Fertilizzanti high-tech

Root Symbiosis: a case of Russian dolls or a high-tech fertilizer?

Alla "radice della nutrizione delle piante" si trovano numerosi microrganismi che vivono in stretta simbiosi con le radici o liberi nella rizosfera. Il loro ruolo e le modalità di interazione con la pianta sono argomenti centrali nelle biotecnologie agrarie per la loro influenza nei sistemi naturali o agrari. La maggior parte delle piante terrestri ospita all'interno delle radici funghi simbionti micorrizici che migliorano la nutrizione minerale grazie a un esteso network di ife, che esplorano il suolo molto più efficacemente delle radici stesse.

Un trasportatore del fosfato è attivo nei funghi micorrizici arbuscolari (AM) ed è in grado di iniziare un trasporto del P dal suolo verso le radici attraverso le ife fungine extraradicali fino agli arbuscoli che si formano nelle cellule del parenchima vegetale. Un gruppo molto più limitato di piante, ad esempio le leguminose, stabilisce simbiosi con batteri azotofissatori all'interno di strutture particolari, i noduli. Qui avviene la fissazione dell'azoto e la sua traslocazione alla pianta. Tale capacità metabolica è anche appannaggio di alcuni batteri che vivono liberi nel suolo.

Questi microrganismi, definiti nel loro complesso "biofertilizzatori", sono oggetto di grande attenzione nell'ottica di una agricoltura a basso impatto ambientale tesa a diminuire l'uso di prodotti chimici. Per questi motivi, funghi micorrizici capaci di migliorare l'assunzione del P e batteri azotofissatori sono organismi di elezione nelle biotecnologie verdi. Una strada già aperta si basa proprio sulla produzione di inoculi misti. Alcune nostre osservazioni aprono ora prospettive differenti e stimolanti: abbiamo scoperto già nel 1996 che un isolato di un fungo AM, *Gigaspora margarita* BEG 34, contiene nel suo citoplasma migliaia di batteri (da 50.000 a 150.000 batteri per spora) [Figura 1] che, in base alla

Symbiotic and free-living microorganisms are at "the root of plant nutrition", a central topic in biology on account of its consequences for ecology and agriculture. Most land plants harbour symbiotic mycorrhizal fungi that improve plant mineral nutrition, thanks to an extensive hyphal network which explores the soil.

A high affinity phosphate transporter is active in the external hyphae of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi, which initiates phosphorus transfer from the soil to the root, thanks to the development of special fungal structures, the arbuscules. Some plant families establish symbiosis with N2-fixing organisms by developing specialized root structures (nodules) where N2 fixation and translocation to the plants occur. Other free-living prokaryotes fix N2 in the soil and make it available to the surrounding roots. Taken as a whole, these microorganisms can be seen as "biofertilizers".

They are the subject of increasing attention in the framework of a more friendly agriculture aimed at decreasing the adverse impact of chemical fertilizers. Mycorrhizal fungi and N2-fixers are considered "first-choice" organisms in microbial biotechnologies. The combination of the two functions (P uptake and N2-fixation) is currently achieved thanks to mixed inocula.

Some findings from our group open some new and exciting perspectives. We already demonstrated that some AM fungal isolates harbour bacteria in their cytoplasm. Gigaspora margarita BEG 34 [Figure 1] was found to harbour numerous bacteria (50,000 to 150,000 bacteria per spore) which, on the basis of their 16S ribosomal gene sequence, have been identified as a new bacterial taxon close to the genera Burkholderia, Pandorea and Ralstonia.

The bacteria move within the fungal hyphae from the germinating spore to the roots. An in vitro system based on mycorrhizal transformed

Focus

Fertilizzanti high-tech

Root Symbiosis: a case of Russian dolls or a high-tech fertilizer?

sequenza del gene ribosomale 16S, costituiscono un nuovo taxon batterico, vicino ai generi *Burkholderia*, *Pandorea* e *Ralstonia*. Tali batteri si riproducono all'interno del fungo e, sempre restando dentro le ife, raggiungono la radice. La messa a punto di un sistema in vitro con radici trasformate di carota dimostra che gli endobatteri vengono trasmessi da una generazione di spore all'altra attraverso un meccanismo di trasmissione verticale.

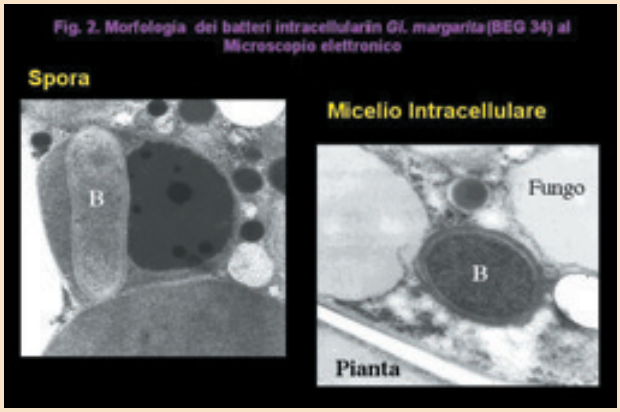
Batteri simili, e identificati sulla base della sequenza del 16S rDNA, sono stati ora trovati in numerosi altri isolati fungini di Gigasporacee provenienti da svariati ecosistemi, confermando l'idea che questo tipo di endosimbiosi rappresenti un fenomeno evolutivamente antico e molto diffuso. La presenza di endosimbionti in isolati di diversa origine geografica e la loro assenza in specie fungine filogeneticamente vicine aprono interessanti interrogativi sulla storia evolutiva di questa simbiosi e sulle interazioni batteri/funghi.

