

**CANDIDATURA PROGETTO DI RICERCA RIGUARDANTE LO STUDIO E LA CURA DELL'EMIPLEGIA ALTERNANTE DELL'INFANZIA (AHC)**  
**L.R. 14/2021 ART.57**

Io sottoscritto **Lorenzo Maria Cecchi**, CF **CCCLNZ69S15I156Q**, nato a **Sanseverino Marche (MC)**, il **15/11/1969** in qualità di **Direttore di Sede** dell'**Università Cattolica del Sacro Cuore – Sede di Roma, P. IVA e Codice Fiscale n. 02133120150**, domiciliato per la carica presso **Largo Francesco Vito,1 – 00168 - Roma (RM)**.

**PRESENTA**

il seguente progetto a valere sulla *“Manifestazione di interesse per l'individuazione di progetti di Ricerca riguardanti lo studio e la cura dell'Emiplegia Alternante dell'Infanzia (AHC)”* approvata con determinazione dirigenziale della Regione Lazio n. **G05722** del **11/05/2022**, quale candidatura per l'accesso al contributo previsto dall'art. 57 della L.R. 11 agosto 2021 n.14

**1. Titolo del Progetto**

Valutazione preclinica e molecolare di piccole molecole candidate al trattamento dell'emiplegia alternante dell'infanzia, identificate mediante screening di molecole safe-in-men

