fibros. 2008 Nov;7(6):555-65
- Dechechchi MC. et al. “Modulators of Sphingolipid metabolism reduce lung inflammation” Am J Respir Cell Mol Biol. 2011 Oct;45(4):825-33

Abstracts

- Dechechchi M.C. et al. “Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid metabolism as a therapeutic target for CF lung inflammation” 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009
- Dechechchi M.C. et al. “Lack of efficacy of dexamethasone in reducing the inflammatory response to *P. aeruginosa* in a cell line derived from bronchial epithelium of a CF patient” 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009
- Dechechchi M.C. et al. “Modulation of sphingolipids metabolism reduces the neutrophil chemotaxis in human and murine respiratory

models in vivo and in vitro” 2010 ECFS Basic Science Conference “New frontiers in Basic Science in Cystic Fibrosis” 7-10 April 2010, Carcavelos, Portugal

- Dechechchi M.C. et al “Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids” Pediatr. Pulmonol.2010 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
- Dechechchi MC et al “Modulation of sphingolipids metabolism reduces the neutrophil chemotaxis in human and murine respiratory models in vitro and in vivo” 1° Conferenza Aziendale sulla Ricerca: La patologia Polmonare – Verona, 25 maggio 2010

• FFC Project#13/2008 **“Pre-clinical evaluation of new vitamin E-based anti-inflammatory agents in CF”**

Francesco Galli (Dipart. Med. Interna – Sez. Bioch. Appl. E Scienze Nutrizionali – Univ. Perugia), Luigi Iuliano (Dipart. Med. Interna e vascolare – Univ. La Sapienza Roma), Claudia Bettina Schock (Queen’s University Belfast, Respiratory Medicine Research Group), Gianfrancesco Goracci (Dipart. Med. Interna – Sez. Biochimica – Univ. Perugia)

Publications

- Iuliano L. et al. “Association of cholesterol oxidation and abnormalities in fatty acid metabolism in cystic fibrosis” Am J Clin Nutr, July, 2009 Sep;90(3):477-84
- Galli F. et al. “La supplementazione umana con vitamina E” Progress in Nutrition, Vol. 12, N. 3, 00-00, 2010
- Mazzini F. et al. “Anticancer Activity of Vitamin E-Derived Compounds in Murine C6 Glioma Cells” Chem. Med. Chem, 2010, 5, 540-543.

• FFC Project#14/2008 **“Infections in cystic fibrosis: role of the long pentraxin PTX3 in host resistance and as therapeutic agent”**

Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Rozzano, Milano), Alessandra Bragonzi (Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive – Istituto San Raffaele, Milano)

Publications

- Bragonzi A. et al. “*Pseudomonas aeruginosa* microevolution during cystic fibrosis lung infection establishes clones with adapted virulence” Am J Respir Crit Care Med, 2009 Jul 15; 180 (2): 138-45
- Moalli F. et al. “Role of Complement and Fc R in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*” Blood. 2010 Dec 9;116(24):5170-80
- Moalli F. et al. “Therapeutic potential of the humoral pattern recognition receptor PTX3 in chronic lung infection by *Pseudomonas aeruginosa*” (manuscript in preparation)
- Bottazzi B. et al. “The long pentraxin PTX3 as a prototypic humoral pattern recognition receptor: interplay with cellular innate immunity” Immunol Rev. 2009 Jan; 227 (1):9-18
- Bottazzi B. et al “An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm” Annu Rev Immunol 2010 Mar; 28:157-83

Abstracts

- Moalli F. et al. “Role of the long pentraxin PTX3 in chronic lung infection by *Pseudomonas aeruginosa*”, Bari 2010
- Moalli F et al “The opsonic activity of the long pentraxin PTX3 for *Aspergillus fumigatus* conidia is complement-dependent and mediated by Fc γ R-dependent CR3 integrin activation”
- Moalli F et al “Therapeutic potential of the humoral pattern recognition receptor PTX3 in chronic lung infection by *Pseudomonas aeruginosa*” Innochem
- Moalli F et al “Therapeutic potential of the humoral pattern recognition receptor PTX3 in chronic lung infection by *Pseudomonas aeruginosa*” Roma
- Moalli F et al “Potenziale terapeutico della pentrassina lunga PTX3 nelle infezioni croniche indotte da *Pseudomonas aeruginosa*” Firenze
- Moalli F et al “Role of the long pentraxin PTX3 in chronic lung infection by *Pseudomonas aeruginosa*” Capo Caccia 2010
- Moalli F et al “Role of complement and Fc γ R in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*” Rome, 4-6 February 2010
- Paroni M et al “Therapeutic potential of the humoral pattern recognition protein PTX3 in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa* chronic infection” The 22nd Annual NACFC, Orlando October 23-25 2008

• FFC Project#15/2008 **“Effects of azithromycin (AZM) on *Pseudomonas*-induced chronic lung inflammation in cystic fibrosis”**

Teresinha Leal (Department of Clinical Chemistry, Université Catholique de Louvain, St. Luc University Hospital) Pierluigi Mauri (Ist. Tecnologie Biomediche CNR, Segrate Milano), Claudio Sorio (Dipart. Patologia, Patologia Generale, Università di Verona)

Publications

- Sorio C. et al. "The role of macrophages and their scavenger receptors in cystic fibrosis", 2009 J Leucok Biol. Sep;86 (3) 465-8.
- Bergamini G. et al. "Pseudomonas aeruginosa released proteins: effects on cystic fibrosis airways and consequences of oxygen limitation in clinical and laboratory strains" (2010) Submitted
- Bergamini G. et al. "MudPIT analysis of released proteins in Pseudomonas aeruginosa laboratory and clinical strains in relation to pro-inflammatory effects" Integr Biol (Camb). 2012 Mar;4(3):270-9

Abstracts

- Cigana C. et al. "Proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) referent and clinical strains under microaerobiosis and their effects on cystic fibrosis airways" 31st European Cystic Fibrosis Conference, 11-14 June 2008, Prague, Czech Republic, J Cystic Fibrosis, vol. 7 (2), June 2008.
- Cigana C et al. "MudPIT analysis of *Pseudomonas aeruginosa* secretome: consequences of oxygen limitation in clinical and laboratory strains" 31st European Cystic Fibrosis Conference, 11-14 June 2008, Prague, Czech Republic, J Cystic Fibrosis, vol. 7 (3), June 2008 pp. S16
- Bergamini G. et al. "Proteomic analysis of proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* clinical and laboratory strains: effect of azithromycin" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009
- Bergamini et al. "Proteomic analysis of proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* clinical and laboratory strains: effects of azithromycin" New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. Tavira (Portugal), April 15-19 (2009) Journal of Cystic Fibrosis, (2009) Vol 9, Supplement 1, p. S40
- Bergamini G et al. "Proteomic analysis of proteins released from *Pseudomonas aeruginosa* clinical and laboratory strains: effects of azithromycin." Pediatric Pulmonology, (2009)Vol 44, Supplement 32, p 242.
- Melotti P. et al. "Effects of Azithromycin on regulation of metallo-proteases released by *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) clinical strains" NACFC 2012, Orlando, Florida, USA

FFC Project#5/2009 "Functional evaluation of CFTR in blood leukocytes in human subjects as a new tool for diagnostic and clinical research applications"

Claudio Sorio (Dipart. Patologia, Patologia Generale, Università di Verona), Paola Melotti (Lab. Patologia Molecolare – Centro FC – Ospedale Civile Maggiore – Verona), Mario Rosario Buffelli (Dipartimento di Scienze Neurologiche e della Visione- Sez. Fisiologia, Policlinico Verona)

Publications

- Melotti P. et al. "Evaluation of Cystic Fibrosis Conductance Transmembrane Regulator (CFTR) expression and activity in human monocytes and possible clinical application" Submitted for publication
- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" PloS One, 2011; 6(7): e22212. Published online 2011 July 21.

Abstracts

- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" Young Investigators Meeting, Lille (France) August 2010
- Sorio C. et al. "Analysis of CFTR function in human monocytes" European Respiratory Society Annual Congress held in Barcelona (Spain) in September 2010, abstract # 251869
- Sorio C. et al. "Functional evaluation of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) in human monocytes" J Cystic Fibrosis vol. 8, suppl. 2, June 2009: S22, abstract # 86.
- Sorio C. et al. "Measurement of CFTR expression and function in human leukocytes: new assays for the management of Cystic Fibrosis" Pediatric Pulmonology suppl. 33, 2010: 287, abstract # 192
- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in human monocytes: a potential new blood test for cystic fibrosis" FEBS Workshop on "Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders", Vico Equense, Napoli, Italy, 7-11 October 2011

FFC#17/2009 "Immune evasion strategies underlining the adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients"

Maria Lina Bernardini (Dipartimento di Biologia Cellulare e dello Sviluppo Università "La Sapienza" Roma), Antonio Molinaro (Dipartimento di Chimica organica e Biochimica – Università degli Studi di Napoli), Allaoui Abdelmounaaim (Laboratorio di Batteriologia Molecolare – Facoltà di Medicina – Libera Università di Bruxelles)

Publications

- Cigana C. et al. "Dampening Host Sensing and Avoiding Recognition in *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia" J Biomed Biotechnol. 2011;2011:852513
- FFC Project#19/2009 **"Role of CFTR-Connexin interaction on PGE2 signaling and inflammation: implication for cystic fibrosis"**

Marc Chanson (Dip. Pediatria – Università di Ginevra), Maria Cristina Dehecchi (Lab. di Patologia Molecolare, Lab. Analisi Chimico-Cliniche ed Ematologiche, Azienda Ospedaliero Universitaria di Verona)

Publications

- Schechenbach KE L. et al. "PGE2 Regulation of CFTR activity and air surface liquid volume requires Gap Junctional Communication" doi: 10.1165/rcms.2009-0361OC
- Losa D. et al., "Connexins as therapeutic targets in lung disease" Expert Opin Ther Targets 2011;15:989-1002. Review

Abstracts

- Losa D. et al., "Gap Junctions Contribute To Airway Surface Liquid Homeostasis in Human Airway Epithelial Cells" April 07-10 2010 Carcavelos, Portugal. ECFS Basic Science Conference, oral presentation by Losa Davide (Novartis Young Fellows Travel Award)
- Chanson M. et al., "PGE2 Regulation of CFTR Activity and Airway Surface Liquid Volume Requires Gap Junctional Communication" August 08-13 2010 Saxtons River, Vermont, USA. FASEB Summer Research Conferences "The Lung Epithelium in Health and Disease", poster presentation
- Losa D. et al., "Pseudomonas aeruginosa Increase Gap Junction Channels In Calu-3 Cells By A TLR5-Dependent Mechanism" March 30 to April 2 2011 Tirrenia-Pisa, Italy. ECFS Basic Science Conference, poster presentation
- Losa D. et al., "Cx43 participates in the airway epithelium defense against *Pseudomonas aeruginosa* infection by a TLR5-dependent mechanism" August 6-11 2011 Ghent, Belgium. International Gap Junction Conference, oral presentation
- Losa D. et al., "Cx43 participates in the airway epithelium defense against *Pseudomonas aeruginosa* infection by a TLR5-dependent mechanism" September 6 2011 Bern, Switzerland. Annual Meeting of the Swiss Physiological Society, oral presentation by Losa Davide ("Asher-Hess Prize – Young Investigator Award" for the best oral presentation).

FFC Project# 21/2009 "Mechanisms of bactericidal activity of human macrophages and influence of CFTR mutations"

Paola Del Porto (Dipartimento di Biologia cellulare e dello Sviluppo – Università degli Studi "La Sapienza" – Roma); Fiorentina Ascenzioni (Dipartimento di Biologia cellulare e dello Sviluppo – Università degli Studi "La Sapienza" – Roma); Serena Quattrucci (Centro Fibrosi Cistica, Dip. Pediatria – Università di Roma "La Sapienza")

Publications

- Del Porto P. et al. "Dysfunctional CFTR Alters the Bactericidal Activity of Human Macrophages against *Pseudomonas aeruginosa*" PloS One.6(5):e19970
- Cifani N. et al. "Reactive-oxygen-species-mediated *P. aeruginosa* killing is functional in human cystic fibrosis macrophages" PLoS One. 2013 Aug 19;8(8):e71717. doi: 10.1371/journal.pone.0071717.

Abstracts

- Cifani N. et al., Bactericidal activity of human CF macrophages against *Pseudomonas aeruginosa*. 34th European Cystic Fibrosis Conference; 8-11 June 2011; Hamburg Germany

FFC Project# 22/2009 "Origin of lung fluid gamma-glutamyltransferase and its effects in modulation of antioxidant balance, inflammation and CF respiratory dysfunction"

Alfonso Pompella (Dipart. Patologia Sperimentale, Biotec. Mediche, Infettivologia ed Epidemiologia – Univ. Pisa)

Publications

- Bergamini G et al "Effects of azithromycin (AZM) on glutathione-S-transferases (GSTs) in cystic fibrosis airway cells" Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 41: 199-206, 2009
- Bramanti E et al "Exogenous vs. endogenous γ -glutamyltransferase activity: implications for the specific determination of S-nitrosoglutathione in biological samples" Arch. Biochem. Biophys. 487: 146-52, 2009.
- Bramanti E et al "The determination of S-nitrosothiols in biological samples – procedures, problems and precautions" Life Sci. 2010 (in press)
- Corti A. et al. "Contribution by polymorphonucleate granulocytes to elevated Gamma-glutamyltransferase in cystic fibrosis sputum" PloS One. 2012;7(4):e34772. Epub 2012 Apr 4.
- Corti A. et al. " γ -Glutamyltransferase catabolism of S-nitrosoglutathione modulates IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial

- cells" *Free Radic Biol Med.* 2013 Jun 29;65C:360-370.
- Corti A. et al. "Cystic fibrosis elevated gamma-glutamyltransferase, and lung transplant outcome" *Transplant International* 2012; 25:e123-e124
 - FFC Project# 11/2010 **"Development of new therapeutic approaches against microbial infection in cystic fibrosis patients: biochemical analysis of cell wall fragments"**
Antonio Molinaro (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università di Napoli), Maria Lina Bernardini (Dip. Biologia Cellulare e dello Sviluppo, Università La Sapienza, Roma), Gerd Döring (Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Tübingen)
- Publications*
- Ieranò T. et al. "Molecular Modeling Study of the Carbohydrate region of the Endotoxin from *Burkholderia cenocepacia* ET-12", *Eur. J. Org. Chem.* 2011, 5114-5122
 - Loutet S. A. et al. "Transcriptional responses of *Burkholderia cenocepacia* to polymyxin B in isogenic strains with diverse polymyxin B resistance phenotypes", *BMC Genomics* 2011, 12:472
 - De Castro C. et al. "Bacterial Lipopolysaccharides in plant and mammalian innate immunity" *Protein Pept Lett.* 2012 Oct 1;19(10):1040-4
 - Hamad MA. Et al. "Aminoarabinose modification of the *Burkholderia cenocepacia* lipopolysaccharide (LPS) is essential for intrinsic antimicrobial peptide resistance and proper functioning of the LPS export pathway" *Mol Microbiol.* 2012 Sep;85(5):962-74
 - Marchetti R. et al. "*Burkholderia cenocepacia* lectin A binding to heptoses from the bacterial lipopolysaccharide" *Glycobiology*, 2012 Oct;22(10):1387-98
- FFC Project#12/2010 **"Calcium signal and PKC as targets of *Pseudomonas aeruginosa* infection"**
Paolo Pinton (Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Univ. Ferrara)
- Publications*
- Paterniani S. et al. "Calcium signaling around Mitochondria Associated Membranes (MAMs)" *Cell Commun Signal* 2011, 9:19
 - Giorgi C. et al. "Mitochondria associated membranes (MAMs) as critical hubs for apoptosis" *Communicative&Integrative Biology* 4:3, 334-335; May-June 2011
 - Giorgi C. et al. "Mitochondrial calcium homeostasis as potential target for mitochondrial medicine" *Mitochondrion*. 2012 Jan;12(1):77-85
 - Bononi A. et al. "Protein Kinases and phosphatase in the Control of cell fate" *Enzyme Research* 2011;2011:329098. Epub 2011 Sep 4.
 - Suski J. Et al. "p66Shc aging protein in control of fibroblasts cell fate" *Int. J. Mol. Sci.* 2011;12(8):5373-89. Epub 2011 Aug 22.
 - Giorgi C. et al. "Translocation of signaling proteins to the plasma membrane revealed by a new bioluminescent procedure" *BMC Cell Biology* 2011, 12:27
 - Suski J. et al. "Mitochondrial tolerance to drugs and toxic agents in ageing and disease" *Current Drug Targets*, 2011, 12, 827-849
 - Pinton P. et al. "The role of PML in the control of apoptotic cell fate: a new key player at ER-mitochondria sites" *Cell Death and Differentiation* (2011) 18, 1450-1456
 - Bezzerra V. et al. "Phospholipase C-{beta}3 is a key modulator of IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial cells" *J Immunol* 186(8):4946-58
 - Bononi A. et al. "Mitochondria-associated membranes (MAMs) as hotspot Ca²⁺ Signaling units" *Adv Exp Med Biol* 740:411-38
 - Marchi S. et al. "Mitochondria-ROS crosstalk in the control of cell death and aging" *J Signal Transduct* 2012;3:29635
 - Rimessi A. et al. "The selective inhibition of nuclear PKC restores the effectiveness of chemotherapeutic agents in chemoresistant cells" *Cell Cycle* 11(5):1040-48
 - Anelli T. et al. "Ero1 Regulates Ca²⁺ Fluxes at the Endoplasmic Reticulum-Mitochondria Interface (MAM)" *Antioxid Redox Signal* 16(10):1077-87
 - Bonora M. et al. "ATP synthesis and storage" *Purinergic Signalling*, 8:343-357
 - Giorgi C. et al. "Mitochondrial Ca²⁺ and apoptosis" *Cell Calcium* 52:36-43.
 - Marchi S. et al. Selective modulation of subtype III IP3R by Akt regulates ER Ca²⁺ release and apoptosis" *Cell Death Dis* 3:e304
 - Diogo C.V. et al. "Cardiac mitochondrial dysfunction during hyperglycaemia: the role of oxidative stress and p66Shc signaling" *Int J Biochem Cell Biol.* 2012 Jul 31
 - Lebiedzinska M. et al. "Disrupted ATP synthase activity and mitochondrial hyperpolarisationdependent oxidative stress is associated with p66Shc phosphorylation in fibroblasts of NARP patients" *Int J Biochem Cell Biol.* 2012 Jul 31
- Bressan E. et al. "Donor age-related biological properties of human dental pulp stem cells change in nanostructured scaffolds" *PLoS One.* 2012;7(11):e49146.
 - Suski JM et al. "Guanosine diphosphate exerts a lower effect on superoxide release from mitochondrial matrix in the brains of uncoupling protein-2 knockout mice: New evidence for a putative novel function of uncoupling proteins as superoxide anion transporters" *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Nov 16;428(2):234-8.
 - Chiabrandi D. et al. ""The mitochondrial heme exporter FLVCR1b mediates erythroid differentiation" *Gastroenterology.* 2014 May;146(5):1325-38.
 - Paterniani S. et al. "PRKCB/protein kinase C, beta and the mitochondrial axis as key regulators of autophagy" *Autophagy.* 2013 Sep;9(9):1367-85.
 - Bononi A. et al. "Identification of PTEN at the ER and MAMs and its regulation of Ca(2+) signaling and apoptosis in a protein phosphatase-dependent manner" *Cell Death Differ.* 2013 Dec;20(12):1631-43
 - Marchi S. et al. "Downregulation of the mitochondrial calcium uniporter by cancer-related miR-25" *Curr Biol.* 2013 Jan 7;23(1):58-63
 - Rimessi A. et al. "H-Ras-driven tumoral maintenance is sustained through caveolin-1-dependent alterations in calcium signaling" *Oncoogene.* 2014 May 1;33(18):2329-40
- FFC Project#15/2010 **"Evaluation of the usefulness of therapeutic approaches aiming at increasing glutathione levels in the airways of Cystic Fibrosis patients to control lung infections and bacterial-induced damage"**
Andrea Battistoni (Dip. Biologia, Università di Roma Tor Vergata, Roma)
- Publications*
- D'Orazio M. et al. "Extracellular Glutathione Decreases the Ability of *Burkholderia cenocepacia* to Penetrate into Epithelial Cells and to Induce an Inflammatory Response" *PLoS One*, 2012;7(10):e47550
- Abstracts*
- Ciavardelli D. et al. "Proteomics and ionomics profiling reveals significant alterations of 14-3-3 signalling pathway and calcium homeostasis in cystic fibrosis cells"
 - FFC Project#16/2010 **"Modulation of sphingolipid metabolism as a strategy for the treatment of CF lung inflammation"**
Maria Cristina Dechechchi (Lab Patologia Molecolare, Lab Analisi chimico Cliniche ed Ematologiche, Az Osp Univ, Verona); Roberto Gambari (Dip. Biochimica e Biologia Molecolare – Univ Ferrara)
- Publications*
- Dechechchi MC. et al., "Modulators of Sphingolipid Metabolism Reduce Lung Inflammation" *Am J Respir Cell Mol Biol*, *In press*
 - Dechechchi MC. et al., "Pharmacological modulators of sphingolipid metabolism for the treatment of cystic fibrosis lung inflammation" In: *Cystic Fibrosis*. ISBN 979-953-307-059-8, edited by: Dr. Dinesh D. Sriramulu, Germany
 - Galli F. et al. "Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis" *Biochim Biophys Acta*. 2012 May;1822(5):690-713
- Abstracts*
- Dechechchi MC. et al., "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" *Pediatr. Pulmonol.* 2010, 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010 (poster)
 - Dechechchi MC et al., "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" *Pediatr. Pulmonol.* 2010 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
 - Dechechchi MC et al. "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" *Pediatr. Pulmonol.* 2010 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
 - Dechechchi MC et al., "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" *Pediatr. Pulmonol.* 2010 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
 - Dechechchi MC. et al. "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" ECFC Basci Science Conference Tirrenia - Pisa, Italy 30 March - 2 April 2011
 - Dechechchi MC et al., "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis, Tirrenia (Pisa), 30 March-2 April 2011
 - Tebon M. et al. Miglustat reduces lung inflammation in vitro and in vivo", 5th European CF Young Investigator Meeting, Lille, France, 23 – 26 August 2011
 - Dechechchi MC et al., "Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid metabolism as a therapeutic target for cystic fibrosis lung inflammation" FEBS Workshop: Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, Vico Equense (Naples), 7-11 october 2011.