Per capire il significato funzionale di questi endobatteri nei funghi AM, poiché al momento non si è in grado di coltivarli su un terreno nutritizio, si è scelto un approccio genetico. Si è usato come strumento una libreria genomica del fungo AM *G. margarita*, rappresentativa anche del genoma del batterio endosimbionte. Si sono identificati geni di interesse coinvolti nella nutrizione minerale: i risultati dimostrano la presenza di geni non

carrot roots showed that bacteria move along the fungal generations following a vertical transmission mechanism.

Similar endobacteria have now been found in the spore cytoplasm of many AM fungal species of Gigasporaceae from different ecosystems, confirming that such intracellular bacteria are widespread. The presence of similar endobacteria in spores from distant geographic areas and their absence in close species also raise many questions about acquisition and evolution inside their hosts. Due to our inability to grow the endobacteria on a cell-free medium, a molecular approach was used to search for functional genes. A library constructed from G. margarita spores (BEG 34) was shown to be representative of the bacterial genome and was used as a tool to identify genes which are of interest for mineral nutrition.

We have so far demonstrated the presence of a gene for P transport and surprisingly nif DHK genes, the structural genes required for N fixation. This finding – confirmed by the presence of nif DHK mRNAs – gives the bacterium the theoretical ability to fix nitrogen. We have also identified a gene which allows the bacteria to colonize eukaryiotic cells which might explain their intracellular position as well as genes involved in chemotaxis. In conclusion, our findings show that bacteria are a significant component of AM fungi belonging to Gigasporaceae. The presence of a resident prokaryotic genome



[1]

[1]
Morfologia dei batteri intracellulari GI, Margarita (Beg34) al microscopio elettronico.
Morphology of bacteria GI, Margarita (Beg34) at the electronic microscope.

Focus

Fertilizzanti high-tech

Root Symbiosis: a case of Russian dolls or a high-tech fertilizer?

solo per il trasporto del P, ma sorprendentemente di geni nifDHK, coinvolti nella fissazione dell'N. Tale scoperta, insieme con l'evidenza che tali geni sono espressi, suggerisce la possibilità almeno teorica che questi batteri endosimbionti fissino l'azoto atmosferico, dando al fungo ospite un'ulteriore peculiarità. Sono stati inoltre trovati geni coinvolti nella colonizzazione di cellule eucarioti, che potrebbero spiegare l'attuale posizione intracellulare, nonché di geni coinvolti nella chemiotassi. Le nostre scoperte mostrano in conclusione che batteri endosimbionti sono una significativa componente cellulare dei funghi micorrizici AM. La presenza di un genoma 'residente' di tipo procariote aggiunge un ulteriore grado di complessità al sistema fungo/radice ed apre nuove ed interessanti prospettive sia ecologiche sia biotecnologiche.

• • •

CNR
Istituto per la protezione delle piante

adds further complexity to the mycorrhizal system. This opens exciting ecological and biotechnological perspectives.

• • •

CNR
Institute of Plant Protection

Virus verdi

Circa un quarto del prodotto italiano lordo deriva dalla produzione agricola al cui valore concorrono in larga misura le colture ortensi ed ornamentali. Le difficoltà ambientali e tecniche per le coltivazioni sono tuttavia numerose e, tra queste, le infezioni virali sono di rilevante attualità: utilizzare materiale vegetale da riproduzione sano è il punto di partenza per garantire la qualità e la quantità del raccolto. Appare da ciò evidente l'importanza di poter realizzare un accertamento diagnostico rapido sulle piante e sui loro organi di riproduzione, in particolar modo per le infezioni virali notoriamente non curabili.

Il saggio immuno-enzimatico ELISA è oggi la metodologia diagnostica più utilizzata ma richiede tempi di esecuzione relativamente lunghi (2 giorni), operatori specializzati e strumentazioni di laboratorio costose. Con uno studio mirato si è pertanto tentato di mettere a punto un metodo rapido, di costo contenuto e facilmente eseguibile da qualsiasi operatore, che permettesse l'immediato riconoscimento di virus molto dannosi alle principali specie ortensi ed ornamentali coltivate in Italia: i Tospovirus *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) e *Impatiens necrotic spot virus* (INSV), il Tobamovirus *Tomato mosaic virus* (TOMV) [figura 1] ed il Potexvirus *Pepino mosaic virus* (PEPMV). Quest'ultimo è appena stato da noi reperito in Italia, è estremamente pericoloso per il pomodoro [figura 2] ed è oggetto di un programma Europeo per accertarne la diffusione.