**2. Descrizione del Progetto**

Questo progetto è focalizzato sullo sviluppo pre-clinico di un trattamento candidato per l'emiplegia alternante dell'infanzia (AHC), condizione usualmente sporadica con incidenza stimata di circa 1/100.000. L'effettiva prevalenza della condizione potrebbe essere sottostimata, sia per via della scarsa consapevolezza della condizione che per l'ampia variabilità fenotipica.

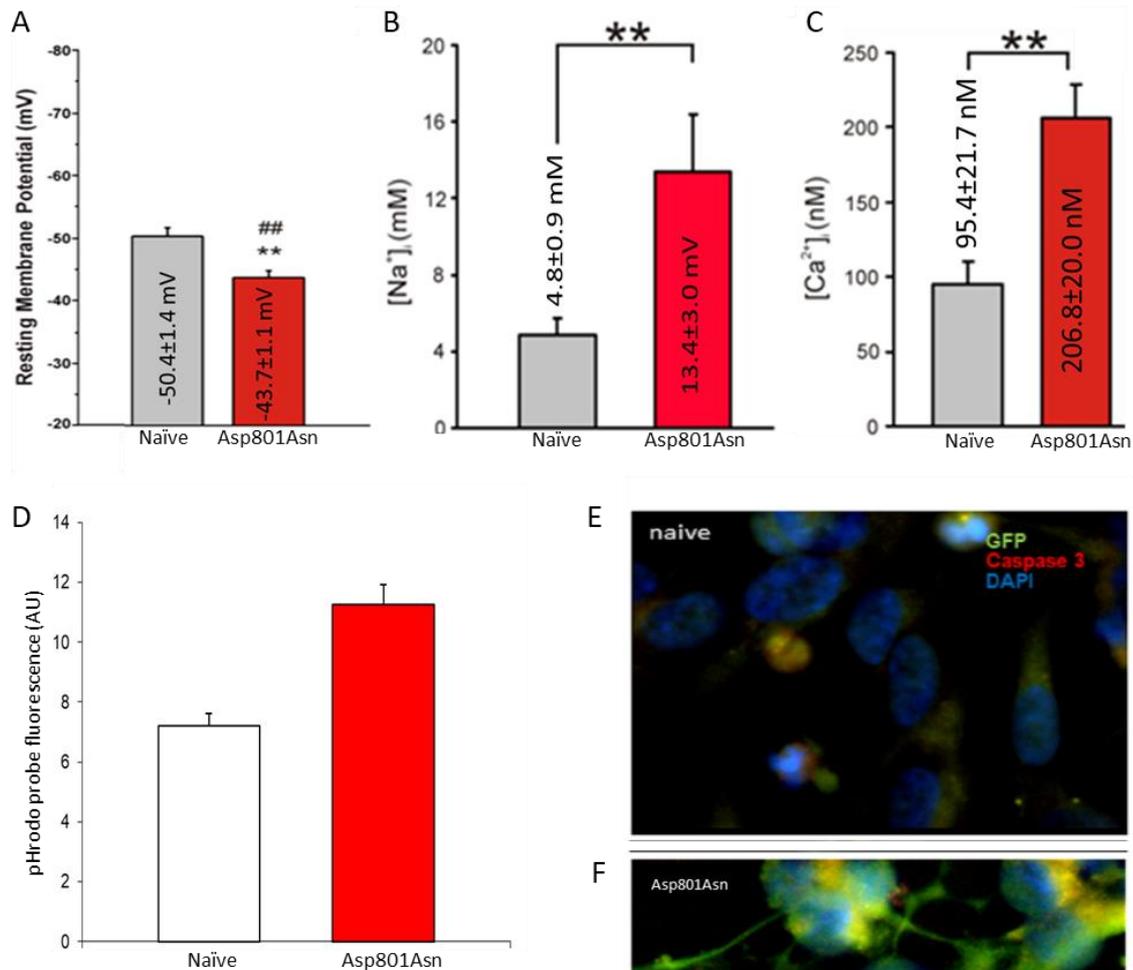
Nel 2012, abbiamo contribuito all'identificazione di varianti de novo di *ATP1A3* come responsabili dell'80% circa dei casi di AHC. *ATP1A3* codifica per una delle subunità dell'isoforma specifica neuronale della pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasi (NKA), che svolge, tra le altre, un ruolo pivotale nel mantenimento del potenziale d'azione a riposo delle cellule, regolando l'eccitabilità neuronale. Le mutazioni di *ATP1A3* sono responsabili di diversi fenotipi, generalmente caratterizzati da eventi parossistici ed accessuali.