- Dechechci MC. et al., "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P.aeruginosa* in CF bronchial cells" New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis, Tirrenia (Pisa), 30 March-2 April 2011
- Tebon M. et al., "Miglustat reduces lung inflammation in vitro and in vivo" 5th European CF Young Investigator Meeting, Lille, France, 23 – 26 August 2011
- Dechechci MC. et al., "Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid metabolism as a therapeutic target for cystic fibrosis lung inflammation" FEBS Workshop: Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, Vico Equense (Naples), 7-11 october 2011.
- Tebon M. et al. "Targeting enzymes involved in the metabolism of glucosylceramide to modulate transcription of IL-8 gene in CF epithelial cells" 9th ECFS Basic Science Conference, Sainte-Maxime, France from 28 March - 1 April 2012
- Dechechci C. et al. "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" 9th ECFS Basic Science Conference, 24 March-1 April 2012, Sainte-Maxime, France
- Dechechci C. et al. "Iminosugar-based inhibitors of ceramide glucosyl-transferase (GlcCerT) and non-lysosomal glucosylceramidase (GBA2) reduce the inflammatory response to *P.aeruginosa* in CF bronchial epithelial cells" NACFC 2012, Orlando, USA
- FFC Project# 17/2010 **"Molecular characterization of trimethylangelicin (TMA) and structurally-related compounds in CF lung disease: anti inflammatory effects and potentiation of the CFTR biological activity"**
Roberto Gambari (Dip. Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara); Francesco Dall'Acqua (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Padova)

Publications

- Borgatti M. et al. "Development of a novel furocumarin derivative inhibiting NF- κ B dependent biological functions: design, synthesis and biological effects" Eur J Med Chem 2011, Oct;46(10):4870-7
- Borgatti M. et al. "Bergamot (*Citrus bergamia* Risso) fruit extract and identified components alter expression of interleukin 8 gene in cystic fibrosis bronchial epithelial cells lines" BMC Biochem, 2011 Apr 15; 12:15
- Mazzitelli S. et al. "Encapsulation of eukaryotic cells alginate microparticles: cell signaling by TNF-alpha through capsular structure of cystic fibrosis cells" J Cell Commun Signal, 2011 Jun;5(2):157-65 Epub 2010 Nov 25
- Tamanini A. et al. "Trimethylangelicin Reduces IL-8 Transcription and Potentiates CFTR Function" Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2011 Mar;300(3):L380-90
- Hau D. K. et al. "In vivo anti-tumoral activity of corilagin on Hep3B hepatocellular carcinoma" Phytomedicine, 2010 Dec 15;18(1):11-5
- Piccagli L. et al. "Virtual screening against nuclear factor B (NF- B) of a focus library: identification of bioactive furocoumarin derivatives inhibiting NF- B dependent biological functions involved in cystic fibrosis" Bioorg Med Chem, 2010 Dec 1;18(23):8341-9
- Borgatti M. et al. "Induction by TNF- of IL-6 and IL-8 in cystic fibrosis bronchial IB3-1 epithelial cells encapsulated in alginate microbeads" J Biomed Biotechnol, 2010; 2010. pii:907964. Epub 2010 Sep 8
- Gambari R. "Recent patents on the therapy based on the transcription factor decoy approach" Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2011 Nov;21(11):1755-71
- Lampronti I. et al. "Modulation of the expression of the proinflammatory IL-8 gene in cystic fibrosis cells by extracts deriving from olive mill waste water" Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013:960603. doi: 10.1155/2013/960603. Epub 2013 Jul 7.
- FFC Project# 18/2010 **"Infections in cystic fibrosis: role of the long pentraxin PTX3 in host resistance and as therapeutic agent"**
Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Milano); Alessandra Bragonzi (Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, H. S. Raffaele, Milano)

Publications

- Moalli F. et al. "The therapeutic potential of the humoral pattern recognition molecule PTX3 in chronic lung infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*", J Immunol, 2011 May 1;186(9):5425-34
- Chiarini M. et al. "PTX3 genetic variations affect the risk of *Pseudomonas aeruginosa* airway colonization in cystic fibrosis patients" Genes Immun. 2010 Dec;11(8):665-70.
- Inforzato A. et al., "The long pentraxin PTX3 at the crossroads between innate immunity and tissue remodeling" Tissue Antigens

2011 Apr;77(4):271-82.

- Moalli F et al., "Pathogen recognition by the long pentraxin PTX3" J Biomed Biotechnol, 2011;2011:830421. Epub 2011 Jun 2.
- Moalli F. et al. "Role of complement and FCy receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*" Blood, 2011 116:5170-5180
- Doni A. et al. "Interactions of the humoral pattern recognition molecule PTX3 with the complement system" Immunobiology. 2012 Nov;217(11):1122-8
- Inforzato A. et al. "Pentraxin in humoral innate immunity" Adv Exp Med Biol. 2012;946:1-20
- Paroni M. et al. "Response of CFTR-deficient mice to long-term *Pseudomonas aeruginosa* chronic infection and PTX3 therapeutic treatment" J Infect Dis. 2012 Oct 18. [Epub ahead of print]
- Vélez Rodriguez T. et al. "Role of Toll interleukin-1 receptor (IL-1R) 8, a negative regulator of IL-1R/Toll-like receptor signaling, in resistance to acute *Pseudomonas aeruginosa* lung infection" Infect Immun. 2012 Jan;80(1):100-9
- Garlanda C. et al. "Negative regulatory receptors of the IL-1 family" Semin Immunol. 2013 Dec 15;25(6):408-15
- Riva F. et al. "TIR8/SIGIRR is an Interleukin-1 Receptor/Toll Like Receptor Family Member with Regulatory Functions in Inflammation and Immunity" Front Immunol. 2012 Oct 29;3:322
- Garlanda C. et al. "Decoys and Regulatory "Receptors" of the IL-1/Toll-Like Receptor Superfamily" Front Immunol. 2013 Jul 9;4:180

Abstracts

- Garlanda C. et al., "Role of Complement and Fcy Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*" Innate Immunity: Mechanisms Linking with Adaptive Immunity. June 7 - 12, 2010. Trinity College Dublin, Ireland
- Garlanda C., "Infections in cystic fibrosis: role of the long pentraxin PTX3 in host resistance and as therapeutic agent", VIII Italian Convention of Researchers in Cystic Fibrosis, Verona, Italy, December 2-4, 2010
- Garlanda C., "Role of the long pentraxin PTX3 in chronic lung infection by *Pseudomonas aeruginosa*" SIICA 7th National Conference", Bari, Italy, May 26-29, 2010
- Garlanda C., "The therapeutic potential of the humoral pattern molecule PTX3 in chronic lung infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*" 5th ENII EFI/EJI Summer School in advanced immunology", Capo Caccia, Sardinia, Italy, May 9-16, 2010
- Moalli F. et al. "Role of Complement and Fcy Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*" Innate Immunity: Mechanisms Linking with Adaptive Immunity, Trinity College Dublin, Dublin, Ireland, June 7-12, 2010
- Paroni M. et al. "Therapeutic potential of the long pentraxin PTX3 in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection" 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, USA, October 21-23, 2010
- Moalli F. et al. "Role of Complement and Fcy Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*", Toll2011 Meeting, Decoding Innate Immunity, Riva del Garda, Italy, May 4-7, 2011
- Garlanda C. et al., "Role of Complement and Fcy Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*", Toll2011 Meeting, Decoding Innate Immunity, Riva del Garda, Italy, May 4-7, 2011

- FFC Project# 20/2010 **"Identification of agents with multiple favourable activities as potential treatments for cystic fibrosis"**
Annamaria Naggi (Ist. di Ricerche Chimiche e Biochimiche "G. Ronzoni", Milano), Edwin A. Yates (School of Biological Science, University of Liverpool), Janis Shute (Div. Pharmacol. Pharmacy and Biomolecular Science, Univ. Portsmouth)

Publications

- Veraldi N, Hughes AJ, Rudd TR et al. "Heparin derivatives for the targeting of multiple activities in the inflammatory response" Carbohydrate Polymers 2015; 117:400-407

Abstracts

- Veraldi N. et al. "Heparin derivatives as potential anti-inflammatory in cystic fibrosis treatment" XIII CSCC, Certosa di Pontignano, June 24-27, 2012
- FFC Project#21/2010 **"Th17 responses in Cystic fibrosis: paving the way for novel anti-inflammatory strategies and immunogenetic screening"**
Luigina Romani (Dip. Medicina Sperimentale e Scienze Biomediche, Università di Perugia)

Publications

- Sorci G. et al. "The danger signal S100B integrates pathogens- and danger-sensing pathways to restrain inflammation" PLoS Pathog. 2011 Mar;7(3):e1001315
- Romani L. "Immunity to fungal infections" Nat Rev Immunol. 2011 Apr;11(4):275-88
- Zelante T. et al. "IL-22 in antifungal immunity" Eur J Immunol. 2011 Feb;41(2):270-5
- Cunha C. et al. "Genetically-determined hyperfunction of the S100B/RAGE axis is a risk factor for Aspergillosis in Stem Cell transplant recipients" PLoS One. 2011;6(11):e27962. Epub 2011 Nov 17.
- Cunha C. et al. "Immunogenetic profiling to predict risk of invasive fungal diseases: where are we now?" Immunol Invest. 2011;40(7-8):723-34.
- Carvalho A. et al. "Immunotherapy of aspergillosis" Clin Microbiol Infect. 2012 Feb;18(2):120-5.
- Zelante T. et al. "Sensing of mammalian IL-17 regulates fungal adaptation and virulence" Nat Commun. 2012 Feb 21;3:683. doi: 10.1038/ncomms1685. - Cunha C. et al. "Host genetics and invasive fungal diseases: towards improved diagnosis and therapy?" Expert Rev Anti Infect Ther. 2012 Mar;10(3):257-9.
- Carvalho A. et al. "Host defense pathways against fungi: the basis for vaccines and immunotherapy" Front Microbiol. 2012;3:176.
- Cunha C. et al. "DAMP signaling in fungal infections and diseases" Front Immunol. 2012;3:286.
- Iannitti RG. et al. "Th17/Treg imbalance in murine cystic fibrosis is linked to indoleamine 2,3-dioxygenase deficiency but corrected by kynurenines" Am J Respir Crit Care Med. 2013 Mar 15;187(6):609-20

Abstracts

- Iannitti RG. et al. "Aspergillosis in Cystic Fibrosis: a multifactorial disease?" "5th Advances Against Aspergillosis" Istanbul, 2011 January 26-28
- Romani L. "Controversies in immunology: excessive inflammation in Aspergillosis" "5th Advances Against Aspergillosis" Istanbul, 2012 January 26 – 28
- Carvalho A. "Cracking the genetic code for susceptibility to aspergillosis in immunodeficient patients" Gordon Research Conference – Immunology of fungal infections, Galveston (Texas), January 15-22, 2011
- Romani L. "Immunity to fungi: what is required?" EBMT Annual Meeting, Paris (France), April 3-6, 2011
- FFC Project#18/2011 "**Inflammasome activation and IL-1 β mediated inflammation triggered by *Pseudomonas aeruginosa*: a rationale for novel therapeutic approaches in cystic fibrosis patients"** Maria Lina Bernardini (Dip. Biologia e Biotecnologie, Università "La Sapienza", Roma), Antonio Molinaro (Dip. Chimica organica e biochimica, Università di Napoli), Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Milano), Abdelmounaaim Allaoui (Lab. Batteriologia Molecolare - Facoltà di Medicina - Libera Università di Bruxelles)

Publications

- Garlanda C. et al. "Decoys and Regulatory "Receptors" of the IL-1/Toll-Like Receptor Superfamily" Front Immunol. 2013 Jul 9;4:180. doi: 10.3389/fimmu.2013.00180. eCollection 2013.
- Riva F. et al. "TIR8/SIGIRR is an Interleukin-1 Receptor/Toll Like Receptor Family Member with Regulatory Functions in Inflammation and Immunity" Front Immunol. 2012 Oct 29;3:322. doi: 10.3389/fimmu.2012.00322. eCollection 2012.
- FFC Project#19/2011 "**Phospholipase C beta (PLCB) as candidate therapeutic target in CF lung proinflammatory signaling"** Giulio Cabrini (Dip. Patologia e Diagnostica, Università di Verona), Paolo Pinton (Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Università degli Studi di Ferrara)

Abstracts

- Cabrini C. et al. "*P. aeruginosa* and modulation of IL-8 gene expression in bronchial epithelial cells" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta ECFS Conference, 26-29 March 2014
- FFC Project#20/2011 "**Host Response to *Pseudomonas aeruginosa* adaptation during airway chronic infection"** Cristina Cigana (Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive – Istituto San Raffaele, Milano)

Publications

- Lorè N. I. et al. "Cystic fibrosis-niche adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* reduces virulence in multiple infection hosts" PLoS One. 2012;7(4):e35648. Epub 2012 Apr 25

Abstracts

- Cigana C. et al. "Adaptation of *P. aeruginosa* in cystic fibrosis air-

ways affects the host immune-response" NACFC, 2011, Anaheim, California, USA

- Cigana C. et al. "Cystic fibrosis adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* modulates innate immune system and tissue damage control" Cytokines 2012, 10th Joint Annual Meeting, 11-14 September 2012, Geneva, Switzerland
- Cigana C. et al. "Host response to *Pseudomonas aeruginosa* adaptation during chronic infection" 35th European Cystic Fibrosis Conference, 6-9 June 2012, Dublin, Ireland
- Lorè N.I. et al. "Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis airways affects the host immune-response" VI European CF Young investigator meeting, Paris, France, 2012
- Cigana C. et al. "Cystic fibrosis-adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* modulates innate immune system detection and tissue damage control" NACFC 2012, Orlando, Florida, USA
- Cigana C. et al. "Defining critical players in inflammation and tissue damage during infection with *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in mice" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
- C. Riva, C. Cigana, NI. Lorè, I. De Fino, L. Spagnuolo, A. Bragonzi "Inflammatory response and tissue damage induced by chronic lung infection with *Pseudomonas aeruginosa* patho-adaptive variants" 8th European CF Young Investigator Meeting Paris, France, 19-21 February 2014, 3rd Phd Workshop, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy, 26-27 June 2014, Milan meets Immunology Meeting, Milan, Italy, 16 April 2014
- Cigana C, Lorè NI, Riva C, De Fino I, Spagnuolo L, Mondino A, Cariiani L, Colombo C, Sipione B, Bragonzi A. "Pseudomonas aeruginosa adaptation is associated to sustained lymphocytosis and tissue damage during chronic infection in murine models and humans" 28th Annual North-American Conference, Atlanta, GA (USA), 9-11 October 2014
- Funiciello F, Soldati R, Galletti P, Giacomini D. "Monocyclic beta-lactams and cystic fibrosis : facing antioxidant and antimicrobial activity of N-thiomethyl-azetidinones" 13a giornata scientifica borsisti CINMPIS, presentazione orale, Perugia 18.12.2013

- FFC Project#21/2011 "**Phosphodiesterases type-4 (PDE4) as a novel target to reduce neutrophilic lung inflammation in cystic fibrosis"** Virgilio Evangelista (Lab. di Biologia e Farmacologia Vascolare, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti), Mario Romano (Lab. Medicina Molecolare, Ce.S.I., Università Chieti-Pescara)

Abstracts

- Totani L. et al. "Phosphodiesterases type-4 (PDE4) as a novel target to control neutrophilic lung inflammation in cystic fibrosis" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
- FFC Project#22/2011 "**Targeting ceramide metabolism as a pharmacological strategy in cystic fibrosis"** Riccardo Ghidoni (Lab. Biochimica e Biologia Molecolare, Dip. Medicina, Osp. S. Paolo, Università di Milano)

Publications

- Caretti A. et al. "Anti-inflammatory action of lipid nanocarrier-delivered myriocin: therapeutic potential in cystic fibrosis" Biochim Biophys Acta. 2013 Oct 18. pii: S0304-4165(13)00458-3. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.10.018. [Epub ahead of print]
- Caretti A, Bragonzi A, Facchini M et al. "Antiinflammatory action of lipid nanocarrier -delivered myriocin: therapeutic potential in cystic fibrosis" Biochimica et Biophysica Acta 2014; 1840:586-594
- FFC Project#23/2011 "**Polyethylenimine-engineered respirable particles delivering a decoy oligonucleotide to NF- κ B: a novel combination therapy for cystic fibrosis?**" Fabiana Quaglia (Dip. Chimica Farmacologica e Tossicologica, Università "Federico II", Napoli), Rosa Carnuccio (Dip. Farmacologia Sperimentale, Università "Federico II", Napoli)

Publications

- Ungaro F. et al. "PEI-Engineered Respirable Particles Delivering a Decoy Oligonucleotide to NF- κ B: Inhibiting MUC2 Expression in LPS-Stimulated Airway Epithelial Cells" PLoS One. 2012;7(10):e46457
- Ungaro F. et al. "Engineered PLGA nano- and micro-carriers for pulmonary delivery: challenges and promises" J Pharm Pharmacol. 2012 Sep;64(9):1217-35
- De Stefano D. et al. "A decoy oligonucleotide to NF- κ B delivered through inhalable particles prevents LPS-induced rat airway inflammation" Am J Respir Cell Mol Biol. 49(2013):288-95.