Tecnologia prescelta. È conosciuta come "*lateral flow*": si tratta di un saggio utilizzato con successo da anni in campo medico per la ricerca di diversi analiti, primo fra tutti l'ormone hCG indicatore dello stato di gravidanza. Il dispositivo consiste di una membrana cromatografica inserita tra due supporti in plastica. Sulla faccia superiore si aprono un pozzetto

Rapid diagnosis of plant viruses

Vegetable, flower and ornamental crops are of crucial importance for the Italian agriculture but their production is limited by various phytopathogenic agents, among which viruses are very important. Healthy material for planting is a fundamental prerequisite for good production, so that early virus diagnosis is necessary to check the sanitary status of both nursery and crop plants for preventing the spread of the pathogens. Currently, the ELISA *technique is the most widely used for virus diagnosis but it takes a relatively long time, and requires laboratory equipment and skilled personnel.*

We have attempted to optimise a rapid, easy-to-use and cheap system which permits immediate virus recognition in plants. The technology used is known as "lateral flow", the same as used widely in clinical medicine, e.g. in pregnancy testing. It was tested for detecting some of the most economically important viruses which affect either vegetable or ornamental and flower plants or both, namely: Tomato spotted wilt virus *(*TSWV*) and* Impatiens necrotic spot virus *(*INSV*) tospoviruses,* Tomato mosaic virus *(*TOMV*) [figure 1] tobamovirus, and* Pepino mosaic virus *(*PEPMV*) potexvirus. The latter virus has just been detected in Italy for the first time by our Institute. It is very dangerous for tomato crops [figure 2], and is presently the object of an European survey programme.*

The diagnostic device is made of a chromatographic support within a plastic cover. On the upper side of the cover there are a sample window and a result window with labels T *(Test) and* C *(Control). Below the sample window the detector reagent (specific rabbit polyclonal antibodies to the virus concerned, conjugated to red dyed colloidal gold) is dried onto a conjugate pad of glass fibre. The same antibodies to viruses are immobilized on the nitrocellulose membrane to form a sharp line at position T, perpendicu-*

Focus

Virus verdi

Rapid diagnosis of plant viruses

per il caricamento dell'estratto vegetale da analizzare ed una finestra per la lettura del risultato, contrassegnata dalla lettere *T* (Test) e *C* (Controllo). Sotto la zona di deposizione del campione (*sample pad*) è collocato un reagente rivelatore, ottenuto coniugando anticorpi policlonali anti-virus con oro colloidale (rosso) ed essiccandolo su fibra di vetro (*conjugate pad*). Gli stessi anticorpi sono immobilizzati sulla membrana formando una linea perpendicolare alla direzione di flusso in corrispondenza della lettera T. Anticorpi di capra anti-coniglio sono immobilizzati a formare un'altra linea in corrispondenza della lettera C. Una zona ssorbente (*absorbent pad*) situata all'estremità opposta del sample pad favorisce il flusso del campione lungo la membrana.
Una piccola quantità di tessuto vegetale viene pressata in adeguato tampone di estrazione contenente un detergente non ionico e un antiossidante. Poche gocce dell'estratto vengono deposte direttamente nell'apposito pozzetto. Il coniugato rivelatore viene risolubilizzato e forma un complesso con il virus, se presente. La sospensione diffonde lungo la membrana per capillarità e, non appena raggiunge la linea di anticorpi di cattura immobilizzati, il complesso viene trattenuto secondo uno schema "a sandwich". Le particelle in eccesso continuano a diffondere fino alla linea di controllo. La risposta, visibile ad occhio nudo, si ottiene in pochi minuti. I campioni positivi danno luogo alla formazione di due

lar to the direction of flow. Anti-rabbit IgG antibodies are immobilized in another line at position C. At the opposite side of the support , an absorbent pad bound to nitrocellulose helps the juice to be tested to move from the sample window where it is deposited.
Plant tissue is minced in extraction buffer containing non-ionic detergent and an antioxidant, and a few drops of the extract are placed in the sample window. The liquid re-hydrates the detector, and the virus, if present, forms a complex with the gold particles. The complex moves by capillarity along the membrane, toward the line of trapping antibodies. This results in a rapid accumulation, – within 3-5 min – of gold particles which produce an easily visible red line at position T, indicating a positive result. Colour intensity is proportional to virus concentration. Excess conjugated gold particles continue to migrate until they are immobilized by the antibodies at position C to produce another visible line (this is a control that should always appear with all samples, positive or negative). The devices are wrapped in bags with desiccant and are assumed to have a two-year shelf life at room temperature. The detection limit was found to be comparable to the corresponding ELISA *and the first results gave good correlation between the two techniques.*
About one thousands such devices were prepared and distributed among technicians of the Agricultural Advisory Service, in both the Piemonte and Liguria regions, after demonstration on



[1]



[2]

[1]
Bacca di pomodoro infetta da *Tomato mosaic virus*.
Tomato fruit infected by Tomato mosaic virus.
[2]
Foglia di pomodoro infetta da *Pepino mosaic virus*.
Tomato leaf infected by Pepino mosaic virus.

Focus

Virus verdi

Rapid diagnosis of plant viruses

linee; quelli negativi formano la sola linea di controllo. L'intensità della colorazione rossa è proporzionale alla concentrazione dell'analita nel campione, quindi del virus controllato. I kits diagnostici sono conservati in un sacchetto con desiccante: in queste condizioni si conservano per circa due anni, a temperatura ambiente.