Dal punto di vista clinico, l'AHC è una condizione devastante, caratterizzata da disabilità intellettuale, epilessia, buffè di attacchi emiplegici alternanti e distonici; gli episodi critici sono spesso scatenati da eventi specifici e tipicamente spariscono col sonno. La prognosi dell'AHC è di solito scarsa, con compromissione neurologica progressiva e disabilità motoria.

La gravità clinica della condizione è ampiamente variabile e parzialmente correlata con il difetto genetico: una delle due varianti più frequenti (1/3 dei pazienti circa), la Glu815Lys, è associata al fenotipo più grave. La seconda mutazione più frequente è responsabile di un fenotipo AHC tipico ma con segni clinici meno gravi. La mutazione Gly947Arg (riscontrata nel 10% dei pazienti) è associata a manifestazioni cliniche molto meno gravi. La patologia molecolare dell'AHC è sconosciuta; similmente non vi sono trattamenti efficaci.

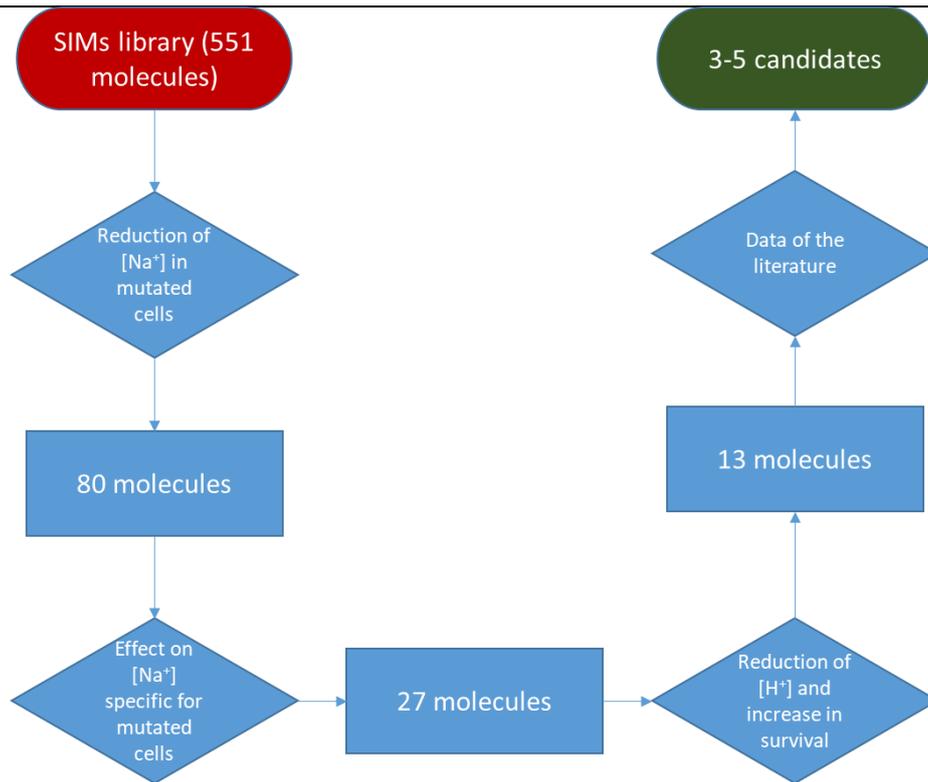
Uno dei Collaboratori di questo studio ha sviluppato e caratterizzato modelli murini con le due mutazioni AHC di *ATP1A3* più frequenti (Glu815Lys and Asp801Asn), che riproducono piuttosto fedelmente le caratteristiche fenotipiche dell'AHC.

Abbiamo sviluppato un modello cellulare di AHC, mediante trasfezioni permanenti di cellule di neuroblastoma umano SH-SY5Y con cDNA di *ATP1A3* con le mutazioni AHC più frequenti (Glu815Lys, Asp801Asn, Gly947Arg) sotto il controllo di un promotore ubiquitario. Le principali caratteristiche fenotipiche delle cellule mutate sono 1) accumulo di  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulare, 2) significativa acidificazione del pH citoplasmatico, 3) depolarizzazione della membrana plasmatica e 4) apoptosi in corso di differenziamento (Fig. 1). La maggior parte di queste caratteristiche possono essere monitorate mediante piattaforme per high-content screening.



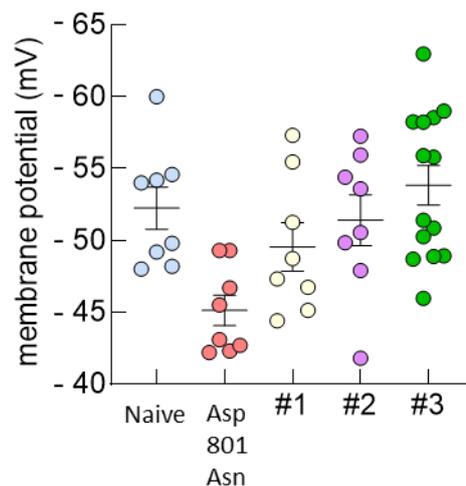
**Fig. 1. Phenotypic characterization of the AHC-cell model.** SH-SY5Y cells were permanently transfected with vectors expressing the *ATP1A3* different mutations. In particular, the Asp801Asn mutation induces a significant depolarization of the plasma membrane (A), a huge increase in [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> (B), [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> (C), [H<sup>+</sup>]<sub>i</sub> with a consequent cytoplasm acidification. The effect of mutation on ion concentration was determined by confocal microscopy and specific fluorescent probes (CoroNa, Fluo-4, pHrodo, respectively). Additionally, in mutated cells we observed the cleavage of Caspase 3 (F, in E are represented naive cells), indicative of apoptosis activation.