Abstracts

- De Stefano D. et al. "NF- κ B decoy ODN release from respirable and biodegradable PEI/PLGA particles inhibits MUC2 expression il LPS-stimulated human lung cells" 35° Congresso Nazionale della

- Società Italiana di Farmacologia, Bologna, 2011
- Ungaro F. et al. "Engineering inhalable particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to nuclear factor-kB" 8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, March 19-22, 2012, Istanbul, Turkey.
 - Ungaro F. et al. "Engineered respirable carriers for the sustained delivery of drugs to the lungs" XXII Simposio ADRITELF "1972-2012: 40 anni di Tecnologia Farmaceutica", September 13-16, 2012, Firenze, Italy
 - Ungaro F. et al. "Improving therapy of lung inflammation by inhalable powders for prolonged release of a decoy oligonucleotide against NF- κ B" 3rd Conference on Innovation in Drug Delivery: Advances in Local drug Delivery, September 22-25, 2013, Pisa, Italy. Selected as oral presentation.
 - De Stefano D. et al. "A decoy oligonucleotide to NF- κ B delivered through inhalable particles inhibits the lung inflammation induced by LPS in rat" 36mo Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, October 23-26, 2013, Torino, Italy.
- FFC Project#10/2012 **"A very promising drug against *Burkholderia cenocepacia*"**
Giovanna Riccardi (Dip. di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)
- Publications**
- Scuffone VC. et al. "Mechanism of resistance to an antitubercular 2-thiopyridine derivative that is also active against *Burkholderia cenocepacia*" *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(4):2415-7
 - Scuffone VC. et al. "Efflux-mediated resistance to a benzothiadiazol derivative effective against *Burkholderia cenocepacia*" *Front Microbiol*. 2015 Aug 5;6:815.
- FFC Project#14/2012 **"Structure-activity relationships (SAR) of neoglycoconjugates derived from deoxynojirimycin as possible therapeutic agents for cystic fibrosis lung disease, by modulating the metabolism of sphingolipids"**
Maria Cristina Dechechchi (Lab. Patologia Molecolare, Laboratorio Analisi AOUI, Verona), Frédéric Becq (Inst. Physiologie et Biologie Cellulaires, Université de Poitiers, France)
- Publications**
- Lampronti I. et al. "Modulation of the expression of the proinflammatory IL-8 gene in Cystic Fibrosis by extracts deriving from olive mill waste water" *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:960603. doi: 10.1155/2013/960603. Epub 2013 Jul 7
 - Bezzerra V, Avitabile C, Dechechchi MC, Lampronti I, Borgatti M, Montagner G, Cabrini G, Gambari R, Romanelli A. "Antibacterial and anti-inflammatory activity of a temporin B peptide analogue on an in vitro model of cystic fibrosis." *Journal of Peptide Science* 2014 Oct;20(10):822-30.
 - Loberto N. et al. "GBA2-Encoded b-Glucosidase Activity Is Involved in the Inflammatory Response to *Pseudomonas aeruginosa*" *PLoS One* 2014 Aug 20;9(8):e104763. doi: 10.1371/journal.pone.0104763. eCollection 2014.
- Abstracts**
- Tebon M. et al. "Non-lisosomial beta-glucosidase 2 (GBA2) as a target of the anti-inflammatory effect of miglustat" ECFS Basic Science Conference, 20-24 March 2013, Malaga, Spain
 - Tebon M. et al. "Non-Lysosomal Beta-Glucosidase 2 (Gba2) as a target of the Anti-Inflammatory Effect of Miglustat." 10th ECFS Basic Science Conference
 - Munari S. et al. "Structure-activity-relationships (sar) of neoglycoconjugates derived from Deoxynojirimycin as possible anti-inflammatory agents for CF lung disease" 11th ECFS Basic Science Conference, 26-29 March, Malta
 - Loberto N. et al. "Involvement of the non-lysosomal β -glucosylceramidase gba2 in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis" 2nd International Workshop on Molecular Medicine of Sphingolipids. 12-17 ottobre 2014. Kloster Banz. Germania. Oral Presentation
- FFC Project#15/2012 **"The Heme-oxygenase 1 (HO-1) as modulator of Cystic Fibrosis lung disease"**
Valeria Raia (Dipartimento di Pediatria, Università "Federico II", Napoli), Emanuela Bruscia (Dep. Pediatrics, Respiratory Medicine, Yale University School of Medicine), Luigi Maiuri (IERFC, San Raffaele, Milano)
- Publications**
- Zhang PX. et al. "Reduced caveolin-1 promotes hyperinflammation due to abnormal heme oxygenase-1 localization in lipopolysaccharide-challenged macrophages with dysfunctional cystic fibrosis transmembrane conductance regulator" *J Immunol*. 2013 May 15;190(10):5196-206. doi: 10.4049/jimmunol.1201607. Epub 2013 Apr 19.
- Abstracts**
- Villela V. et al. "The Heme-oxygenase 1 (HO-1) as modulator of cystic fibrosis lung disease" 7th European CF Young Investigators meeting, February 27-March 1, 2013
- FFC Project#16/2012 **"Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: a drug discovery approach"**
Luigina Romani (Dip. Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Università di Perugia)
- Publications**
- Iannitti RG, Casagrande A, De Luca A et all. "Hypoxia promotes danger-mediated inflammation via receptor for advanced glycation end products in cystic fibrosis" *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013; 188:1338-1350
 - Bedke T, Iannitti RG, De Luca A et al. "Distinct and complementary roles for *Aspergillus fumigatus*-specific Tr1 and Foxp3(+) regulatory T cells in humans and mice" *Immunol Cell Biol* 2014;92:659-70
- Abstracts**
- Iannitti RG. et al. "Cystic fibrosis Th17/Treg imbalance to *Aspergillus fumigatus*: insights for novel anti-inflammatory strategies and immunogenetic screening" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC) Orlando (Florida, USA), 11-13 October, 2012, Gordon Research Conference "Immunology of Fungal Infections". Galveston (TX, USA), 13-18 January, 2013.
 - Galosi C. et al. "Genetic variants in IDO1 are associated with increased susceptibility to *A.fumigatus* colonization in patients with cystic fibrosis" The 15th International Congress of Immunology. SM5. Fungi in the setting of inflammation, allergy and autoimmune diseases: Translating basic science into clinical practices. Perugia (Italy), August 29-30, 2013
 - Borghi M. et al. "Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory responses in Cystic Fibrosis" Meeting "Fungi in the setting of inflammation, allergy and autoimmune diseases: Translating basic science into clinical practices". Borgo RiccioTorchiaro (SA, Italy), April 13-16, 2014
 - Romani L. "IDO/Kynurenine: A novel anti-inflammatory Th17 counteracting pathway in CF" 37th European Cystic Fibrosis Conference. Gothenburg (Sweden), June 11-14, 2014
 - De Luca A. et al. "IL-1 blockade as a potential therapeutic target in Aspergillosis" 6th Advances Against Aspergillosis meeting. Madrid (Spain), February 27 – 1 March, 2014
 - Iannitti RG. et al. "Hypoxia promotes danger-mediated inflammation via RAGE in Cystic Fibrosis" 6th Advances Against Aspergillosis meeting. Madrid (Spain), February 27 – 1 March, 2014
- FFC Project#18/2012 **"Cystic Fibrosis liver disease: the role of CFTR as regulator of epithelial innate immunity"**
Mario Strazzabosco (Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università Milano-Bicocca, Milano)
- Publications**
- Fouassier L. et al. "Ezrin finds its groove in cholangiocytes" *Hepatology*. 2015 May;61(5):1467-70
 - Scirpo R. et al. "Stimulation of nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor- γ limits NF- κ B-dependent inflammation in mouse cystic fibrosis biliary epithelium" *Hepatology*. 2015 Nov;62(5):1551-62
- Abstracts**
- Fiorotto R. et al. "Src tyrosine kinase mediates the increased TLR4-dependent stimulation of innate immune responses to endotoxins in Cftr-defective cholangiocyte" AASLD Liver Meeting 2013, Washington, USA Hepatology 58: 151A
 - Fiorotto R. et al. "Src tyrosine kinase mediates the increased TLR4-dependent stimulation of innate immune responses to endotoxins in Cftr-defective cholangiocytes" Presented at ICI satellite meeting, SM7, "Endotoxin, TLR4 signaling, and beyond". Cinisello Balsamo (MI), Italy, 21st August 2013
 - Fiorotto R. et al. "CFTR controls TLR4 responses of the biliary epithelium by regulating C-SRC tyrosine kinase activation" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014
 - Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR- γ reduces NFkB-dependent inflammation in cystic fibrosis biliary epithelium" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014
 - Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR- γ reduces NFkB-dependent inflammation in cystic fibrosis biliary epithelium" AASLD Liver Meeting 2014, Boston, USA

- Fiorotto R. et al. "The Cystic Fibrosis Conductance Regular (CFTR) controls c-Src tyrosine kinase signaling and regulates innate immunity and epithelial polarity in cholangiocytes" AASLD Liver Meeting 2014, Boston, USA
- Scirpo R. et al. "Activation of PPAR-g signaling as a novel target to limit NF-kB-dependent inflammation in Cystic Fibrosis biliary epithelium" EASL International Liver Congress™ 2014, London, UK
- Fiorotto R. et al. "CFTR controls a membrane multi-protein complex that regulates cholangiocyte c-Src tyrosine kinase activity and tlr4 signaling: implications for cystic fibrosis liver disease (CFLD)" EASL International Liver Congress™ 2014, London, UK
- Fiorotto R. et al. "CFTR controls TLR4 responses of the biliary epithelium by regulating c-Src tyrosine kinase activation" ECLCB-6 2014, Castelfranco Veneto, Italy
- Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR-γ Nuclear Receptor Limits NFkB-dependent Inflammation in Cystic Fibrosis Biliary Epithelium" ECLCB-6 2014, Castelfranco Veneto, Italy
- FFC Project#10/2013 **"Anti-virulence therapy against *Pseudomonas aeruginosa*: identification of antibiofilm drugs and development of inhalable Niclosamide and Flucytosine formulations"**
Livia Leoni (Dip. di Scienze, Università "Roma Tre"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II), Francesco Imperi (Dip. di Biologia e Biotecnologia, Università "La Sapienza", Roma), Ersilia Fiscarelli (Ospedale e Ist. di ricerca "Bambin Gesù", Lab. Microbiologico fibrosi cistica, Rome)

Publications

- Costabile G. et al. "Toward Repositioning Niclosamide for Antivirulence Therapy of *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infections: Development of Inhalable Formulations through Nanosuspension Technology" Mol Pharm. 2015 Aug 3;12(8):2604-17
- FFC Project#13/2013 **"Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airway epithelium"**
Francesca Berlotti (Dip. Salute Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Publications

- Frioni A. et al. "Lactoferrin differently modulates the inflammatory response in epithelial models mimicking human inflammatory and infectious diseases" Biometals 2014 Oct;27(5):843-56
- Valenti P. et al. "Lactoferrin and cystic fibrosis airway infection. In "Diet and Exercise in Cystic Fibrosis" (Ronald Ross Watson) Academic Press, Waltham" Book: WATSON-9780128000519 Chapter: 09

Abstracts

- Berlotti F. et al. "Lactoferrin modulates inflammatory and iron network in different epithelial cell models mimicking human infection and inflammatory diseases" XI International Conference on Lactoferrin, 6-10 October 2013, Rome, Italy
- FFC Project#14/2013 **"Pathophysiological relevance of glycosaminoglycans in *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infections and validation of new therapeutic approaches to modulate inflammation and tissue remodeling"**
Cristina Cigana (Infections and Cystic Fibrosis Unit, HSR, Milano), Annamaria Naggi (Ist. Ricerche Chimiche e Biochimiche G. Ronzoni), Carla Colombo (Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano)

Publications

- Yonker LM. et al. "Host-pathogen interplay in the respiratory environment of cystic fibrosis" J Cyst Fibros. 2015 Jul;14(4):431-9

Abstracts

- Riva C. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* adaptation to cystic fibrosis airways shapes the host response in mice during the progression of airway disease" 12th ECFS Basic Science Conference (25-28 March 2015, Albufeira Portugal)
- Cigana C. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* adaptation as a potential risk factor to the progression of cystic fibrosis airway disease in mice and humans", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015
- Lorè NI. et al. "The double-edge sword activity of IL-17 during *Pseudomonas aeruginosa* chronic airway infection: implications for host resistance and tolerance 29th Annual North-American Conference, Phoenix, AZ (USA), 8-10 October 2015
- Riva C. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* adaptation to cystic fibrosis airways shapes the host response in mice during the progression of airway disease" 4rd Phd Workshop Università degli Studi di Milano 18-19.06.2015

- FFC Project#18/2013 **"Development of a CF, IL-8/NF-KB transgenic mouse model for the in vivo long-term monitoring of the inflammatory response induced by bacteria treated or not with azithromycin"**

Maria M. Lleò (Dip. di Patologia e Diagnostica, Sez. Microbiologia, Università di Verona)

Publications

- Stellarì F. et al. "In vivo imaging of the lung inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* and its modulation by azithromycin" J Transl Med. 2015 Aug 4;13:251

Abstracts

- Bergamini C. et al. "Development of a CF, IL-8 transgenic mouse model for the *in vivo* long term monitoring of lung inflammation" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project#19/2013 **"The role of vascular endothelium in cystic fibrosis inflammation"**

Mario Romano (Dip. Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. Medicina Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti-Pescara), Licia Totani (Dip. di Farmacologia Traslazionale, Consorzio Mario Negri Sud), Marco Marchisio (Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Università "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara)

Publications

- Romano M. et al. "Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation" Eur J Pharmacol. 2015 Aug 5;760:49-63

Abstracts

- Totani L. et al. "The involvement of vascular endothelium in cystic fibrosis lung inflammation", New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014

- FFC Project#20/2013 **"Sphingolipid targeting in inflammation and fungal infection"**

Paola Signorelli (Dip. di Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano), Elisa Borghi (Dip. di Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano), Silvano Sozzani (Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Brescia)

Abstracts

- Perdoni F. et al. "Antifungal activity of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor, on pathogenic fungi" Third Meeting of the ECMM/ISHAM Working Group on Fungal Respiratory Infections in Cystic Fibrosis, Angers- France, 5-6 June 2014 (oral communication)
- Perdoni F., Riva A., Signorelli P. et al. "Nanocarrier delivery of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor with antifungal activity, into fungal biofilms" 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases in Barcelona, Spain, 10-13 May 2014 (poster)
- Perdoni F., Biggiogera M., Cirasola D. et al. "Antifungal activity of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor, on fungal biofilms: a preliminary study." ESCMID Study Group for Biofilm (ESGB) Meeting "Biofilm-based Healthcare-associated Infections: from Microbiology to Clinics", Rome 9-10 October 2014

- FFC Project#19/2014 **"Mitochondrial Ca²⁺-dependent inflammasome activation exacerbates the *P. aeruginosa*-driven inflammatory response"** Paolo Pinton (Dip. di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Lab. Trasdizione del Segnale, Università di Ferrara)

Publications

- Rimessi A. et al. "Mitochondrial Ca²⁺-dependent NLRP3 activation exacerbates the *Pseudomonas aeruginosa*-driven inflammatory response in cystic fibrosis" Nat Commun. 2015 Feb 4;6:201

- FFC Project#20/2014 **"Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease"**

Eliodoro Pizzo (Lab. di Struttura e Funzione delle Proteine-SFP, Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II", Emilia Maria Pedone (Istituto di Biostruzione e Bioimmagini, C.N.R Napoli)

Publications

- Pizzo E. et al. "A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating protein of *Phytolacca dioica* L: A new function of RIPs for plant defence" FEBS Lett. 2015 Sep 14;589(19 Pt B):2812-8
- Notomista E. et al. "The identification of a novel *Sulfolobus islandicus* CAMP-like peptide points to archaeal microorganisms as cell factories for the production of antimicrobial molecules" Microb Cell Fact. 2015 Sep 4;14:126

Abstracts

- Bosso A. et al. "A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating proteins of *Phytolacca dioica* L." IMAP