Il sistema ha un limite di rilevabilità leggermente inferiore al saggio ELISA e le prime prove comparative dei due saggi hanno indicato una buona correlazione tra i rispettivi risultati. In fase propriamente applicativa, un migliaio di kits sono stati distribuiti a tecnici delle Organizzazioni per l'assistenza in agricoltura, in Piemonte e Liguria, previa dimostrazione pratica del loro impiego da parte dei ricercatori dell'Istituto che hanno ideato e messo a punto il metodo. I kits sono stati utilizzati per il controllo di piante madri in vivaio e di coltivazioni in pieno campo fruttando all'Istituto riscontri entusiastici sia per l'affidabilità che per la semplicità del metodo. È in studio il suo trasferimento ad applicazioni pratiche in scala più ampia, con ricavi economici per la ricerca fitovirologica.

• • •

CNR

Istituto di virologia vegetale

their practical use by some researchers of this Institute. The comments from the users on both the suitability and the easy use of the test were highly positive, and the organization of a network for its wider use is therefore in progress.

• • •

CNR

Institute of Plant Virology

7 Infrastruttura

Il riordino della rete scientifica ha determinato anche una riorganizzazione della amministrazione centrale, nel rispetto del principio di separazione tra attività di indirizzo politico e attività di gestione, nonché del decentramento, inteso come effettivo trasferimento di funzioni, compiti e responsabilità alle strutture operative del sistema CNR, cioè le strutture scientifiche (istituti e programmi nazionali ed internazionali di ricerca) che opereranno, pertanto, a regime, in piena autonomia contabile ed amministrativa.
All'amministrazione centrale sono rimaste funzioni di programmazione, monitoraggio, controllo e di supporto alla rete scientifica. In linea con quanto previsto dall'art. 7 del regolamento sull'organizzazione degli uffici dell'amministrazione centrale e sulla dirigenza, il Consiglio Direttivo ha individuato con la deliberazione n. 116 del 6 aprile 2000, gli uffici di diretta collaborazione degli organi di governo ed i dipartimenti.

7 Infrastructure

Reorganising the scientific network also entailed reorganising the central administration, according to the principle of separating policy-making from management, and decentralisation in the sense of the actual transfer of functions, tasks and responsibilities to the operational units within the CNR system. These operational units are the scientific facilities (national and international research programmes and establishments) which, once the system is fully operational, will have full administrative and financial autonomy.
The central administration retains responsibility for programming, monitoring, controlling and supporting the scientific network. Pursuant to article 7 of the Regulation governing the organisation of the offices of the central administration and management, the Executive Council adopted Resolution No.116 of 6 April 2000 identifying the offices to work directly with the government entities and departments.

7.1 Visione d'insieme

La tavola 7.1a analizza il trend negli anni dei costi di infrastruttura. Coerentemente alle edizioni passate presentiamo lo stato patrimoniale nella tavola 7.1b. La tavola 7.1c illustra il costo dell'amministrazione centrale con il dettaglio per capitoli di spesa.

7.1 Overview

Table 7.1a indicates the year-on-year infrastructure cost trend. As in previous years we are publishing the balance sheet in table 7.1b. Table 7.1c shows the central headquarters costs, with a detailed breakdown of expenditure items.

7.1a Costi di infrastruttura (€/mio)
Cost of infrastructure (€/mio)

	1996	1997	1998	1999	2000	2001
Personale Personnel	n.d.	n.d.	34	34	33	35
Funzionamento + Investimento Current + Investment	n.d.	n.d.	24	29	33	41
Totale costi diretti Total direct costs	71	54	57	63	65	76
Totale allocato Total allocated	71	54	57	63	65	76
Percento del CNR Percent of CNR	10	8	8	9	8	10

Fonte: Conto consuntivo 1996-97-98-99-00-01 *Source: 1996-97-98-99-00-01 Financial statements*

7.1b Situazione patrimoniale del CNR (€/mio)
CNR assets and liabilities (€/mio)

Attivo Assets	31/12/1999	31/12/2000	31/12/2001
Immobili Real estate	480	508	554
Mobili Furniture	38	41	45
Macchine e strumenti scientifici Instruments	852	878	916
Libri Books	108	116	123
Mezzi di trasporto Transportation	5	6	7
Brevetti Patents	3	3	3
Trasferimento per investimenti Investment receivables	57	53	53
Prestiti al personale Personal loans	6	5	3
Buoni fruttiferi postali PTT bonds	109	106	104
Mutui edilizi per il personale Real estate loans	15	9	6
Residui d'investimento Future investments	36	48	5
Quote di partecipazione a Consorzi Equity in Consortia	1	1	1
Totale parziale Subtotal	1.712	1.774	1.821
Cassa Cash	26	50	58
Residui attivi Receivables	392	411	383
Altri crediti Other receivables	1	1	1
Totale parziale Subtotal	419	462	442
Totale attività Total	2.131	2.236	2.262
Passivo Liabilities	31/12/1999	31/12/2000	31/12/2001
Fondo ammortamenti Amortization fund	901	956	1.017
Residui passivi Payables	354	388	404
TFR Severance fund	259	259	265
Altre passività Other	3	2	21
Totale passività Total	1.517	1.606	1.706
Patrimonio netto Net assets	614	630	556

Fonte: DG; Conto consuntivo 1999-00-01 *Source: DG; 1999-00-01 Financial statements*

7.1c Sede Centrale – Visione d'insieme 2000-2001 (€ x 1.000)
Headquarters – Overall view 2000-2001 (€ x 1.000)