Abbiamo utilizzato la linea cellulare con la Asp801Asn per effettuare uno screening medium throughput di una library di 551 composti safe-in-men, per identificare molecole candidate al trattamento dell'AHC. Abbiamo utilizzato la strategia schematizzata nella figura 2: 1) primo round di screening e conferma di composti in grado di ripristinare [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> delle cellule mutate ai livelli riscontrati nelle cellule SH-SY5Y naive (551->80 molecole); 2) composti selettivamente efficaci sulla [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> unicamente nelle cellule mutate (e non nelle naive, 80->27 molecole); 3) efficacia sul pH intracellulare e sulla sopravvivenza in corso di differenziamento (27->13 molecole). I composti della rosa finale di candidati sono stati prioritizzati sulla base dei dati presenti in letteratura: in particolare, abbiamo selezionato composti noti per la loro efficacia sul SNC o per attraversare la barriera emato-encefalica.



**Fig. 2. Schematic representation of the compound screening.** Selection of candidate compounds has been performed using the Operetta platform and fluorescent probes for the different ions ( $\text{Na}^+$  or  $\text{H}^+$ ). The shortlist of compounds includes molecules active in mutated cells only.

Abbiamo valutato mediante patch-clamp la capacità di iperpolarizzare il potenziale di membrana per i tre composti maggiormente interessanti. Come mostrato in fig. 3, i composti #2 e #3 determinano una riduzione significativa del potenziale di membrana mentre il composto #1 presenta un trend di significatività.



**Fig. 3. Compounds #1-3 restore the membrane potential of mutated cells at the naive levels.** Cells were treated for 4 hours with each of the 3 compounds; membrane potential was evaluated by patch-clamp. While #1 display a trend of significance, the reduction induced by the other two compounds is widely significant.

Il presente Progetto è la prosecuzione naturale dello studio che abbiamo riportato sopra. Valuteremo il meccanismo d'azione e l'efficacia preclinica dei composti #1, #2 e #3. A questo scopo ci avvarremo della collaborazione (i nostri partner) di Ricercatori con elevata expertise nei settori specifici: il Prof. Mikati è uno dei maggiori esperti mondiali di AHC ed ha sviluppato i modelli animali della condizione oggi disponibili; il Dr. Dr Crispin De Billy ha enorme esperienza nell'ambito delle piattaforme high-content screening (abbiamo già collaborato con

lui nello screening dei composti utilizzati in questo studio); il Prof. Ripoli ha vastissima esperienza in ambito elettrofisiologico e di studio di sistemi neuronali.

I nostri risultati potrebbero portare all'identificazione del primo trattamento specifico per la AHC: la scelta di composti safe-in-men consentirà di accelerare l'entrata in sperimentazione umana.

### 3. Partner (eventuali) del Progetto

- Prof. Mohamad Mikati, Division of Pediatric Neurology and Developmental Medicine, Duke University Medical Center, Durham, NC, USA (valutazione preclinica dell'efficacia dei composti)
- Dr. Emmanuel De Crispin De Billy, Dipartimento di Oncoematologia e Medicina TrASFusionale, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma (high-content screening)
- Prof. Cristian Ripoli, Sezione di Fisiologia, Dipartimento di Neuroscienze, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma (studi di elettrofisiologia)