- 2015 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides, Burlington House, London September 7-8, 2015
- FFC Project#21/2014 **"Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis"**
Antonio Recchiuti (Dip. di Scienza Clinica e Sperimentale-CeSI, Università "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara)
- Abstracts
- Recchiuti A. et al. "Resolvin D1 Reduces Lung Chronic Inflammation and Infection Induced by *Pseudomonas aeruginosa*" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th-17th 2015, Rome, Italy
 - FFC Project#22/2014 **"Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation"**
Luigina Romani (Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Perugia)
- Publications
- Zelante T. et al. "Tryptophan Feeding of the IDO1-AhR Axis in Host-Microbial Symbiosis" *Front Immunol.* 2014 Dec 15;5:640
 - Borghi M. et al. "Antifungal Th Immunity: Growing up in Family" *Front Immunol.* 2014 Oct 15;5:506
 - FFC Project#24/2014 **"The role of Glucocerebrosidase GBA2 in**
- cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies"**
Sandro Sonnino (Dip. di Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Università di Milano)
- Abstracts
- Aureli M. et al. "Development of new inhibitors of the non-lysosomal β -glucosylceramidase GBA2 as possible anti-inflammatory agents for CF lung disease" 12th ECFS Basic Science Conference – 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
 - FFC Project#25/2014 **"Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis"**
Emilio Hirsch (Dip. di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino, Centro di Biotecnologia Molecolare), Laudanna Carlo (Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona, Lab. di Traffico Cellulare e Trasduzione del segnale)
- Abstracts
- Richter W. et al. "Disruption of a PI3K γ /PKA/PDE signaling complex augments cAMP/PKA signaling and CFTR activity in non-CF and Δ F508-CF airway epithelial cells" 12th ECFS Basic Science Conference – 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- ## 5 CLINICAL RESEARCH
- ### Ricerca clinica
- FFC Project 2005 **"Infection Control".**
Roberto Buzzetti (Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica)
- Publications
- Buzzetti R. et al. "Controllo e prevenzione delle infezioni respiratorie nel paziente affetto da fibrosi cistica" Edit. Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica. Verona, 2005
 - Festini F. et al. "Isolation measures for prevention of infection with respiratory pathogens in cystic fibrosis: a systematic review" *Journal of Hospital Infection* (2006) 64, 1-6
 - FFC Project#18/2004 **"Early eradication of *P. aeruginosa* and subsequent colonization in cystic fibrosis patients"**
Giovanni Tacccetti (Dipart. di Pediatria, Centro Regionale FC, Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer)
- Publications
- Tacccetti G. et al. "Early eradication therapy against *Pseudomonas Aeruginosa* in cystic fibrosis patients" *Eur Respir. J.* 2005; 26: 458-461;
 - FFC Project# 19/2004 **"Quality control and update of follow-up data in the Italian cystic fibrosis registry: a starting point for the analysis of clinical data and the dissemination of results"** Anna nna Bossi (Ist. Statistica e Biometria - Univ. Milano)
- Abstracts
- Bossi A. et al. "Cystic Fibrosis in adulthood: data from the Italian registry" 28th European CF Conference, Crete, Greece 22-25 June 2005;
 - Piccinini P. et al. "Previsione a 5 anni del numero di pazienti adulti affetti da fibrosi cistica" III Congresso Nazionale SISMEC, Abano Terme: 28 settembre – 1 ottobre 2005;
 - FFC Project#16/2005 **"Diabetes, glucose intolerance and hypoglycemia in Cystic Fibrosis"**
Carla Colombo (Dipart. Pediatria - Centro FC - Fond. IRCCS Osp. Maggiore Policlinico Mangiagalli e Regina Elena – Milano), Alberto Battizzetti (Fond. Centro San Raffaele del Monte Tabor – Milano)
- Publications
- Battizzetti A. et al. "Spontaneous hypoglycaemia in patients with cystic fibrosis" *European Journal of Endocrinology* 2007; 156: 369-376
 - Battizzetti A. et al. "Identification of insulin secretory defects and insulin resistance during oral glucose tolerance test in a cohort of cystic fibrosis patients" *Eur J Endocrinol.* 2011 Jul;165(1):69-76. Epub 2011 Apr 18.
- Abstracts
- Battizzetti A. et al. "Cystic fibrosis related diabetes in anticipated by reduced insulin secretion during OGTT" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, *J. Cyst Fibrosis* 2008; 7, suppl. 3: pp. S22-S23.
- Battezzati A. et al. "Insulin secretory defects identified from OGTT modelling are related to subsequent diabetes and worse pulmonary function in CF patients" *Pediatric pulmonology, Suppl.* 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, p. 344-345**
- FFC Project 2006 **"The CAIRO Project" (Analysis and review of the international scientific literature from the CF registries)**
Roberto Buzzetti (Componente del Comitato di Consulenza Scientifica della Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica), Donatello Salvatore (U. O. Pediatria, Azienda Ospedaliera San Carlo, Potenza)
- Publications
- Buzzetti R. et al. "An overview of international literature from cystic fibrosis registries: 1. Mortality and survival studies in cystic fibrosis", *Journal of Cystic Fibrosis* 9 (2010) 75-83
 - Salvatore D. et al. "An overview of international literature from cystic fibrosis registries: 2. Neonatal screening and nutrition/growth", *Journal of Cystic Fibrosis* 9 (2010) 75-83
 - Salvatore D. et al. "An overview of international literature from cystic fibrosis registries: 3. Disease incidence, genotype/phenotype correlation, microbiology, pregnancy, clinical complications, lung transplantation, and miscellanea", *Journal of Cystic Fibrosis* 10 (2011) 71 - 85
- Abstracts
- Buzzetti R. et al. "Analysis and review of the international scientific literature from the CF registries" NACF, Anaheim, California, October 3-6, 2007
 - Salvatore D. et al. "The CAIRO Project (Comparative analysis of international CF registries overviewed): analysis and review of the scientific literature from CF registries", 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, *J. Cyst Fibrosis* 2008; 7, suppl. 3: pp. S8-S9
 - FFC Project#19/2006 **"Prolonging the duration on site of short peripheral venous catheters used to administer intravenous antibiotic courses in adult subjects with cystic fibrosis. A randomized controlled trial to evaluate the effect of different concentrations of antibiotic in normal saline solution"**
Filippo Festini (Dipart. Pediatria - Centro FC Ospedale Meyer- Firenze)
- Abstracts
- Festini F. et al. "Prolonging the duration of peripheral venous catheters in cystic fibrosis patients. Randomized controlled study on the effect of different concentrations of antibiotics in normal saline solution" 13th Italian Cystic Fibrosis Conference, Milan, 30 Nov. – 2 Dec. 2007, *J. Cyst Fibrosis* 2008; 7, suppl. 3: p. S8.
 - FFC Project#20/2006 **"Prevention of pulmonary exacerbations in children with Cystic Fibrosis, through the modification of intestinal microflora"**

Alfredo Guarino (Dipart. Pediatria - Univ. Federico II Napoli), Carla Colombo (Dipart. Pediatria - Centro FC - Fond. IRCCS Osp. Maggiore Polic. Mangiagalli e Regina Elena - Milano), Lorenzo Morelli (Tecnologie analitiche ed avanzate - Univ. Piacenza)

Publications

- Bruzzese E. et al. "Effect of Lactobacillus GG supplementation on pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis: a pilot study" Clin Nutr. 2007 Jun;26(3):322-8

Abstracts

- Guarino A. et al. "Probiotics in cystic fibrosis: help from old friends" Pediatric pulmonology, Suppl. 31, 2008. 22nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, 22-25 October 2008, pp. 130-131.

- FFC Project#21/2006 **"Efficacy of slow release insulin in cystic fibrosis patients with glucide intolerance and clinical decay"**

Laura Minicucci (Istituto G. Gaslini - Dip.to Pediatria - Centro FC, Genova); Riccardo Haupt (Istituto Gaslini, Sezione di Epidemiologia e Biostatistica, Genova)

Publications

- Minicucci L. et al. "Slow-release insulin in cystic fibrosis patients with glucose intolerance: a randomized clinical trial" Pediatr Diabetes. 2011 Nov 8.

- FFC Project#16/2007 **"Emission distance of Ps aeruginosa from the respiratory tract of infected persons"**

Cesare Braggion (Centro Reg. Toscano FC – Osp. Meyer – Firenze)

Publications

- Festini F. et al. "A 1-m distance is not safe for children with cystic fibrosis at risk for cross-infection with Pseudomonas aeruginosa" Am J Infect Control 2010, Apr;38(3):244-5.

- FFC Project#17/2007 **"Early antibiotic treatment in Ps aeruginosa eradication"**

Giovanni Taccetti (Centro Reg. Toscano FC – Osp. Meyer Firenze), Cariani L. (Lab. Microbiol., Centro Reg. F.C. – Milano)

Publications

- Tacchetti G. et al. "Early antibiotic treatment for Pseudomonas aeruginosa eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicentre study coming two different protocols" Thorax. 2012 Oct;67(10):853-859. Epub 2012 Feb 29.

Abstracts

- Taccetti G. et al. "Early antibiotic treatment for Pseudomonas aeruginosa eradication in cystic fibrosis patients: a randomised multicenter study of two different protocols" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.

- Taccetti G. et al. "Pseudomonas aeruginosa eradication in cystic fibrosis: preliminary data from a randomized multi center study of two different early antibiotic treatment protocols" The 24th Annual North American CF Conference, October 21-23, 2010, Baltimore, Maryland

- Cocchi P et al "Diffusion of MRSA strains in the Italian CF population: a multicenter study" The 24th Annual North American CF Conference, October 21-23, 2010, Baltimore, Maryland

- Dolce D. et al "Immunological monitoring of P. aeruginosa eradication in cystic fibrosis patients: comparison of methods" The 24th Annual North American CF Conference, October 21-23, 2010, Baltimore, Maryland

- Dolce D. et al. "Evaluation of antibody titer anti-P. aeruginosa in patients undergoing eradication therapy" NACFC 2012, Orlando, USA

- Taccetti G. et al. "Is early eradication treatment against P. aeruginosa associated with the emergence of other non-fermenter gram negatives" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA

- FFC Project#16/2008 **"A prospective study about complications of totally implantable central venous access ports in people with CF"**

Alberto Dal Molin (Ospedale Meyer - Dip.to Pediatria, Firenze), Cesare Braggion (Dip. Pediatria - Osp. Meyer – Firenze), Maria Lucia Furnari (Centro Reg. FC - Ospedale dei Bambini – Palermo), Vincenzina Lucidi (Servizio di Supporto FC Ospedale Bambini Gesù – Roma), Elena Rizzi (Centro Reg. FC – Verona), Pietro Cialdella (Centro Reg. FC – Cerignola)

Publications

- Dal Molin A. et al. "Management of totally implantable vascular access devices in patients with cystic fibrosis" Minerva Pediatr. 2009 Oct; 61(5):549-55
- Dal Molin A. et al. "Totally implantable central venous access ports

in patients with cystic fibrosis: a multicenter prospective cohort study" J Vasc Access. 2012 Jan 10:0-.

Abstracts

- Dal Molin A. et al. "National cohort study about complications of totally implantable central venous access ports in Italian people with CF: preliminary results" 23rd Annual North American Cystic Fibrosis Congress, Minneapolis, Minnesota, 15-17 October 2009.
- Dal Molin A et al "Multicenter prospective study about complications of totally implantable central venous access ports in Italian people with CF: preliminary results" J Cyst Fibros. 2009; 8 (Suppl.2):S95

- FFC Project#17/2008 **"Extracorporeal lung assist as bridge to lung transplantation for patients with cystic fibrosis"**

Vito Marco Ranieri (Dip. Discipline Medico Chirurgiche Università degli studi di Torino Sez. Anestesia e Rianimazione)

Publications

- Ricci D. et al. "The use of CO₂ removal devices in patients awaiting lung transplantation: an intial experience" Transplant Proc. 2010 May;42(4):1255-8

- FFC Project#23/2009 **"Modulation of intestinal and extraintestinal inflammation in infants with cystic fibrosis by early modification of intestinal microflora"**

Alfredo Guarino (Dipartimento di Pediatria - Università degli Studi "Federico II" Napoli), Cesare Braggion (Centro Regionale Fibrosi Cistica - Dipart. Medicina Pediatrica - Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer - Firenze) Francesca Pardo (Centro Regionale Fibrosi Cistica - 2° U.O. di Pediatria, Ospedale dei Bambini "G. Di Cristina" - Palermo), Lorenzo Morelli (Istituto di Microbiologia - Università Cattolica del Sacro Cuore - Piacenza)

Publications

- Bruzzese E. et al. "Disrupted intestinal microbiota and intestinal inflammation in children with cystic fibrosis and its restoration with Lactobacillus GG: a randomised clinical trial" PLoS One. 2014 Feb 19;9(2):e87796

Abstracts

- Roberto E. et al. "Intestinal inflammation and intestinal microbiota composition in children with cystic fibrosis" XVII National Congress of SIGEN, Pescara, Italy, 7-9 October 2010.
- Roberto E. et al. "Intestinal inflammation and intestinal microbiota composition in children with cystic fibrosis" Digestive and Liver Disease, 42S (2010), S321-S376.
- Bruzzese E. et al. "Age-Relation pattern of intestinal microflora in children with cystic fibrosis", 44th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN), Sorrento, Italy, 25-28 May 2011.

- FFC Project#23/2010 **"The cystic fibrosis newborn screening in Italy. Survey for assessment of technical-scientific, organizational and psycho-relational issues"**

Teresa Repetto (A.O.U. "A. Meyer", Centro Regionale Toscano Fibrosi Cistica, Firenze)

Abstracts

- Repetto T. et al. "Screening neonatale per fibrosi cistica in Italia: studio di audit sugli aspetti tecnici-scientifici, organizzativi e relazionali" SIMMENS SIMPeD, 28 ottobre 2011
- Repetto T. et al. "The cystic fibrosis newborn screening in Italy. Survey for assessment of technical-scientific and organizational issues" 35th ECFC, 6-9 June, 2012, Dublin, Ireland
- Repetto T. et al. "Cystic fibrosis newborn screening in Italy: educational aspect", NACFC 2012, Orlando, Florida, USA

- FFC Project#25/2011 **"DWI (Diffusion weighted Imaging) a new tool to assess inflammation in CF population with pulmonary exacerbation"** Giovanni Morana (Servizio Fibrosi Cistica, Ospedale Ca' Foncello, Treviso)

Abstracts

- De Leo F. et al. "Functional MR to monitoring cystic fibrosis (CF) lung disease" Chicago RNSA (25-30 novembre 2012)
- De Leo F. et al. "Functional MR to monitoring cystic fibrosis (CF) lung disease" Congresso ESMRMB, 4-6 ottobre 2012, Lisbona
- De Leo F. et al. "Ruolo del Diffusion Weighted Imaging (DWI) nel follow-up di pazienti affetti da fibrosi cistica (FC), 3 Congresso annuale dell'Italian Chapter dell'ISMRM, Napoli, 19 aprile 2012
- De Leo F. et al. "Lung-MRI to monitoring cystic fibrosis (CF) patients with pulmonary exacerbation" 36th ECFS Conference, 12-15 June, 2013 Lisbon, Portugal

- FFC Project#26/2011 **“Testing human monocytes as a new tool for clinical and preclinical research in CF”**

Claudio Sorio (Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona), Mario Rosario Buffelli (Dip. Scienze Neurologiche, Neuropsicologiche, Morfologiche e Motorie, Università di Verona)

Publications

- Bellisola et al. “The identification of cystic fibrosis (CF) cells and their pharmacological correction by mid-infrared microspectroscopy and unsupervised data analysis methods” *ScienceJet* 2014;3:51
- Calder S. et al. “Challenging the diagnosis of Cystic Fibrosis in a patient carrying the 186-8T/C allelic variant in the CF Transmembrane Conductance Regulator gene” *BMC Pulm Med.* 2014 Mar 13;14:44. doi: 10.1186/1471-2466-14-44.
- FFC Project#20/2012 **“Early antibiotic treatment for MRSA eradication in cystic fibrosis patients: a randomised multicentre study”**

Giovanni Taccetti (Centro Regionale Fibrosi Cistica, AOU “A. Meyer”, Firenze), Diana Costantini (Centro FC, Lab. Patologia Clinica, Fondazione IRCCS Ca’ Granda, Milano), Mirella Collura (Centro FC, Ospedale “G. Di Cristina”, Palermo), Giuseppe Magazzù (Centro FC, Messina), Valeria Raia (Centro FC, Napoli)

Abstracts

- Cocchi P. et al. “Comparative in vitro activity of temocillin against Burkholderia cepacia complex” *Ped Pulmonol* 2012 Suppl.
- Cocchi P. et al. “Genetic background of MRSA collected from cystic fibrosis patients versus MRSA collected from Intensive Care Unit (ICU) patients : does any difference exist?” *Ped Pulmonol* 2012 Suppl.
- Galici V. et al. “Clinical impact of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus infection in cystic fibrosis patients: a longitudinal multicenter Italian study” *Ped Pulmonol* 2013 Suppl.
- Galici V. et al. “Early antibiotic treatment for MRSA eradication in cystic fibrosis patients: a randomized multicenter study” 28th North American Conference, 2014, Atlanta, USA, *Ped Pulmonol* 2014 Suppl.
- Cocchi P. et al. “Emergence of a Panton-Valentine leukocidin (PVL) positive MRSA strain in cystic fibrosis patients” *J Cyst Fibros* 2014; 13:S61

- FFC Project#21/2013 **“Clinical implications of the natural history of insulin secretory and sensitivity defects in cystic fibrosis”**

Alberto Battezzati (International Center for the Assessment of Nutritional Status (ICANS) - DeFENS Università di Milano), Carla Colombo (Dip. Scienze Materno Infantili, Università di Milano, Centro regionale FC), Andrea Mari (Istituto di Ingegneria Biomedica, ISIB-CNR, Padova)

Publications

- Battezzati A. et al. “Age- and Sex-Dependent Distribution of OGTT-Related Variables in a Population of Cystic Fibrosis Patients” *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Aug;100(8):2963-71

Abstracts

- Battezzati A, Bedogni G, Zazzeron L et al. “Defective beta cell function measured during OGTT is a long term diabetes predictor in cystic fibrosis” *Pediatric Pulmonology*, Volume 49, Issue S38, Article first published online: 4 SEP 2014

- FFC Project#22/2013 **“Citizens’ jury and decision making on cystic fibrosis carrier screening: to screen or not to screen?”**

Paola Mosconi (Ist. di Ricerche Farmacologiche “Mario Negri” Laboratory for medical research and consumer involvement), Carlo Castellani (Centro fibrosi cistica, AOUI Verona)

Publications

- Colombo C. et al. “Alla scoperta del portatore sano della fibrosi cistica” *Ric&Pra* 2015;31(2):82-85
- Mosconi P. et al. “Giurie dei cittadini: coinvolgere e deliberare nell’interesse pubblico. Anche l’Italia è un paese di Giurie di cittadini” *Ric&Pra* 2015;31(4):149-158

Abstracts

- Colombo C. et al. “How to provide evidence-based information and translate Cochrane reviews to lay people in a deliberative setting: the Italian and the Australian citizen juries experience on population screening” 23rd Cochrane Colloquium Vienna, 3-7 October 2015
- Castellani C. et al. “Citizens’ jury on cystic fibrosis carrier screening: yes or no?” 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, 9-11 October 2014 Atlanta, USA.