Dipartimento o Ufficio Department and bureau	**Uscite*** Expenses		**Entrate*** Revenues		**2001 Costo totale del personale** Total cost of personnel	**Numero persone** Payroll
	Importo Amount	**No. dei capitoli** No. of accounts	**Importo** Amount	**No. dei capitoli** No. of accounts		
Uffici di diretta collaborazione con gli organi del CNR Offices to Assist the CNR Bodies	2.739	11	—	—	4.070	105
Direzione Generale General Directorate	50.682	8	3.615	1	2.233	58
Dipartimento Servizi Tecnici e di Supporto Department of Technical Services and Support	480.973	54	613.921	11	21.668	621
Dipartimento Attività Scientifiche e Tecnologiche Department of Scientific and Technological Activities	201.412	50	123.659	14	5.565	161
Dipartimento Attività Internazionali Department of International Activities	5.425	5	36	1	1.865	52
Totale Total	741.231	128	741.231	27	35.402	997
Spese funzionamento + investimento Current + investment expenditures	—	—	—	—	40.517	—
Totale infrastruttura Total of infrastructure	—	—	—	—	75.919	—

*Bilancio preventivo 2002

Fonte: DG; Escluse le partite di giro *Source: DG*

7.1.1 Indicatori di gestione

Gli indicatori finanziari che analizzano la gestione dell'Ente sono riportati nella tavola 7.1d. Per il significato dei singoli indicatori si rimanda alle precedenti edizioni del report.
Il decremento dell'incidenza dei residui e l'aumento delle velocità di gestione indicano un miglioramento nella "macchina" amministrativa.

7.1.1 Management indicators

The financial indicators analysing CNR's performance are given in table 7.1d. Please refer to previous editions of the report to understand the meaning of each indicator.
The decrease of incidence of receivables and payables and the increase of management velocity show an improvement of the administrative management.

7.1d Indicatori finanziari 1997-2001 (%)
1997-2001 financial indicators (%)

Indici Index	1997	1998	1999	2000	2001
Autonomia finanziaria Financial autonomy (accert. tit.I + tit.II - contrib. Stato) / accert. entrate correnti) x 100	18,20	22,88	18,28	25,86	26,47
Incidenza dei residui attivi totali Incidence of total receivables (totale residui attivi / totale accertam. competenza) x 100	55,97	43,41	46,66	45,93	43,71
Incidenza dei residui attivi ordinatori primari periferici Incidence of receivables by primary order suppliers (residui attivi ord. primari / totale accertam. competenza) x 100	4,61	4,78	6,56	6,81	4,80
Incidenza dei residui passivi totali Incidence of total payables (totale residui passivi / totale impegni competenza) x 100	48,60	39,99	40,58	43,57	43,73
Incidenza dei residui passivi funzionari delegati Incidence of payables by delegates (residui pass. F.D. / totale impegni competenza) x 100	8,87	3,42	1,76	1,63	1,52
Incidenza dei residui pass. ordinatori primari periferici Incidence of payables by primary order suppliers (residui pass. ord.primari / totale impegni competenza) x 100	10,34	14,48	16,99	20,06	19,12
Velocità di gestione delle entrate totali Management velocity of total revenues (riscosso compet. / accertam. compet.) x 100	54,87	65,44	61,89	61,83	62,13
Velocità di gestione delle entrate ordinatori primari periferici Management velocity of revenues by primary orders suppliers (riscosso compet. ord. primari / accertam. compet. ord. primari) x 100	35,10	60,67	61,11	66,38	75,77
Velocità di gestione delle spese totali Management velocity of total expenditure (pagato compet. / impegni compet.) x 100	70,85	71,44	70,59	68,33	70,29
Velocità di gestione delle spese ordinatori primari periferici Management velocity of expenditure by primary order suppliers (pagato compet. ord. primari / impegni compet. ord. primari) x 100	50,63	42,07	45,61	40,72	45,86
Velocità di gestione delle spese correnti Management velocity of current expenditure (pagato compet. tit. I / impegni compet. tit. I) x 100	69,92	70,31	70,00	70,29	70,65
Velocità di gestione delle spese in c/capitale Management velocity of investment expenditure (pagato compet. tit. II / impegni compet. tit. II) x 100	42,46	44,57	52,32	42,71	56,13
Rigidità delle spese correnti Rigidity of current expenditure (impegni compet. tit. I / accertam. compet. entrate correnti) x 100	90,91	86,96	94,82	87,01	97,09
Rigidità delle spese per il personale in servizio Rigidity of expenditure for personnel (impegni cat. II / accertam. entrate correnti) x 100	46,62	44,95	47,00	44,93	49,28

Fonte: DG; Conto consuntivo 1997-98-99-00-01 *Source: DG; 1997-98-99-00-01 financial statements*

7.2 Unità organizzative

Nei successivi paragrafi saranno brevemente descritte le singole strutture che compongono l'amministrazione centrale.

Organi del CNR

Gli organi del CNR sono:
- il Presidente;
- il Consiglio direttivo;
- il Comitato di consulenza scientifica;
- il Collegio dei revisori dei conti.

Presidente

Il Presidente ha la rappresentanza legale dell'Ente, ne sovrintende all'andamento, presiede il Consiglio direttivo e il Comitato di consulenza scientifica. Si avvale della collaborazione dei seguenti uffici:
- ufficio del Presidente;
- segreteria particolare del Presidente;
- segreteria degli organi collegiali;
- ufficio stampa;
- ufficio per i rapporti istituzionali.

Consiglio direttivo

Il Consiglio direttivo ha compiti di indirizzo di programmazione e di verifica dell'andamento delle attività dell'Ente, di deliberazione sui regolamenti di organizzazione, funzionamento, amministrazione, contabilità e finanza, sul piano triennale e sui suoi aggiornamenti annuali, sui bilanci e sulla nomina dei direttori degli istituti.
Nel 2001 il Consiglio direttivo ha adottato 357 delibere riguardo tutta l'attività dell'Ente.
Tra i servizi di supporto al Consiglio direttivo si segnala la realizzazione di un'area web, che soddisfa l'esigenza di operatività degli "addetti ai lavori" nonché la necessaria trasparenza e visibilità delle procedure e degli atti prodotti dall'Ente tramite l'attività del proprio organo di governo. Attraverso tale strumento è infatti possibile la diffusione delle deliberazioni assunte al fine della consultazione sia da parte delle strutture dell'Ente che degli utenti esterni all'Ente stesso.

7.2 Organisational units

The following paragraphs describe the individual units comprising the central headquarters.

The CNR management bodies

The management bodies of the CNR are:
- *the President;*
- *the Executive Council;*
- *the Scientific Advisory Committee;*
- *the Board of Statutory Auditors.*

The President

The President works in cooperation with the following offices:
- *the Office of the President;*
- *the Private Secretariat of the President;*
- *the Secretariat of the management bodies;*
- *the Press Office;*
- *Office for Institutional Relations.*

The Executive Council

The Executive Council is responsible for directing CNR's programming policy and monitoring its performance, taking decisions on organisational, operational, administrative, accounting and financial regulations, the three-year plan and its annual updates, the budgets and the appointment of directors of CNR's institutes.

In 2001, the Executive Council adopted 357 deliberations.

The operational projects to support the Executive Council include the following: the construction of a web area to meet the operational requirements of the 'experts', and ensure the necessary transparency and visibility of procedures and the documents produced by the CNR through the work of its management. This web is used to disseminate the resolutions adopted for consultation both by internal CNR structures and external users.

Comitato di consulenza scientifica

Il Comitato di consulenza scientifica esprime parere obbligatorio sul piano triennale e sugli aggiornamenti annuali. Su richiesta del Consiglio direttivo svolge attività consultiva e di istruttoria.
Il Comitato di consulenza scientifica, nell'anno 2001, è stato chiamato ad esprimersi principalmente sui seguenti atti:
- ristrutturazione della rete scientifica;
- formazione dei consigli scientifici dei nuovi istituti;
- formulazione del piano triennale ;
- monitoraggio e coordinamento degli istituti.

Scientific Advisory Committee

The Scientific Advisory Committee is required to express a opinion on the three-year plan and the annual updates. At the request of the Executive Council it provides consultancy and investigative services.
During 2001, the Scientific Advisory Committee was mainly concerned with completing the following:
- *restructuring the scientific network;*
- *forming the scientific councils of the new institutes;*
- *drawing up the three-year plan;*
- *monitoring and coordinating the institutes.*

Collegio dei revisori dei conti

Il Collegio dei revisori dei conti è composto da un presidente, da due membri effettivi e da due supplenti, nominati con decreto del Ministro dell'università e della ricerca scientifica e tecnologica (oggi MIUR). Il presidente del collegio è designato dal presidente della Corte dei conti, un membro effettivo e uno supplente sono designati dal Ministro del tesoro, bilancio e programmazione economica, gli altri membri sono designati dallo stesso Ministro dell'università e della ricerca scientifica e tecnologica (oggi MIUR). Il collegio dei revisori svolge i compiti previsti dall'articolo 2043 del codice civile per quanto applicabile.

The Board of Statutory Auditors

The Board of Statutory Auditors comprises a Chairman, two Statutory Auditors and two Deputy Auditors appointed by Decree of the Minister for the University and Scientific and Technological Research (today MIUR). The Chairman of the Board is appointed by the President of the Court of Auditors, one Statutory Auditor and one Deputy are appointed by the Minister of the Economy, while the other members are appointed by the Minister of the University and Scientific and Technological Research (today MIUR).
The Board performs the duties provided by article 2043 of the Civil Code, where applicable.

Nucleo di valutazione e controllo strategico

Il Nucleo di valutazione e controllo strategico opera ai sensi dell'art. 6 del decreto legislativo n. 286 del 1999.

Evaluation and Strategic Control Unit

This Unit acts pursuant to section 6 of legislative decree No.286 of 1999.

C N R ● R E P O R T 2 0 0 2

Direzione generale

L'assetto organizzativo degli uffici della Direzione generale, in base alle materie di rispettiva competenza è il seguente:
- Ufficio I - Coordinamento generale, monitoraggio e decentramento;
- Ufficio II - Programmazione e sviluppo edilizio;
- Ufficio III - Relazioni sindacali;
- Ufficio IV - Bilancio.

Gruppo operativo per la gestione straordinaria del piano di assunzioni ai sensi dell'art.13 comma 2 lettera e) del d. lgs. 19/99.