- FFC#27/2014 **“Transmissibility and clinical significance of *Mycobacterium abscessus* in patients with cystic fibrosis”**

Tortoli Enrico (Unità Patogeni Batterici Emergenti, Div. di Immunologia, trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano), Lisa Cariani (Fondazione IRCCS Ca’ Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano), Clelia Di Serio (CUSSB-Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano), Stefan Niemann (Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel)

Abstracts

- Trovato A. et al. “Analysis of *Mycobacterium abscessus* genetic variability provided by 14-locus variable-number tandem-repeat in patients with cystic fibrosis” 36th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, 28th June – 1st July 2015, Riga, Latvia
- FFC Project#29/2014 **“Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate”**

Publications

- Stigliani M. et al. “Rheological properties of Cystic Fibrosis bronchial secretion and in vitro drug permeation study: the effect of sodium bicarbonate” *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, in press
- Gianotti A. et al. “Pharmacological rescue of mutant CFTR protein improves the viscoelastic properties of CF mucus” *J Cyst Fibros*, in press

Abstracts

- Stigliani M. et al. “Rheological properties of cystic fibrosis sputum and in vitro drug permeation study” 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Gianotti A. et al. “Properties of airway mucus in cystic fibrosis: effect of bicarbonate”, 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th-17th 2015, Rome, Italy

FFC Facilities

- **Cystic Fibrosis animal Core facility (CFaCore)**

Alessandra Bragonzi (Fondazione Centro San Raffaele)

Publications

- Bragonzi A et al “Murine models of acute and chronic lung infection with cystic fibrosis pathogens” *Int J Med Microbiol.* 2010 Dec;300(8):584-93. Epub 2010 Oct 14. Review

- **Cystic Fibrosis Database (CFDB)**

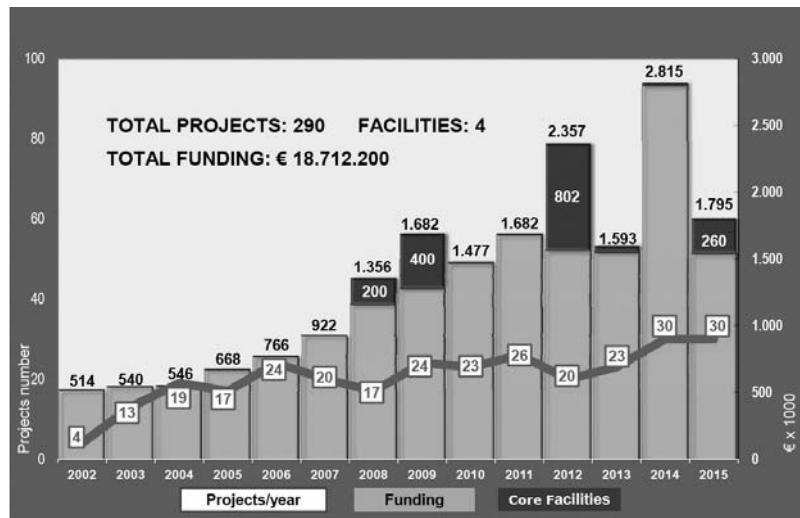
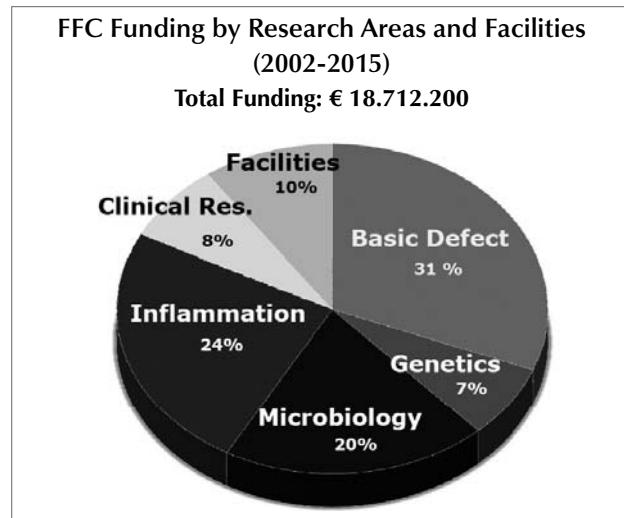
Publications

- Buzzetti R et Al. “CFDB (cystic fibrosis database): a new web-based tool for cystic fibrosis specialists”. *Pediatr Pulmonol.* 2014 Sep;49(9):938-40.

Appendix 2

2002-2015 FFC Projects: funding, publications and impact factor

Progetti FFC 2002-2015: finanziamento, pubblicazioni e impact factor



Impact factor (IF): FFC Publications by Research Areas (2002-2015)

Research Areas	N. Publications	Total IF/area	Mean IF/area
Basic Defect	101	472,90	4,68
Genetics	37	180,08	4,87
Microbiology	153	647,42	4,23
Inflammation	100	512,77	5,13
Clinical Research	18	54,17	3,00
Facilities	2	5,10	2,55
TOTAL	411	1872,44	4,55

Institutes and Laboratories involved in the 291 projects funded by Italian CF Research Foundation 2002-2015

Istituti e Laboratori attivi nei 291 progetti finanziati da FFC dal 2002 al 2015

ITALY

ABRUZZO

- Dip. Scienze Biomediche, Lab Medicina Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti
- Dip. Medicina Sperimentale, Università dell'Aquila, L'Aquila
- Dip. Biologia Cellulare ed Oncologia, Consorzio Mario Negri Sud, S. Maria Imbaro (Chieti)
- Dip. Farmacologia Translazionale, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti
- Lab. di Biologia e Farmacologia Vascolare, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti
- Lab. Medicina Molecolare, Ce.S.I., Universita Chieti-Pescara Centro FC, Teramo

CALABRIA

- Lab. Clinico Patologico -Ospedale di Soverato, Soverato (CZ)

CAMPANIA

- Dip. Biochimica e Biotecnologie Mediche, CEINGE Biotecnologie Avanzate s.c.a.r.l., Università Federico II, Napoli
- Dip. Pediatria, Università Federico II, Napoli
- Lab. Microbiologia Funzionale, Università Federico II, Napoli
- Dip. Chimica Tossicologica e Farmaceutica, Univ. Federico II, Napoli - Dip. Farmacologia Sperimentale, Napoli
- Dip. Chimica e Biochimica organica, Univ. Federico II, Napoli
- TIGEM, Telethon, Napoli
- Dip. Farmacia, Università di Salerno
- Istituto di Biochimica delle Proteine, CNR, Napoli
- Istituto di Genetica e Biofisica, CNR, Napoli
- Istituto di Chimica Molecolare, CNR, Napoli
- Dip. Biologia Strutturale e Funzionale, Università "Federico II", Napoli
- Centro FC, Dip. Pediatria, Università Federico II, Napoli
- Istituto di Biostrutture e Bioimmagini, CNR, Napoli

EMILIA ROMAGNA

- Plesso Biotecnologico Integrato, Università di Parma, Parma
- Dip. Pediatria, Università di Parma, Parma
- Dip. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara, Ferrara
- Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Università di Ferrara
- Dip. Biochimica, Istituto Nazionale Ricerca Cardiovascolare, Università di Bologna e Cesena
- Dip. Tecnologie Analitiche Avanzate, Piacenza
- Dip. Scienze cliniche, Università degli Studi di Parma
- Dip. Oncologia, Ematologia e Malattie respiratorie, Università degli Studi di Modena
- Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna
- Dip. Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Università di Ferrara, Signal Transduction Lab

FRIULI VENEZIA GIULIA

- International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB) -Trieste
- Dip. di Scienze della Riproduzione e dello Sviluppo - Università di Trieste
- I.R.C.C.S. Burlo Garofolo, Trieste
- Dip. Biochimica, Biofisica e Chimica Macrocellulare, Università di Trieste
- Dip. Scienze Biomediche, Università di Trieste
- Dip. Scienze della Vita, Università degli Studi di Trieste

LAZIO

- Dip. Biologia Cellulare e dello Sviluppo -Università La Sapienza, Roma
- Dip. di Biopatologia e Diagnostica per Immagini -Università Tor Vergata, Roma
- Dip. di Biologia -Università Tor Vergata, Roma
- Dip. Biotecnologie Cellulari ed Ematologia - Università La Sapienza, Roma
- Istituto di Clinica Pediatrica, Centro Regionale FC -Università Roma 1 "La Sapienza", Roma
- Dip.di Fisiopatologia Medica - Università La Sapienza, Roma
- Technical Unit for Sustainable Development and Innovation of Agro-Industrial System, ENEA Casaccia Research Center, Lab. Microbiology, Rome
- Lab. di Microbiologia-Ospedale Bambin Gesù-Roma
- Lab. Microbiologia Molecolare - Università La Sapienza, Roma
- Istituto di Microbiologia - Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- Dip. Farmacologia, Facoltà di Medicina, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- Dip. Microbiologia -Università di Roma 3, Roma
- Dip. Salute Pubblica e biologia cellulare - Università Tor Vergata, Roma
- Dip. Neuroscienze Sperimentalni, Fondazione S. Lucia, Roma
- Dip. Scienze di Sanità Pubblica - Univ. "La Sapienza", Roma
- Dip. di Medicina interna e vascolare - Univ. "La Sapienza", Roma
- Lab. di Microbiologia Ospedale Pediatrico Bambin Gesù, Roma
- Serv. Supporto FC, Osp. Bambin Gesù, Roma
- Lab. Microbiologia Molecolare e Biotecnologia dei Microrganismi, Dip. Biologia, "Università Roma Tre"
- Lab. Microbiologia Clinica e Virologia, Dipartimento di Biologia, "Università Roma Tre", Roma;
- Dip. Scienze Biochimiche - Università "La Sapienza", Roma
- Dip. Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, Università "La Sapienza", Roma
- Centro Fibrosi Cistica, Policlinico Umberto I, Roma
- Dip. Salute pubblica e Malattie Infettive, Università "La Sapienza", Roma
- Dip. Biologia e Biotecnologie, Università "La Sapienza", Roma
- IRBM Science Park, Roma
- Dip. Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

LIGURIA

- Istituto di Biofisica -CNR, Genova
- Università di Genova - Lab. di Fisiopatologia dell'Uremia
- Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Genetica umana E.O. Ospedali Galliera, Genova
- Lab. Genetica Molecolare -Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Medicina Molecolare -Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Centrale Analisi -Istituto G. Gaslini, Genova
- Sezione Microbiologia -DISCAT, Genova
- ARPAL (Agenzia Reg. Protezione Ambiente Ligure), Genova
- Lab. Diagnostica e Ricerca Malattie Infettive, Dipart. Pediatria-Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Pediatria - Lab. Microbiologia - Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Pediatria - Centro Fibrosi Cistica - Istituto G. Gaslini, Genova
- Sezione di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Medicina Sperimentale - Università degli Studi di Genova
- Lab. Fisiopatologia molecolare dei canali ionici - Centro Biotecnologie Avanzate, Ist. Gaslini, Genova
- Dip. Farmacia (DIFAR), Università di Genova
- Istituto Italiano Tecnologie, Dep. Drug Discovery, Genova

LOMBARDIA

- Istituto Statistica e Biometria-Università di Milano, Milano
- Dip. Medicina Specialistica e dei Trapianti-Ospedali Riuniti, Bergamo
- Dip. Immunologia e Clinica dei Trapianti - Ospedali Riuniti, Bergamo
- Lab. Genetica Medica A. O. Istituti Clinici di Perfezionamento, Milano
- Dip. Bioscienze - Università degli Studi di Milano
- Dip. Genetica e Microbiologia -Università di Pavia
- Dip. Pediatria, Centro Fibrosi Cistica - Fondazione IRCCS, Policlinico Mangiagalli e Regina Elena, Milano
- Lab. Microbiologia, Centro Fibrosi Cistica, Milano
- Unità di Genomica per Diagnosi di Patologie Umane- Fondazione Centro San Raffaele, Milano
- Istituto per le Tecnologie Biomediche, CNR, Segrate (MI)
- Lab. Ricerca Clinica -Istituto per la Ricerca Farmacologica "M. Negri", Milano
- Dip. Chimica Organica ed Industriale, Università di Milano
- Dip. Scienze Molecolari Agroalimentari, Università di Milano
- Dip. Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca, Milano
- Dipartimento di chirurgia e medicina interdisciplinare - Università Bicocca, Milano
- Div. Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto "San Raffaele", Milano
- Istituto di Ricerche Chimiche e Biochimiche, Istituto "G. Ronzoni", Milano
- Dip. Biologia e Genetica per le Scienze Mediche, Università degli Studi di Milano
- Lab. Biologia Clinica Molecolare e Citogenetica, Università Vita-Salute HSR, Milano
- Unità Patogeni Batterici Emergenti, Div. di Immunologia, trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano
- Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano
- Istituto Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Lab. for medical research and consumer involvement
- Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università Bicocca, Milano
- Lab. Biochimica e Biologia Molecolare, Dip. Medicina, Ospedale S. Paolo, Università degli Studi di Milano
- Dip. Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano
- Dip. Ingegneria Strutturale, Politecnico di Milano
- Centro FC, Lab. Patologia Clinica, Fondazione IRCCSS, Ca' Granda, Milano

- Istituto europeo per la ricerca sulla fibrosi cistica (I.E.R.F.C.) Fondazione ONLUS c/o HSR, Milano
- Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Brescia
- Dip. Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano
- International Center for the Assessment of Nutritional Status (ICANS) - DeFENS Università di Milano
- Humanitas University, Rozzano, Milano
- Computational Sciences, Chemical Core Technologies Department, Nerviano Medical Sciences Srl, Nerviano, (MI)
- Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università di Milano, Segrate (MI)
- Dip. Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Università di Milano
- Università di Brescia, Ospedale dei Bambini, AO Spedali Civili, Brescia

MARCHE

- Centro Fibrosi Cistica-Ospedale dei Bambini - Centro FC, Ancona

PIEMONTE

- Centro FC Adulti Divisione Malattie Respiratorie, Dip. di Scienze Biologiche e Cliniche-Università di Torino, Ospedale S. Luigi Gonzaga, Orbassano (TO)
- Dip. di Genetica, Biologia e Biochimica -Università di Torino
- Dip. di Patologia Clinica, S.S. di Diagnostica Molecolare e Test Genetici Integrati, Torino
- Dip. Discipline medico chirurgiche, Sez. Anestesia e rianimazione, Univ. Torino
- Dip. di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università di Torino
- Dip. di Scienze cliniche e biologiche, Università di Torino
- Centro di biotecnologia molecolare, Università di Torino

PUGLIA

- Dip. Fisiologia Generale ed Ambientatale - Università di Bari, Bari
- Servizio Fibrosi Cistica-Ospedale di Cerignola, Cerignola
- Dip. Scienze Biomediche - Università di Foggia
- Dipartimento di Pediatria - Policlinico - Università di Bari
- Istituto Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari

SARDEGNA

- Dip. di Scienze biomediche e biotecnologie, Lab. Genetica Molecolare - Ospedale Reg. Microcitemie, Università di Cagliari
- Dip. Tossicologia - Sez. Patologia e Oncologia Molecolare, Università di Cagliari

SICILIA

- Istituto di Biofisica-CNR, Palermo
- Centro Fibrosi Cistica-Policlinico, Messina,
- Centro Regionale FC-Ospedale dei Bambini "G. di Cristina", Palermo
- Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati, CNR, Palermo
- Dipartimento Scienze e Biotecnologie Molecolari e Biomolecolari, Università degli Studi di Palermo
- Dipartimento di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università degli Studi di Palermo

TOSCANA

- Dip. Biologia Animale e Genetica-Università di Firenze
- Lab. Proteomica Funzionale, Dip. Biologia Molecolare, Università di Pisa
- Dip. Pediatria-Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer, Firenze
- Servizio Fibrosi Cistica-Ospedale di Livorno, Livorno
- Dip. Patologia Sperimentale, Biotecnologie Mediche, Infettivologia ed Epidemiologia - Università di Pisa

- Unità Bioinformatica, Centro di Ricerche Chiron, Siena
- Lab. Fisiologia Microbica e Biotecnologia, Dip. Biologia Molecolare, Policlinico "Santa Maria alle Scotte", Università di Siena
- Dipartimento Diagnostica di Laboratorio Servizio di Diagnistica Genetica- Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze
- Dip. Biologia Molecolare, Sez. Chimica Biologica - Università di Siena
- Dip. Biotecnologia, Chimica e Farmacia, Università di Siena
- Dip. Biotecnologie Mediche, Università di Siena
- Dip. Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Firenze
- Dip. Biologia dell'Evoluzione, Università degli Studi di Firenze
- Dip. Scienze Sanitarie, Unità di Farmacologia Clinica e Oncologica, Università di Firenze
- Dip. Ricerca Traslazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa

UMBRIA

- Dipart. Medicina Interna - Sez. Biochimica Applicata e Scienze Nutrizionali - Università degli Studi di Perugia
- Dipart. Medicina Sperimentale e Scienze Biomediche - Università degli Studi di Perugia

VENETO

- Medicina Interna, Università degli Studi di Verona, Verona
- Istituto Veneto Medicina Molecolare, Padova
- Servizio Clinico di Genetica e Screening neonatale, Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Dip. di Patologia, Sezione immunologia, Università degli Studi di Verona
- Sezione di Anatomia ed Istologia, Dip. di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi di Verona
- Lab. Patologia Molecolare, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Dip. Scienze della Vita e della Riproduzione, Sezione di Biologia e Genetica, Università degli Studi di Verona
- Dip. Scienze Biomediche e Chirurgiche, Divisione di Nefrologia - Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. di Patologia e Diagnostica - Patologia Generale - Università degli Studi di Verona
- Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona, Lab. di Traffico Cellulare e Trasduzione del segnale
- Lab. di Microbiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria di, Verona
- Facoltà di Scienze della Formazione, Università degli Studi di Verona
- Dip. Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di Verona
- Dip. Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova
- Dip. Scienze Biomediche, Università degli Studi di Padova
- Dip. Scienze Neurologiche e del Movimento - Università degli Studi di Verona
- Servizio fibrosi cistica, Ospedale Ca' Foncello, Treviso
- Ist. di Clinica Pediatrica, AO e Università degli studi, Padova
- Istituto di Ingegneria Biomedica, ISIB-CNR, Padova