The General Directorate

The organisational structure of the offices of the General Directorate is as follows, by subject matter:
- *Office I - General coordination, monitoring and decentralisation;*
- *Office II - Building planning and development;*
- *Office III - Trade union relations;*
- *Office IV - The budget.*

The operational group for the extraordinary management of the recruitment plan pursuant to section 13(2)(e) of legislative decree No.19/99.

Dipartimento Attività Scientifiche e Tecnologiche (DAST)

Il Dipartimento Attività Scientifiche e Tecnologiche (DAST) è organizzato nei servizi seguenti:
- Servizio I - Programmazione, organizzazione e studi;
- Servizio II - Organi di ricerca e attività di agenzia;
- Servizio III - Convenzioni e concorsi;
- Servizio IV - Rapporti con l'industria ed i servizi;
- Servizio V - Progetto Mezzogiorno;
- Servizio VI - Segreteria tecnico-amministrativa.

Department of Scientific and Technological Activities (DAST)

This department is organised as follows:
- *Service I - Programming, organisation and research;*
- *Service II - Research bodies and agency activities;*
- *Service III - Contracts and competitions;*
- *Service IV - Relations with industry and services;*
- *Service V - Southern Italian projects;*
- *Service VI - Technical-administrative secretariat.*

Dipartimento per le Attività Internazionali (DAI)

Il Dipartimento per le Attività Internazionali si articola come segue:
- Servizio I - Paesi industrializzati - Organismi Internazionali;
- Servizio II - Paesi emergenti ed in transizione;
- Servizio III - Mediterraneo e Medio Oriente - con sede a Napoli;
- Servizio IV - Promozione e rapporti con l'Unione Europea - con sede a Bruxelles;
- Servizio V - Pubblicazioni e informazioni scientifiche.

Department for International Activities (DAI)

This is organised as follows:
- *Service I - Industrialised countries - International organisations;*
- *Service II - Developing countries and countries in transition;*
- *Service III - Mediterranean and Middle East, based in Naples;*
- *Service IV - Promotion and relations with the EU, based in Brussels;*
- *Service V - Scientific publications and information.*

C N R ● R E P O R T 2 0 0 2

Dipartimento per i Servizi Tecnici e di Supporto (DSTS)

Il Dipartimento per i Servizi Tecnici e di Supporto (DSTS) è organizzato nei servizi descritti di seguito.

- Servizio I - Gestione delle risorse umane;
- Servizio II - Concorsi e borse di studio;
- Servizio III - Stato giuridico e trattamento economico del personale;
- Servizio IV - Trattamento previdenziale e di fine rapporto;
- Servizio V - Patrimonio immobiliare;
- Servizio VI - Provveditorato;
- Servizio VII - Ragioneria;
- Servizio VIII - Affari giuridico-legali ed ordinamento;
- Servizio IX - Relazioni con il pubblico;
- Servizio X - Statistica;
- Servizio XI - Contenzioso del lavoro e procedimenti disciplinari;
- Servizio XII - Centro elaborazioni dati;
- Servizio XIII - Reti e telecomunicazioni;
- Servizio XIV - Prevenzione e protezione;
- Servizio XV - Biblioteca centrale.

Department for Technical and Support Services (DSTS)

This is organised in terms of the following services:

- *Service I - Human resource management;*
- *Service II - Competitions and grants;*
- *Service III - Legal status and remuneration of staff;*
- *Service IV - Social security and severance indemnities;*
- *Service V - Real estate;*
- *Service VI - Supplies;*
- *Service VII - Accounts;*
- *Service VIII - Legal and constitutional affairs;*
- *Service IX - Public relations;*
- *Service X - Statistics;*
- *Service XI - Labour disputes and disciplinary procedures;*
- *Service XII - EDP centre;*
- *Service XIII - Networks and telecommunications;*
- *Service XIV - Prevention and protection;*
- *Service XV - Central Library.*