EUROPE

BELGIUM

- Dept. of Clinical Chemistry, Catholic University of Louvain
- St. Luc University Hospital, Louvain
- Lab. of Molecular Bacteriology ULB, Faculty of Medicine, Bruxelles

FRANCE

- Institute of Cell Physiology and Biology, University of Poitiers
- Pediatric Cystic Fibrosis Center of Trousseau Hospital - Inserm U938 / UPMC, Paris
- Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, INSERM U1138

GERMANY

- Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Tübingen
- Institute für Medizinische Mikrobiologie, Univeristats Klinikum, Munster
- Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel

IRELAND

- Queen's University Belfast, Respiratory Medicine Research Group, Belfast

SWITZERLAND

- Dept. of Pediatrics, University Hospital and Faculty of Medicine, Geneva
- Polyphor Ltd, Switzerland, Geneva

THE NETHERLANDS

- Dept. Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam
- Dept. of Pediatric Pulmonology and Dept. of Radiology, Erasmus Medical Centre, Sophia Children's Hospital, Rotterdam

UNITED KINGDOM

- Dept. of Respiratory Medicine, Freeman Hospital, The Medical School University of Newcastle
- School of Biological Science, University of Liverpool
- Division of Pharmacology, Pharmacy and Biomedical Science, University of Portsmouth

OUTSIDE EUROPE

CANADA

- Dept. of Microbiology and Immunology, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

ISRAEL

- Schulich Faculty of Chemistry Technion - Israel Institute of Technology, Haifa
- Dept. of Biological Chemistry, The Weizmann Institute of Science, Haifa
- Clinical Microbiology and Immunology, Tel Aviv University

UNITED STATES

- Dept. Pediatrics, Respiratory Medicine, Yale University School of Medicine

Appendix 4

International reviewers of FFC projects

ASIA

Hong Kong

Dennis Lo Yuk Ming

India

Vikas Gautam

Amit Misra

Israel

Batsheva Kerem

Orit Reish

Hanoch Senderowitz

Japan

Hiroshi Kubo

AUSTRALIA

Scott Bell

Margaret Cooley

Martin Delatycki

Tim Kidd

Manohar Garg

Allan Glanville

John Massie

John Mattick

David Reid

Louis Rendina

Cynthia Withchurch

CANADA

André Cantin

Tom Clandinin

Elizabeth Cowley

Lori Burrows

Peter Durie

Hartmut Grasemann

Bob Hancock

Yeger Herman

Sheila Innis

Roger Levesque

Paul Linsdell

Gergerly Lukacs

Tong-jun Lin

Liu Mingyao

Robert Newton

Michael Parkins

Grace Parraga

Paul Pencharz

Danuta Radzioch

Felix Ratjen

Andrew Sandford

Molly Schmid

Aaron Shawn

Christopher Sibley

Pamela Sokol

David Speert

Miguel Valvano

Valerie Waters

Michael Wheeler

Herman Yeger

Julian Zielenksy

EUROPE

Austria

Thomas Eiwegger

Belgium

Karim Amighi

Gilles Brackman

Jean Jacques Cassiman

Tom Coenye

Pierre Cornelis

Harry Cuppens

Christiane De Boeck

Ingeborg Liebaers

Savvas Savvides

Peter Vandamme

Czech Republic

Jan Krejsek

Denmark

Thomas Bjarnsholt

Oana Ciocu

Niels Hojby

Christian Koch

Marie Johannesson

Jette Elisabeth Kristiansen

Søren Molin

France

Emmanuel Andres

Frederic Becq

Frank Brovillard

Christelle Coraux

Laurent Debarbieux

Laurence Delhaes

Isabelle Durieu

Alexander Edelman

Brigitte Fauroux

Claude Ferec

Chantal Gauthier

Emanuelle Girondon

Vincent Goffin

Aurélie Goyenvalle

Genevieve Hery Arnaud

Jacky Jaquot

Jean Paul Latgé

Patricia Lemarchand

Christine Linard

Olivier Mignen

Anne Munck

Patrizia Paterlini-Bréchot

Jean-Marc Rolain

Marie Catherine Romey

Juliet Royet

Isabelle Sermet

Virginie Scotet

Olivier Tabary

Pascal Trouvè

Clarisso Vandebrouck

Germany

Robert Bals

Michael De Vreese

Jahn Dieter

Gerd Döring

Stephan Fischer

Christoph Freiberg

Matthias Griese

Erick Gulbins

Dominik Hartl

Andreas Hector

Jürgen Heesemann

Barbara Kahl

Winfried Kern

Wolfgang Kuebler

Karl Kunzelmann

Jochen G. Mainz

Frank-Michael Müller

Markus Pietsch

Hermann Schillers

Ursula Seidler

Stefan Stamm

Gratiana Steinkamp

Burkhard Tuemmler

Christiane Wolz

Greece

George Makrydimas

Ireland

Siobhán McClean

Emer Reeves

Italy

Giovanna Batoni

Flavia Bazzoni

Antonio De Flora

Fabrizio De Ponti

Silvio Garattini

Marco Lucarelli

Marco Trabucchi

Portugal

Margarida Amaral

Jorge Leitão

Spain

Raquel Barrio

Jaume Bertranpetti

Ana Bustamante-Aragones

Xavier Estivill

Sweden

Gunnar C. Hansson

Ute Romling

Birgitta Strandvik

Craig Wheelock

Peter Zygmunt

Switzerland

Leo Eberl

Dieter Haas

Hans Peter Fisher

Adin Ross-Gillespie

Bernard Rossier

The Netherlands

Touw Daan

Hugo De Jonge

Peter Klijn

Lidewij Henneman

Charlotte Robroeks

Bernt Van Der Blink

U.K. – Northern Ireland

Matthew Avison

Maria G. Belvisi

Charlotte Billington

James Birchall

Marina Botto

Alan R. Cowley

Andrew Bush

Philip Calder

Steven Conway

Jane Davies

Louise Donnelly

Robert Dorner

Alistair Duff

Stuart Elborn

Madeleine Ennis

Glenda Esmond

Thomas Evans

Alain Filloux

Andres Floto

Peter Gahan

Claire Glasscoe

John Govan

Michael Gray

Robert Gray

Catherine Greene

Andrew Greening

Uta Griesenbach

Alexander Horsley

Anil Mehta

Maurice Hallett

Andrew Jones

Julian Parkhill

Mauro Perretti

Tyrone Pitt

Daniela Riccardi

Geraint Rogers

Martin Savage

David Sheppard

Maurice Super

Hui-leng Tan

Sabeel Valappil

Ludovic Vallier

Paola Vergani

John Widdicombe

Craig Winstanley

SOUTH AMERICA

Brazil

Margaret Cristina da Silva

Boguszewski

Veralice Meireles Sales de Bruin

Mauro M. Teixeira

Costa Rica

Arturo Solis

Venezuela

Juan Bautista De Sanctis

U.S.A.

Alabama

Bakhrom K. Berdiev

David Bedwell

John Paul Clancy

Lisa Schwiebert

Robert Wang

California

William Balch

Annelise Barron

Carroll Cross

Beate Illek

Ryan Hunter

Ronald Kopito

Terry Machen

Richard Moss

Malla M. Reddy

Evan Powers

Paul Quinton

Charles M. Strom

Alan Verkman

Jeffrey Wine

Colorado

Frank Accurso

Brian Day

Brian Doctor

Jerry A. Nick

Scott Sagel	Maryland	New Hampshire	Oregon
Herbert Schweizer	Biswas Roopa	Dean Madden	David C. Dawson
Jeff Wagener	Gary Cutting	George A. O'Toole	Bruce L. Geller
Marty Zamora	Robert K. Ernst	New York	Xuheong Liu
Connecticut	William Guggino	Isabel Aznarez	Pennsylvania
Nadia Ameen	Andy Kilianski	Nazzareno Ballatori	Robert Bucki
Diane Krause	Sam Lai	David Goldfarb	Raymond Frizzell
Li Tianbo	Gary Mansfield	Cole Haynes	David Orenstein
Florida	Christian Merlo	Alice Prince	Douglas Wilson
Alexander Cole	Peter Mogayzel	Lisa Saiman	South Carolina
Alexandra Quittner	Amanda Oglesby-Sherrouse	Patricia Sime	Patrick Flume
Georgia	Kenneth N. Olivier	Stefan Worgall	Tennessee
Scott Grosse	Jonathan Orens	Tilla S. Worgall	John Christman
Illinois	Harvey Pollard	North Carolina	Michael Laposata
John Christman	Jerry Wright	Adler Kenneth B.	Vasiliy V. Polosukhin
Ann Harris	Pamela Zeitlin	Robert Aris	Texas
Anver Kuliev	Massachusetts	Michael Boyle	Carolyn Cannon
Le Shen	Martin Joyce-Brady	Charles Esther	Brian R Davis
Lee Shulman	Terence Flotte	Martina Gentzsch	Philip Thomas
Jerrold Turner	Steven Freedman	Andrew Ghio	Utah
Indiana	Bryan Hurley	Mehmet Kesimer	Valerie Hudson
Roman Dziarski	Robert Kolter	Michael Knowles	Guy Zimmerman
Won Kyoo Cho	John Ladias	Marianne Muhlebach	Vermont
Irina Petrache	Bruce Levy	John Riordan	Daniel J. Weiss
Iowa	Stephen Lory	Gabriel Sherif	Virginia
Dwight C. Look	Gerald Pier	Ohio	Joanna Goldberg
Patrick Sinn	Stefan Ryter	Amal Amer	Dennis E. Ohman
Ziying Yan	Gregory Sawiki	Melvin Berger	Bruce Rubin
Joseph Zabner	Charles Serhan	Maria Britto	Washington
Kansas	Susan Slaugenhouette	James Chmiel	Moira Aitken
John Gatti	Michigan	Mitchell Drumm	Jane Burns
Kentucky	John Li Puma	Dana S. Hardin	Chris Goss
Stefan Stamm	Mary O'Riodan	Daniel Hassett	E. Peter Greenberg
Jay Zwischenberger	Kathleen Stringer	Scott Herness	Lucas Hoffmann
Joseph Zwischenberger	Minnesota	Craig Hodges	Samuel I. Miller
Louisiana	Robert C. Huebert	Lloyd Horrocks	Matt Parsek
Jay K. Kolls	Mark Kurth	Christopher Karp	Margaret Rosenfeld
Guoshun Wang	Antoinette Moran	Thomas J. Kelley	Wisconsin
Maine	Missouri	Michael Konstan	Philip Farrel
Robert Owens	Carolyn Cannon	Sanjay Rajagopalan	Don Sanders
	Thalachallour Mohanakumar	Adriano Tonelli	
		Daniel Wozniak	

FFC Research funding (1997-2015)

Appendix 5

Research area	CF research costs supported by FFC Foundation (€)										2015	2002-2015		
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
1. CFTR physiopathology & new therapy 2 proj.	263.000	238.000	76.000	205.000	220.000	195.000	375.000	470.000	235.000	565.000	355.000	1.604.000	487.000	5.493.000 77 proj.
2. Genetics	90.000	113.000	110.000	80.000	113.000	195.000	130.000	310.000	5 proj.	6 proj.	6 proj.	9 proj.	9 proj.	
3. Microbiology	18.000	105.000	95.000	145.000	232.000	291.000	260.000	270.000	395.000	373.000	343.000	335.000	230.000	440.000 26 proj. 81 proj.
4. Inflammation	211.000	55.000	163.000	123.000	113.000	163.000	345.000	295.000	485.000	520.000	440.000	529.000	615.000	250.000 4 proj. 71 proj.
5. Epidemiology & Clinical Res	20.000	53.000	31.000	75.000	70.000	85.000	130.000	35.000	140.000	120.000	180.000	153.000	273.000	1.365.000 35 proj.
Core Facilities							200.000	400.000	6.500	7.200	802.000	50.000	20.000	260.000 4 Facilities Primary Cult. (CFDB incl.)
Direct costs	492.000	508.000	500.000	614.000	705.000	857.000	1.280.000	1.600.000	1.395.000	1.585.200	2.270.000	1.510.000	2.700.000	1.710.000 17.722.700
Research projects	4 proj.	13 proj.	19 proj.	24 proj.	20 proj.	17 proj.+1F.	24 proj.+1F.	23 proj.+1F.	26 proj.+4F.	23 proj.+1F.	20 proj.+1F.	30 proj.+1F.	30 proj.+3F.	290 proj.+4F.
Management costs	21.500	32.000	46.000	54.000	61.000	65.000	76.000	82.000	85.000	97.000	83.000	115.000	85.000	989.500
TOTAL COSTS	513.500	540.000	546.000	668.000	766.000	922.000	1.356.000	1.682.000	1.476.500	1.682.200	2.357.000	1.593.000	2.815.000	1.795.000 18.712.200

Research investment 2002 - 2015:

18.712.200 €

Research support at Verona CF centre 1997 - 2002:

777.217 €

Total research investment 1997 - 2015:

19.489.417 €

FFC projects 2013-2015 adopted by donors

Progetti FFC 2013-2015 adottati da donatori

FFC#1/2013

Analisi del meccanismo di azione mediante il quale la trimetilangelicina (TMA) ripristina l'espressione funzionale della proteina F508del CFTR

Responsabile: Valeria Casavola (Dip. di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica, Università di Bari)
Costo: € 100.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Vicenza



FFC#2/2013

Un approccio basato sulle cellule staminali pluripotenti indotte (iPS) per il ripopolamento e la correzione fenotipica dell'epitelio polmonare affetto da fibrosi cistica

Responsabile: Roberto Loi (Dip. Scienze Biomediche, Unità di Oncologia e Patologia Molecolare, Università di Cagliari)

Costo: € 25.000

Adottato totalmente da: Studio Gia.Da Onlus



FFC#3/2013

Correttori della ΔF508-CFTR derivanti da disegno computazionale e da composti naturali, classificati come sicuri, per una rapida applicazione clinica

Responsabile: Mauro Mazzei (Dipartimento di Farmacia, Università di Genova)
Costo: € 100.000

Adottato parzialmente da: Progetto **Foreverland** (€ 70.774).

Da adottare per (€ 29.226)



FFC#4/2013

CFTR in organoidi epiteliali: rilevanza per lo sviluppo di farmaci e la diagnosi della fibrosi cistica

Responsabile: Paola Melotti (Centro fibrosi cistica, AOUI Verona)
Costo: € 30.000

Adottato totalmente da: Delegazioni FFC di Palermo e di Vittoria, Ragusa e Catania 2



FFC#5/2013

Una promettente terapia cellulare per la cura della Fibrosi Cistica: i progenitori cellulari associati ai vasi

Responsabile: Graziella Messina (Dip. di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)
Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Bologna (€ 45.000) in ricordo della Signora Serafina Meliota, Delegazione FFC di Ferrara (€ 15.000) in ricordo di Paola Ricci Donna ed Amica Speciale



FFC#6/2013

Messa a punto di una procedura semi automatizzata per la misura dell'attività di CFTR nei leucociti umani per applicazioni cliniche

Responsabile: Claudio Sorio (Dip. di Patologia, Sez. Patologia generale, Università di Verona)
Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Minerbe Verona (€ 12.000), Delegazione FFC di Imola e Romagna (€ 28.000)



FFC#7/2013

Cellule epiteliali nasali: un nuovo approccio per la diagnosi di Fibrosi Cistica e delle forme atipiche

Responsabile: Giuseppe Castaldo (CEINGE-Biotecnologie Avanzate scarl, Napoli)
Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Latina (€ 20.000), Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna (€ 10.000), Cartasi (€ 10.000), Raffaele Madonna (€ 20.000).



FFC#8/2013

Rivalutare molecole antibatteriche neglette come nuovi antibiotici contro specifici bersagli molecolari: derivati della pirazinamide come nuovi inibitori di Pseudomonas aeruginosa

Responsabile: Federica Briani (Dip. di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)
Costo: € 32.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Montebelluna "La Bottega delle donne"



FFC#9/2013

Infezioni da Staphylococcus aureus in pazienti con fibrosi cistica: sviluppo di nuovi beta-lattamici e molecole linezolid-simili come nuovi potenziali agenti antibatterici e valutazione in vitro e in vivo dei nuovi composti

Responsabile: Clementina Elvezia Cocuzza (Dip. di Chirurgia e Medicina interdisciplinare, Università Milano Bicocca)
Costo: € 52.000

Adottato totalmente da: Gruppo di Sostegno FFC di Seregno (€ 16.500), Delegazione FFC di Cecina (€ 15.500), Delegazione FFC della Valpolicella (€ 20.000)



FFC#10/2013

Terapie anti-virulenza contro Pseudomonas aeruginosa: identificazione di farmaci anti-biofilm e sviluppo di formulazioni inalatorie di Niclosamide e Flucitosina

Responsabile: Livia Leoni (Dip. di Scienze, Università "Roma Tre")
Costo: € 120.000

Adottato totalmente da: Gruppo di Sostegno FFC di Tremestieri Messina (€ 8.000), Delegazione FFC di Verbania V.C.O. (€ 12.000), Delegazione FFC di Messina (€ 10.000), Delegazione FFC di Verona (€ 20.000), Antonio Guadagnin Figlio srl (€ 8.000), Delegazione FFC di Genova (€ 10.000), Delegazione FFC di Cosenza 2 (€ 8.000), Delegazione FFC di Siena (€ 8.000), Loifur srl (€ 10.000), Amici per la Ricerca di Bassano (€ 26.000)



FFC#11/2013

Polveri inalabili per la somministrazione di peptidi antimicrobici umani (CAMP) chimicamente modificati: verso l'applicazione in vivo

Responsabile: Eugenio Notomista (Dip. Biologia, Università di Napoli "Federico II")
Costo: € 42.000

Adottato totalmente da: Dompè Farmaceutici (€ 10.000), Delegazione FFC di Montescaglioso Matera (€ 8.000), Delegazione FFC di Foggia (€ 8.000), Delegazione FFC di Cerea Il Sorriso di Jenny (€ 8.000), Delegazione FFC di Reggio Calabria (€ 8.000).