Focus

Geni artificiali: regolazione di fattori di trascrizione nelle terapie

Transcription factors regulation in gene therapy

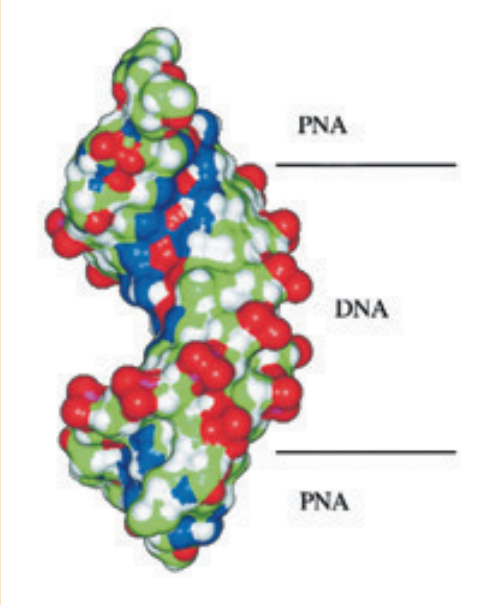
La necessità di interazioni proteina-DNA per il controllo dell'espressione genica è fortemente sostenuta dalla scoperta che DNA a doppio filamento possono essere usati per alterare la trascrizione dei geni attraverso un approccio decoy. Gli acidi peptido-nucleici (PNA) sono stati recentemente proposti come reagenti alternativi in esperimenti finalizzati al controllo dell'espressione genica. Queste molecole ibridizzano con alta affinità sequenze complementari di RNA e DNA a singolo filamento, formando doppie eliche di tipo Watson Crick. Fino ad ora sono disponibili poche informazioni sul possibile uso di PNA come molecole decoy. Gli effetti biologici dei PNA potrebbero rivelarsi in una significativa riduzione e/o nel blocco delle interazioni dei fattori di trascrizione con le sequenze promoter target, portando ad una possibile strategia per la modulazione artificiale dell'espressione genica. Per poter essere utilizzati in applicazioni in vivo, gli oligonucleotidi decoy devono mantenere una conformazione tridimensionale tale da legare specificamente e con la più alta affinità possibile il target molecolare, devono avere una ragionevole stabilità nell'intorno fisiologico (o patologico) di interesse e devono essere facilmente sintetizzati in quantità sufficienti per l'uso clinico. Un modo appropriato per soddisfare i requisiti imposti nei punti precedenti è quello di progettare molecole costituite da blocchi di diversa natura chimica legati covalentemente. Lo scopo è quello di ottenere una molecola con buone proprietà di trasporto ed elevata stabilità alla degradazione enzimatica. Noi abbiamo raggiunto questo scopo sintetizzando sistemi chimerici, in cui un filamento è costituito dal coniugato PNA-5'DNA3'-PNA e il complementare da PNA-5'DNA3'-PNA (Figura 1). Il PNA ha la funzione di migliore la resistenza alle nuclea-

The necessity of protein-DNA interactions for the control of gene expression is strongly supported by the discovery that double stranded DNAs may be used to alter the transcription of genes, via a decoy approach. The peptide nucleic acids (PNA) have recently been proposed as alternative reagents in finalized projects, in the control of gene expression. These molecules hybridize, with high affinity, complementary sequences of RNA and single stranded DNA, forming Watson-Crick type double helices. Until now very little information has been available as to the possible use of PNA as a decoy molecule. The biological effects of the PNA could reveal a significant reduction and/or block in the interactions of transcriptional factors with the target promotor sequences, leading to a possible strategy for the artificial modulation of gene expression. In order to be able to be used in vivo, the decoy oligonucleotides must be able to maintain a three dimensional conformation, such that they can bind specifically and with as high an affinity as possible to the molecular target; they must be reasonably stable in their physiological (or pathological) surroundings and their synthesis must be in sufficient quantity to be clinically useful. One way of satisfying the imposed prerequisites is to project molecules consisting of different chemical blocks, covalently linked together. The aim of such an approach is to obtain a molecule which is easily transportable and is resistant to enzymatic degradation. We have been able to reach this aim by synthesizing chimeric systems (Figure 1), in which one filament is comprised of the conjugate PNA-5'DNA3'-PNA and the complementary one of PNA-5'DNA3'-PNA. The PNA functions in both improving the resistance to nucleases and the stability of the double helix. The main aim of the work in this field, conducted in 2001, was to determine if the PNA-DNA chimeras which mimic the binding sites of

Focus

Geni artificiali: regolazione di fattori di trascrizione nelle terapie

Transcription factors regulation in gene therapy



[1]

[1]
Modello tridimensionale del doppio filamento chimerico pna-dna progettato.
Three dimensional model of the projected chimeric pna-dna double strand.

si e contemporaneamente la stabilità della doppia elica. Lo scopo principale del lavoro condotto nel 2001 in quest'ambito è stato quello di determinare se chimere PNA-DNA mimanti i siti di binding del fattore nucleare kB (NF-kB) sono capaci di interazioni stabili con NFkB p52/p50 e con fattori nucleari da cellule limfoidi-B. Il disegno delle chimere PNA-DNA per NF-Kb fu eseguito con l'utilizzo anche di tecniche di dinamica molecolare per prevedere l'interazione con le proteine nucleari della famiglia dell'NF-kB. Le interazioni tra la chimera PNA-DNA e le proteine NF-kB sono state studiate con saggi elettroforetici di "mobility shift". Inoltre, abbiamo dimostrato che, ibridi tra DNA e chimere DNA-PNA e doppi filamenti chimerici mimanti i siti di legame di HIV-1 NF-kB, sono in grado di sopprimere le interazioni molecolari tra HIV-1 LTR e p50, p52 e fattori nucleari da cellule limfoidi B. I risultati ottenuti chiaramente dimostrano che le chimere disegnate possono essere proposte come potenti molecole decoy in terapia genica.

• • •

CNR
Istituto di biostrutture e bioimmagini

the nuclear factor kB(NF-kB) are able to interact stably with NFkB p52/p50 and nuclear factors of B lymphoid cells. Molecular dynamics were also used to design the PNA-DNA chimeras for NF-kB in order to predict the interaction with the nuclear proteins of the NF-kB family. Mobility shift electrophoretic assays were used to study the interactions between the PNA-DNA chimera and the NF-kB proteins. Furthermore, we have demonstrated that hybrids between DNA and DNA-PNA chimeras, or double stranded chimeras mimicking the binding site of HIV-1 NF-kB are able to suppress the molecular interactions between HIV-1 LTR and p50, p52 and nuclear factors from B lymphoid cells. The results obtained clearly showed that the designed chimeras could be proposed as powerful decoy molecules in gene therapy.

• • •

CNR
Institute of Biostructure and Bioimaging