FFC#12/2013

Sviluppo preclinico del peptide antimicrobico M33 e inizio delle procedure regolatorie per la sperimentazione nell'uomo

Responsabile: Alessandro Pini (Dip. di Biotecnologie Mediche, Università di Siena)

Costo: € 90.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC del Lago di Garda con i Gruppi di Sostegno di Chivasso, dell'Iso-la Bergamasca e di Arezzo** (€ 60.000), **Delegazione FFC di Verona** (€ 30.000).



FFC#13/2013

Veicolazione con niosomi della lattoferrina: effetto sulla riduzione dell'infiammazione e dell'infezione in epители respiratori affetti da fibrosi cistica

Responsabile: Francesca Berluti (Dip. Salute Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Costo: € 47.000

Adottato totalmente da: **Delegazioni FFC di Palermo e di Vittoria, Ragusa e Catania** 2



FFC#14/2013

Rilevanza fisiopatologica dei glicosaminoglicani nelle infezioni croniche da *Pseudomonas aeruginosa* e validazione di nuovi approcci terapeutici per modulare l'infiammazione e il danneggiamento del tessuto polmonare

Responsabile: Cristina Cigana (Infections and Cystic Fibrosis Unit, HSR, Milano)

Costo: € 80.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Milano**



FFC#15/2013

Effetti dell'acido lipoico sulla regolazione della proteostasi per il controllo dell'infiammazione in fibrosi cistica

Responsabile: Daniela De Stefano (I.E.R.F.C. - Fondazione Onlus c/o HSR, Milano)

Costo: € 43.000

Adottato totalmente da: **LIFC Associazione Lucana Onlus** (€ 15.000), **LIFC Associazione Emiliana Onlus** (€ 10.000), **LIFC con Associazioni regionali per la Campagna nazionale FFC 2013** (€ 8.000), **Assist Group** (€ 10.000).



FFC#16/2013

Fosfodiesterasi tipo-4 (PDE4) e recettori $\beta 2$ adrennergici come potenziali bersagli farmacologici per ridurre l'infiltrazione neutrofilica e il danno polmonare nella fibrosi cistica. Studi preclinici e identificazione di biomarcatori di efficacia

Responsabile: Virgilio Evangelista (Dip. di Farmacologia Cellulare e Traslazionale, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti)

Costo: € 90.000

Adottato totalmente da: **LIFC con le Associazioni Regionali per la Campagna Nazionale FFC 2013** (€ 65.000), **Delegazione FFC di Lecce** (€ 10.000), **LIFC Associazione Emiliana Onlus** (€ 15.000).



FFC#17/2013

Studio pre-clinico di un nuovo approccio immunoterapeutico basato sulla somministrazione aerosolica di liposomi asimmetrici per potenziare la risposta immunitaria microbicida

Responsabile: Maurizio Fraziano (Dip. di Biologia, Università "Tor Vergata", Roma)

Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Novara** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Soverato** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Montescaglioso Matera** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Altamura Bari** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Tradate Gallarate** (€ 14.000)



FFC#18/2013

Sviluppo di un modello di topo con fibrosi cistica, transgenico per IL-8/NF-KB, per il monitoraggio in vivo e a lungo termine della risposta infiammatoria indotta da batteri trattati e non con azitromicina

Responsabile: Maria M. Lleò (Dip. di Patologia e Diagnistica, Sez. Microbiologia, Università di Verona)

Costo: € 52.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Belluno con i Rocciori di Fonzaso**



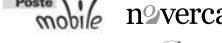
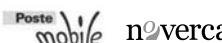
FFC#19/2013

Il ruolo dell'endotelio vascolare nell'infiammazione della fibrosi cistica

Responsabile: Mario Romano (Dip. Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. Medicina Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti-Pescara)

Costo: € 62.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Pavia** (€ 10.000), riservato **Donatori numero solidale 2013** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Isili - Cagliari** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Genova** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Imola e Romagna con Magia srl** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Alba-Cuneo** (€ 8.000), **Famiglia Catalano in ricordo di Riccardo** (€ 8.000).



FFC#20/2013

Potenziale anti-infiammatorio e anti-fungino di inhibitori del metabolismo degli sfingolipidi in Fibrosi Cistica

Responsabile: Paola Signorelli (Dip. di Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano)

Costo: € 105.000

Adottato totalmente da: **Fondazione Bruno Maria Zaini**



ATTIVITÀ SOCIALI

FFC#21/2013

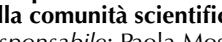
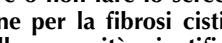
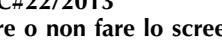
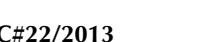
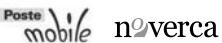
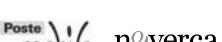
Implicazioni cliniche della storia naturale dei deficit di secrezione e sensibilità insulinica in fibrosi cistica

Responsabile: Alberto Battezzati (International Center for the Assessment of Nutritional Status (ICANS) - DEFENS Università di Milano)

Costo: € 95.000

Adottato parzialmente da: **Compass Gruppo Mediobanca** (€ 8.000), **Donatori numero solidale 2014** (€ 52.000).

Da adottare per € 35.000



FFC#22/2013

Fare o non fare lo screening del portatore sano del gene per la fibrosi cistica? La voce dei cittadini e della comunità scientifica

Responsabile: Paola Mosconi (Ist. di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" Laboratory for medical research and consumer involvement)

Costo: € 55.000

Adottato totalmente da: **Latteria Montello SpA** (€ 10.000), **"Un fiore per Valeria" Assemimi - Cagliari** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Pavia** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Cecina Rosignano** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC amici di Magenta - Milano** (€ 9.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Riola Sardo** (€ 8.000).



FFC#23/2013

L'utilizzo della TAC torace nel monitoraggio dei pazienti pediatrici affetti da Fibrosi Cistica influenza l'approccio clinico e terapeutico?

Responsabile: Harm Tiddens (Erasmus Medical Centre, Sophia Children's hospital, Department of Paediatric Pulmonology and Department of Radiology, Rotterdam)
Costo: € 30.000

**AP
AUDEMARS PIGUET**

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Pesaro** (€ 20.000) **Audemars Piguet** (€ 10.000)

FFC#1/2014

Identificazione e validazione di nuove molecole ottenute da studi computazionali e saggi biologici per il superamento di codoni di stop prematuri in cellule FC.

Responsabile: Laura Lentini (Dip. di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBI-CEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università di Palermo)
Costo: € 38.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Palermo e di Vittoria Ragusa Catania 2**

FFC#2/2014

Un approccio razionale nello sviluppo di nuovi farmaci per il trattamento della Fibrosi Cistica.

Responsabile: Alberto Luini (Centro Nazionale Ricerche, Dip. di Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica delle Proteine, Napoli)
Costo: € 80.000

Adottato totalmente da: **Loifur Srl** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Imola e Romagna** (€ 30.000), **Gli Amici per la Ricerca di Bassano 2014** (€ 25.000), **Maserati SpA** (€ 15.000).



LOIFUR



FFC#3/2014

CFTR in organoidi epiteliali: rilevanza per lo sviluppo di farmaci e la diagnosi della fibrosi cistica.

Responsabile: Paola Melotti (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)
Costo: € 30.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Treviso Montebelluna La Bottega delle Donne**



FFC#4/2014

La struttura molecolare e il ripiegamento dell'intero Regolatore Transmembrana della Fibrosi Cistica (CFTR): siti per i correttori.

Responsabile: Oscar Moran (Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche-CNR, Genova)
Costo: € 45.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Bologna**



FFC#5/2014

Un approccio basato su piccoli RNA per la correzione dei difetti di splicing del gene CFTR: analisi delle efficacia in cellule primarie bronchiali.

Responsabile: Franco Pagani (Centro Internazionale di Ingegneria Genetica e Biotecnologie- ICIGEB, Trieste)
Costo: € 38.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Sassari Castelsardo** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Minerbe** (€ 23.000)



FFC#6/2014

Sviluppo di nuove procedure per l'identificazione di farmaci diretti verso il recettore CFTR: un approccio multidisciplinare mediante saggi di interazione in risonanza plasmonica di superficie supportata da strategie bioinformatiche su infrastrutture HPC.

Responsabile: Marco Rusnati (Dip. di Medicina Molecolare e Traslazionale, Università di Brescia, Unità Analisi Interazione Macromolecolare-Sez. di Oncologia Sperimentale e Immunologia)
Costo: € 38.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Foggia** (€ 8.000), **Latteria Montello S.p.A.** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Manciano - Grosseto** (€ 15.000).



FFC#7/2014

Un approccio chinasi-diretto per ristabilire la funzionalità di F508delCFTR.

Responsabile: Andrea Venerando (Dip. Scienze Biomediche, Università di Padova)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **Open d'Italia Golf**



FFC#8/2014

Disegno e sintesi di analoghi della trimetilangelicina (TMA) per ottimizzare le applicazioni cliniche per la fibrosi cistica: attività anti-infiammatoria, potenziatore CFTR e correttore CFTR

Responsabile: Roberto Gambari (Dip. di Scienze della Vita e Biotecnologie, Sez. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara)

Costo: € 45.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Bologna** (€ 30.000), **Delegazione FFC di Ferrara** (€ 15.000)

FFC#9/2014

Geni modificatori legati alla malattia polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* in fibrosi cistica.

Responsabile: Alessandra Bragonzi (Unità di Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 78.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Milano**



FFC#10/2014

Indagine del microbioma delle vie aeree nei pazienti con fibrosi cistica che presentano un severo declino della funzione polmonare: un'opportunità per una terapia personalizzata basata sul microbioma.

Responsabile: Annamaria Bevvino (Unità Tecnica per il Sistema di Sviluppo Sostenibile e Innovazione AgroIndustriale, ENEA Agenzia Nazionale Italiana, Centro Ricerche Casaccia, Roma)

Costo: € 48.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Villa D'Almè Bergamo** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Reggello Firenze** (€ 10.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Lainate** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Verbania V.C.O.** (€ 18.000).



FFC#11/2014

Sviluppo e test preclinico di un nuovo peptide antimicrobico per il trattamento di infezioni polmonari indotte da *Pseudomonas aeruginosa*.

Responsabile: Maria Luisa Mangoni (Dip. di Scienze Biochimiche, Università "La Sapienza", Roma)

Costo: € 53.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Siena** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna** (€ 10.000), **Delegazione FFC il Sorriso di Jenny** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Pavia** (€ 15.000).



FFC#12/2014

Polveri inalabili per la somministrazione di peptidi antimicrobici umani (CAMP) chimicamente modificati: verso l'applicazione in vivo.

Responsabile: Eugenio Notomista (Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II")

Costo: € 22.000

Adottato totalmente da: **Antonio Guadagnin e Figlio** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Olbia Tempio** (€ 14.000).



FFC#13/2014

Utilizzo di inibitori della proteina Disolfuro Isomerasi extracellulare per controllare le infezioni polmonari da *Burkholderia cenocepacia*.

Responsabile: Francesca Pacello (Dip. di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata")





Costo: € 41.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Olbia Tempio** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Catania con i negozi Claudio Miceli** (€ 23.000), **Delegazione FFC di Villa D'Almè - Bergamo** (€10.000).



FFC#14/2014

Sviluppo di BMAP18 come farmaco peptidico per le infezioni polmonari batteriche: uno studio per migliorarne l'efficacia nell'ambiente polmonare della FC

Responsabile: Marco Scocchi (Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste)

Costo: € 26.000

Adottato totalmente da: **Studio Gia.Da. Onlus**



FFC#15/2014

Infezioni nei pazienti con fibrosi cistica: effetto delle variazioni genetiche di PTX3 sulla produzione e sulle funzioni della PTX3 endogena.

Responsabile: Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Rozzano, Milano)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **Gruppo di sostegno FFC di Seregno** (€ 19.000), **Delegazione FFC di Messina** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Imola e Romagna con Ma.Gia Srl** (€ 11.000).



FFC#16/2014

Effetto della lattoferrina veicolata da niosomi sulla riduzione dell'infiammazione e dell'infezione in modelli sperimentali in vitro e in studi pre-clinici in animali.

Responsabile: Francesca Berluti (Dip. Sanità Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Costo: € 43.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Torino** (€ 20.000), **Gruppo di sostegno FFC di Altamura Bari** (€ 8.000), **Trofeo di Golf FFC 2015** (€ 15.000).



FFC#17/2014

I canali TRPA1 come nuovi target molecolari per le terapie antiinfiammatorie dei polmoni FC.

Responsabile: Giulio Cabrini (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona)

Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Tradate Gallarate** (€ 20.000), **Associazione Trentina fibrosi cistica in ricordo di Gabriele Simon** (€ 10.000), **Assist Group srl con il contributo di Vidierre e della Delegazione FFC di Reggio Emilia** (€ 10.000), **Delegazione FFC della Valdadige** (€ 10.000).



FFC#18/2014

Terapie inalanti con Glutatione in fibrosi cistica: quanto sono utili, quanto sicure? Messa a punto di un modello murino di fibrosi cistica per il monitoraggio dell'infiammazione in vivo e la valutazione di trattamenti alternativi.

Responsabile: Alessandro Corti (Dip. di Ricerca Traslazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa)

Costo: € 56.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC della Valpolicella** (€ 30.000), **Delegazione FFC di Latina** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Genova** (€ 16.000).



FFC#19/2014

Il Ca2+ mitocondriale media l'attivazione dell'inflammasoma esasperando la risposta infiammatoria nell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa*.

Responsabile: Paolo Pinton (Dip. di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Lab. Trasdizione del Segnale, Università di Ferrara)



Costo: € 62.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Novara** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Cosenza 2** (€ 8.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Reggello Firenze** (€ 10.000), **"Un fiore per Valeria" Assemimi - Cagliari** (€ 8.000), **Unione Agenti AXA** (€ 10.000) **Gruppo di Sostegno FFC di Isili - Cagliari** (€ 8.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Magenta - Milano** (€ 8.000).



FFC#20/2014

Identificazione e caratterizzazione di peptidi umani in grado di neutralizzare LPS batterici: potenziali strumenti per il controllo dell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica.

Responsabile: Eliodoro Pizzo (Lab. di Struttura e Funzione delle Proteine-SFP, lab. group-presso il Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II")

Costo: € 35.000

Adottato totalmente da: **Delegazioni FFC di Palermo e di Vittoria Ragusa Catania 2.**



FFC#21/2014

Resolvina D1 per il trattamento dell'infiammazione ed infezione cronica in fibrosi cistica

Responsabile: Antonio Recchiuti (Dip. di Scienza Clinica e Sperimentale e Centro di Eccellenza sull'Invecchiamento-Cesi, Università "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara)

Costo: € 65.000

Adottato totalmente da: **Unicredit** (€ 8.000), **Iniziativa di Natale FFC 2014** (€ 28.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Isili - Cagliari** (€ 8.000), **Delegazioni FFC di Soverato e San Costantino Calabro** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Montescaglioso Matera** (€ 11.000).



FFC#22/2014

Antagonisti della risposta infiammatoria mediata da linfociti Th17 nella Fibrosi Cistica: valutazione pre-clinica dell'efficacia di Anakinra.

Responsabile: Luigina Romani (Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Perugia)

Costo: € 70.000



Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Pesaro** (€ 25.000), **Associazione Trentina fibrosi cistica con Alpini di Verla di Giovo in ricordo di Alvise Sacco** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Bologna** (€ 35.000).

FFC#23/2014

Meccanismi e Rilevanza Clinica della Disfunzione Endoteliale nella Fibrosi Cistica.

Responsabile: Mario Romano (Dip. di Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. di Medicina Molecolare Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti-Pescara)

Costo: € 60.000



Adottato totalmente da: **Donazione privata** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Reggio Calabria** (€ 8.000), **Delegazioni FFC di Rovigo** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Taranto a Carmen La Gioia** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Imola e Romagna** (€ 18.000).

FFC#24/2014

Ruolo della glucocerebrosidasi GBA2 nell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica: dal meccanismo molecolare a nuove strategie terapeutiche.

Responsabile: Sandro Sonnino (Dip. di Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Univ. di Milano)

Costo: € 76.000

Adottato totalmente da: **Cartasi** (€ 10.000), riservato **Numeri Solidale Campagna di natale FFC 2015** (€ 66.000).



Poste mobile **noverca** **TELECOM ITALIA** **INFOSTRADA** **FASTWEB** **TWT** **coop.voce** **tele tu**

FFC#25/2014

PI3Kγ: un nuovo bersaglio terapeutico per riattivare il CFTR e ridurre l'infiammazione e l'ostruzione delle vie aeree nella fibrosi cistica.

Responsabile: Emilio Hirsch (Dip. di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino, Centro di Biotecnologia Molecolare)

Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Montescaglioso - Matera** (€ 10.000), **LIFC con le Associazioni Regionali per Campagna Nazionale FFC 2014** (€ 40.000).



FFC#26/2014

Compromissione del sistema delle IgA secretorie ed immunità mucosa nella fibrosi cistica: ruolo nella patologia polmonare e nella suscettibilità all'infezione batterica, e ruolo delle alterazioni epiteliali correlate al difetto di CFTR nella regolazione della "transcitosis" recettore-mediata delle IgA.

Responsabile: Charles Pilette (Université Catholique de Louvain, Brussels)

Costo: € 48.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Lecce** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Alba Cuneo** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna** (€ 13.000).



FFC#27/2014

Trasmissibilità e significato clinico delle diverse sottospecie di Mycobacterium abscessus in pazienti con fibrosi cistica.

Responsabile: Enrico Tortoli (Unità Patogeni Batterici Emergenti, Divisione di Immunologia, trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico S. Raffaele, Milano)

Costo: € 80.000

Adottato totalmente da: riservato **Iniziativa libro Bike Tour Pedalando per la Ricerca**



FFC#28/2014

Studio in vitro del potenziale ruolo profibrotico di Everolimus su diversi tipi di cellule polmonari e ricerca di nuovi biomarker per ottimizzare il trattamento immunosoppressivo con inibitori di mTOR in pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmone.

Responsabile: Gianluigi Zaza (Unità di Nefrologia, Dip. di Medicina, Azienda Universitaria Ospedaliera, Verona)

Costo: € 38.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Torino** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Lodi** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Latina** (€ 10.000).



FFC#29/2014

Proprietà del muco delle vie aeree in fibrosi cistica: loro modifica a causa di cambiamenti nell'attività di CFTR e dopo applicazione di bicarbonato.

Responsabile: Olga Luisa A. Zegarra (U.O.C. Genetica Medica, Istituto "Giannina Gaslini", Genova)

Costo: € 35.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Genova** (€ 15.000), **Delegazione FFC di Cecina Rosignano** (€ 20.000)



TERAPIE DEL DIFETTO DI BASE

FFC#1/2015

Correlazione tra mitocondri e F508del-CFTR nella Fibrosi Cistica.

Responsabile: Anna Atlante (IBBE -Istituto delle Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari)

Costo: € 45.000

Adottato parzialmente da: **Infront e Play for Change** (€ 20.000). **Adottabile per € 25.000.**



FFC#2/2015

La ubiquitina ligasi RNF5/RMA1 quale nuovo bersaglio terapeutico per il recupero della proteina CFTR mutata per effetto di F508del

Responsabile: Andrea Cavalli (Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna)

Costo: € 75.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Verona** (€ 35.000), **La Notte dei sapori** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Tradate - Gallarate** (€ 20.000), **Audemars Piguet Italia** (€ 10.000).



AP
AUDEMARS PIGUET

FFC# 3/2015

Valutazione e correzione farmacologica di anomalie del bicarbonato (HCO_3^-) e del trasporto di muco in biopsie intestinali e organoidi di pazienti affetti da FC

Responsabile: Hugo de Jonge (Dipartimento di Gastroenterologia ed Epatologia, Centro Medico, Erasmus University, Rotterdam)

Costo: € 45.000

Adottato parzialmente da: **Delegazione FFC della Valpolicella** (€ 20.000). **Adottabile per € 25.000.**



FFC#4/2015

Disfunzioni metaboliche in fibrosi cistica: implicazioni per la ricerca di farmaci

Responsabile: Daniela De Stefano (Istituto Europeo per la Ricerca in Fibrosi Cistica, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 37.000

Adottato totalmente da: **LIFC con le Associazioni Regionali per la Campagna Nazionale FFC 2015**



FFC#6/2015

Valutazione degli effetti biologici e terapeutici dei mesoangioblasti progenitori cellulari associati ai vasi sanguigni nella terapia cellulare della Fibrosi Cistica

Responsabile: Graziella Messina (Università degli Studi di Milano, Dipartimento di BioScienze, Milano)

Costo: € 60.000

Adottato parzialmente da: **Delegazione FFC di Lucca** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Lecce** (€ 10.000).

Adottabile per € 40.000.



FFC#7/2015

Nuovi tipi di aminoariltiliazoli per la correzione del difetto di base nella fibrosi cistica: disegno computazionale, sintesi e valutazione biologica

Responsabile: Enrico Millo (CEBR, Centro Eccellenza Ricerca Biomedica, Università di Genova)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Vicenza**



FFC #9/2015

Identificazione di bersagli molecolari per ridurre l'effetto collaterale dei potenziatori sulla stabilità in membrana della F508del-CFTR.

Responsabile: Anna Tamanini (Laboratorio di Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi-sede di Borgo Trento, Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)

Costo: € 50.000

Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Milano**



NUOVI MODELLI ANIMALI PER LA RICERCA FC

FFC# 10/2015

Sviluppo di un modello di topo con fibrosi cistica, transgenico per IL-8, per il monitoraggio *in vivo* della possibile attività anti-infiammatoria di molecole inibitorie delle metalloproteasi umane e di antibiotici con meccanismo di azione simile a quello della azitromicina.

Responsabile: Maria M. Lleò (Dip. di Patologia e Diagnostica, Sezione di Microbiologia, Univ. di Verona)

Costo: € 7.000

Adottato totalmente da: **Un sogno per vincere**



TERAPIE DELL'INFEZIONE BRONCOPOLMONARE

FFC#12/2015

Attività antinfiammatoria ed antibatterica della latoferrina somministrata per aerosol nelle infezioni delle vie aeree di modelli murini non FC e FC

Responsabile: Francesca Berluti (Dipartimento di Salute Pubblica e Malattie Infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Costo: € 39.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Milano



FFC#13/2015

Ruolo di sistemi regolati da piccoli RNA non codificanti nell'infezione di *Pseudomonas aeruginosa* delle vie aeree in malati di fibrosi cistica: una nuova frontiera nell'identificazione di bersagli molecolari per antibatterici innovativi

Responsabile: Giovanni Bertoni (Dipartimento di Bioscienze – Univ. degli Studi di Milano, Milano)

Costo: € 35.000

Adottato parzialmente da: Gruppo di Sostegno FFC di Castelsardo Sassari (€ 15.000).

Adottabile per € 20.000.



FFC#14/2015

Indagine del microbioma delle vie aeree nei pazienti con fibrosi cistica che presentano un severo declino della funzione polmonare: un'opportunità per una terapia personalizzata basata sul microbioma

Responsabile: Anna Maria Bevvino (Unità Tecnica per lo Sviluppo e Innovazione del Sistema Agroindustriale, ENEA Agenzia Nazionale Italiana per le Nuove Tecnologie, Energie e Sviluppo Economico Sostenibile, Laboratorio di Microbiologia, Centro Ricerche Casaccia, ROMA)

Costo: € 44.000

Adottato totalmente da: Gruppo di Sostegno FFC Vallescrivia Alessandria (€ 8.000), Delegazione FFC di Latina (€ 20.000), Latteria Montello SpA (€ 16.000).



FFC#16/2015

Sviluppo di inibitori di metallo-enzimi per contrastare i meccanismi di resistenza ai farmaci di *P. aeruginosa* nei pazienti affetti da fibrosi cistica

Responsabile: Sandra Gemma (Dipartimento di Biotecnologia, Chimica e Farmacia, Università di Siena)

Costo: € 30.000

Adottato parzialmente da: Antonio Guadagnin (€ 8.000), Delegazione FFC di Grosseto Manciano e Famiglia Catalano (€ 12.000).

Adottabile per € 10.000



FFC#17/2015

Terapia fagica per combattere le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica.

Responsabile: Daniela Erica Ghisotti (Dipartimento di Bioscienze, Università di Milano)

Costo: € 12.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Taranto e Gruppi di Sostegno di Massafra e Alberobello



FFC#18/2015

Antimetaboliti come inibitori del biofilm e della virulenza in *Pseudomonas aeruginosa*: potenziale uso come chemioterapici e strumenti per l'identificazione di bersagli per nuovi antimicrobici

Responsabile: Paolo Landini (Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi, Milano)

Costo: € 13.000



Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna

FFC#19/2015

Formulazioni inalabili di nuove molecole attive contro *Burkholderia cenocepacia*: dalle applicazioni *in vitro* a quelle *in vivo*

Responsabile: Giovanna Riccardi (Laboratorio di Microbiologia Molecolare, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "Lazzaro Spallanzani", Pavia)

Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: Gruppo di Sostegno FFC di Como Dongo (€ 32.000), Delegazione FFC di Olbia - Tempio (€ 15.000), Delegazione FFC di Reggio Calabria (€ 13.000).



FFC#21/2015

Utilizzo del gallio come antibatterico nel trattamento delle infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: Paolo Visca (Dipartimento di Scienze, Laboratorio di Microbiologia Clinica e Virologia, Università di Roma Tre, Roma)

Costo: € 65.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC del Lago di Garda con i Gruppi di Sostegno di Chivasso, dell'Iso-la Bergamasca e di Arezzo



TERAPIE DELL'INFIAMMAZIONE FC

FFC#22/2015

Uno studio sistematico di iminouzuccheri, derivati del miglustat, come possibili farmaci anti-infiammatori per la malattia polmonare in Fibrosi Cistica.

Responsabile: Maria Cristina Dechechchi (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Ospedale-Università, Verona)

Costo: € 80.000

Adottato parzialmente da: Delegazione FFC di Genova (€ 15.000). **Adottabile per € 65.000.**



FFC#23/2015

PI3Kγ: un nuovo bersaglio terapeutico per riattivare CFTR e ridurre l'infiammazione e l'ostruzione delle vie aeree nella fibrosi cistica

Responsabile: Emilio Hirsch (Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze Sanitarie, Università di Torino, Centro di Biotecnologie Molecolari)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Monte-belluna "La Bottega delle Donne"



FFC#24/2015

Cellule biliari con difetto di CFTR derivate da cellule staminali umane pluripotenti indotte (iPSC) come modello per studiare il ruolo dell'immunità innata nella malattia epatica della fibrosi cistica

Responsabile: Mario Strazzabosco (Dipartimento di Chirurgia e Medicina Traslazionale/ Università degli Studi Milano-Bicocca/ Laboratorio di Epatologia)

Costo: € 60.000

Adottato parzialmente da: Delegazione FFC di Imola Romagna (€ 25.000). **Adottabile per € 35.000.**



RICERCA CLINICA ED EPIDEMIOLOGICA

FFC # 25/2015

Analisi delle linee guida in CF. Dalla qualità metodologica ai contenuti.

Responsabile: Cesare Braggion (Dipartimento di Medicina Pediatrica, Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze)

Costo: € 22.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Siena (€ 11.000), Gruppo di Sostegno FFC di Reggello Firenze (€ 11.000).



FFC#26/2015

Risultati di un'offerta non organizzata di screening del portatore di fibrosi cistica: monitorizzazione degli effetti su incidenza di fc, screening neonatale e scelte riproduttive delle coppie di portatori

Responsabile: Carlo Castellani (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)

Costo: € 37.000

Adottato parzialmente da: Gruppo di Sostegno FFC di Lainate Milano (€ 10.000).

Adottabile per € 27.000.



FFC#27/2015

Studio della variabilità biologica intra-individuale del cloro nel sudore

Responsabile: Natalia Cirilli (Centro di Riferimento per Fibrosi Cistica, Ospedale dei Bambini "G. Sale si", Dipartimento Materno Infantile degli Ospedali Riuniti, Ancona)

Costo: € 30.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Alba Cuneo



Progetto strategico 2014-2017

Progetto FFC /TFCF "Task Force for Cystic Fibrosis"

Responsabile: Luis Galletta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. G. Gaslini, Genova)

Costo: complessivo € 1.250.000;

Fase 1: € 200.000

Adottato parzialmente da: Energy T.I. Group S.p.A. Milano (€ 100.000), **LIFC Associazione Siciliana Onlus** (€ 20.000), **Danone SpA** (€ 50.000).

Adottabile per € 30.000



SERVIZI ALLA RICERCA 2012-2015

Servizio "CFaCore" (Cystic Fibrosis Animal Core Facility) 2 (2013-2016)

Responsabile: Alessandra Bragonzi (Istituto di Ricerca San Raffaele, Milano)

Costo: € 512.000

Adottato parzialmente da: Patrizio Pignato lascito testamentario (€ 50.000), **Novartis Farma SpA** (€ 10.670), **Delegazione FFC di Pavia** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Marsala Trapani** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Villa D'Almè Bergamo** (€ 12.000), **Loris Camprini con il libro "Un milione di chilometri in moto"** (€ 20.000), **LIFC Associazione FC Sardegna Onlus** (€ 8.000), **Fashionart Concept** (€ 10.000), **Residuo non utilizzato adozioni progetti 2009-2010** (€ 135.006), **Pirelli & C. SpA** (€ 20.000), **Affligem** (€ 8.000), **Gare Golf** (€ 20.000), **Raffaele Madonna** (€ 10.000), **Banca Popolare di Novara** (€ 10.000)

Adottabile per € 180.324.



Servizio "QuantiGENE" (Quantificazione della espressione genica) 2 (2012-2014)

Responsabile: Giulio Cabrini (Laboratorio Patologia Molecolare, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona)

Costo: € 30.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC della Valpolicella Verona



Servizio "Colture Primarie" 1 (2012-2014)

Responsabile: Luis Galletta (Laboratorio Genetica Molecolare, Istituto "G. Gaslini", Genova)

Costo: € 210.000

Adottato totalmente da: Omnia Media Srl con Formula Run Cup 2011 (€ 15.000), **Sapore di Sale 2011** (€ 13.000), **Cinzia Scambi** (€ 8.000), **Donatori iniziativa di Natale** (€ 9.605), **Philip Watch-Morellato & Sector Group** (€ 40.000), **LIFC Associazione Abruzzo Onlus e Associazione "Sport per la Vita"** Roseto degli Abruzzi (€ 13.000), **LIFC Associazione Siciliana Onlus** (€ 30.000), **Associazione Culturale "A filo d'Arte"** (€ 10.000), **Sant Luis Calzature Srl** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Lucca** (€ 14.465), **Gruppo di Sostegno FFC di Palermo** (€ 10.000), **Delegazione FFC di Genova** (€ 26.930).



Servizio "Colture Primarie" 2 (2015)

Responsabile: Luis Galletta (Laboratorio Genetica Molecolare, Istituto "G. Gaslini", Genova)

Costo: € 60.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC del Lago di Garda con i Gruppi di Sostegno di Chivasso, dell'Iso-la Bergamasca e di Arezzo



CFDB Cystic Fibrosis Data Base 1-2 (2013-2014)

Responsabile: Roberto Buzzetti

Costo: € 50.000

Adottato parzialmente da: LIFC con le Associazioni Regionali per la Campagna Nazionale FFC 2012 (€ 24.000)

Adottabile per € 26.000.



CFDB Cystic Fibrosis Data Base 3 (2014- 2015)

Responsabile: Roberto Buzzetti

Costo: € 20.000

Adottato totalmente da: Delegazioni FFC di Palermo e Vittoria Ragusa e Catania 2



Presso Ospedale Maggiore B.go Trento
P.le A. Stefani, 1 - 37126 Verona

Presidenza e Segreteria

Tel. 045 8123438 - fax 045 8123568
e-mail: fondazione.ricercafc@ospedaleuniverona.it
Codice fiscale 93100600233

Consiglio di Amministrazione

Presidente: Vittoriano Faganelli
Vice Presidente: Matteo Marzotto
Consiglieri: Sandro Caffi
Francesco Cobello
Paolo Del Debbio
Francesco Ernani
Giuseppe Ferrari
Gianni Mastella
Giulio Pedrollo
Michele Romano
Donatella Treu
Luciano Vettore
Patrizia Volpato

Direzione Scientifica

– Direttore Scientifico: Gianni Mastella
Tel. 045 8123567
e-mail: gianni.mastella@ospedaleuniverona.it
– Vicedirettore Scientifico: Graziella Borgo
Tel. 045 8127027 / 346 5126013
e-mail: borgograziella@gmail.com

Comitato di Consulenza Scientifica

Presidente: Giorgio Berton
Consulenti: Paola Bruni
Roberto Buzzetti
Gian Maria Rossolini

Per donazioni:

- SWIFT-BIC code (per pagamenti dall'estero)
UNCRITM1N58
- Bonifico Unicredit Banca:
IBAN IT 47 A 02008 11718 000102065518
- Bonifico Banco Popolare di Verona:
IBAN IT 92 H 05034 11708 000000048829
- On-line sul sito: www.fibrosicisticaricerca.it
- 5 x mille dell'IRPEF: Cod. Fisc. 93100600233

Le donazioni sono deducibili fino al 10% del reddito complessivo
e comunque non oltre 70.000 euro/anno (art. 14 legge n. 80/2005)

www.fibrosicisticaricerca.it



Certificazione IID 2008/10
Aderiamo agli standard
della Carta della Donazione

Redazione:

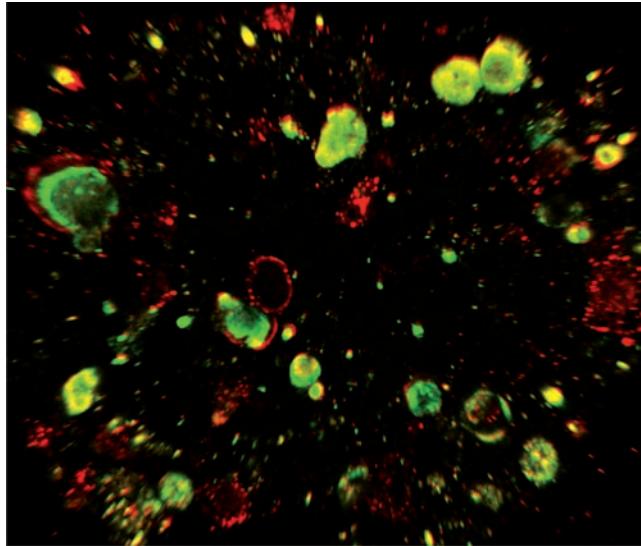
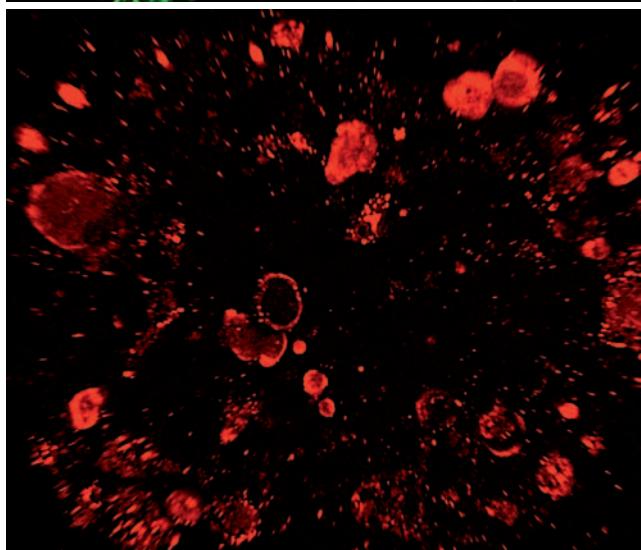
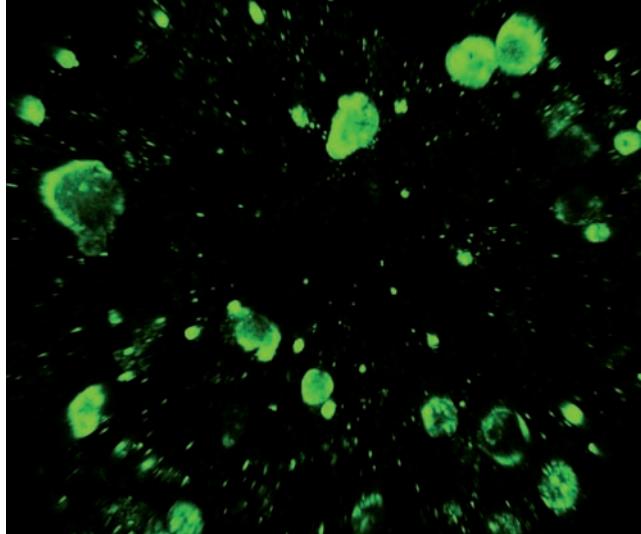
Gianni Mastella, Graziella Borgo,
Tecla Zarantonello, Federica Lavarini

Grafica ed impaginazione:

Ada Frapporti

Stampa:

Tipolitografia Artigiana snc
San Giovanni Lupatoto (VR)
Stampato il 18 novembre 2015



**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation

In collaborazione con



Azienda Ospedaliera
Universitaria Integrata
Verona