### 4. Obiettivi e risultati attesi

L'AHC è una condizione orfana molto rara che non ha mai ricevuto fondi di ricerca consistenti dall'Industria o dalle maggiori Agenzie di finanziamento internazionali. La maggior parte dei progetti di ricerca sono stati ad oggi finanziati dalle associazioni di famiglie che sono spesso piccole e con capacità limitate di attrazione di fondi. Nonostante il difetto genetico responsabile dell'80% dei casi di AHC sia stato identificato ormai 10 anni fa e la condizione sia devastante per pazienti e famiglie, ad oggi non sono stati effettuati trial clinici sperimentali mirati. L'efficacia dei trattamenti oggi disponibili è del tutto insoddisfacente in termini di controllo dei sintomi che maggiormente compromettono la qualità della vita dei pazienti, gli attacchi parossistici non-epilettici. Pertanto, sebbene riguardi un numero relativamente piccolo di pazienti, l'impatto economico dell'AHC è piuttosto elevato sia per la gravità del quadro clinico che per l'aspettativa di vita. Negli ultimi anni, per diverse malattie rare sono stati identificati trattamenti promettenti ed efficaci che hanno determinato un sostanziale miglioramento della qualità della vita dei pazienti e delle loro famiglie. A differenza di altre condizioni, i cui trattamenti innovativi sono estremamente costosi, il successo del nostro progetto potrebbe consentire di sviluppare un trattamento poco costoso (basato sulla riproposizione di molecole precedentemente testate) che potrebbe essere utile anche per altre condizioni parossistiche che condividono alcune caratteristiche cliniche con l'AHC (come, ad esempio, altri fenotipi correlati alle  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPasi, quali l'emigrania emiplegica familiare, la CAPOS, etc.).

### 5. Struttura complessiva del Progetto

Il presente progetto include due work package (WP) principali che presentano diversi punti di intersezione. Il WP1 è prevalentemente molecolare ed in vitro ed è finalizzato alla caratterizzazione del meccanismo d'azione dei composti candidati al trattamento dell'AHC. Il WP2 è finalizzato alla valutazione dell'efficacia pre-clinica dei composti sul modello animale della condizione, ed a fornire informazioni relative ai meccanismi di malattia dell'AHC.

**WP1: caratterizzazione molecolare del meccanismo d'azione di composti candidati**

**Milestones:** In questa parte del progetto procederemo all'ulteriore caratterizzazione del nostro modello cellulare di AHC. In particolare, valuteremo i sistemi di trasduzione intracellulare del segnale, alterati nelle cellule con le diverse mutazioni di *ATP1A3*, sia non trattate che in risposta ai diversi composti. Riteniamo verosimile che la eliminazione del  $[\text{Na}^+]$  intracellulare e l'effetto sulla sopravvivenza delle cellule dei nostri composti candidate non siano mediati dalla modulazione diretta della proteina *ATP1A3*. È ragionevole pensare che i composti agiscano a valle della pompa mutata, sia attivando canali ionici accessori oppure modificando sistemi specifici di trasduzione del segnale. Questa parte del progetto verrà effettuata mediante approcci -omici, in particolare valutando la modulazione di pathway a livello trascrizionale. Questa parte del progetto verrà effettuata presso il Laboratorio del PI.

A valle dell'identificazione dei pathway candidati, ne valuteremo la modulazione mediante lo studio di molecole chiave di segnale a livello post-traduzionale. Inoltre, il potenziale coinvolgimento di canali ionici accessori verrà valutata mediante studi elettrofisiologici, svolti in collaborazione con il Prof. Cristian Ripoli, dell'Istituto di Fisiologia Umana della nostra Università.

**Deliverables:** I dati di questo WP saranno indispensabili per determinare il meccanismo d'azione dei composti. In previsione della sperimentazione umana, i dati ottenuti in questa parte del progetto saranno necessari non solo in relazione all'AHC ma anche ad altre condizioni dovute a mutazioni di *ATP1A3* o di altri geni che condividano il

meccanismo di malattia con l'AHC, come nel caso di alcune altre canalopatie o di forme più rare di AHC, non-ATP1A3 relate.

WP 2: Valutazione pre-clinica dei composti candidati

*Milestones:* Questa parte del progetto verrà effettuata in collaborazione con il prof. Mikati ed il Dr. De Billy. Valuteremo la capacità dei composti candidati di ridurre gli episodi parossistici inducibili, osservati nei topi affetti. Il primo gruppo di esperimenti saranno finalizzati a valutare: 1) la tollerabilità dei topi affetti alle somministrazioni ripetute di farmaci; 2) il dosaggio ottimale dei singoli composti; 3) la via di somministrazione ottimale. La valutazione preclinica dei composti verrà effettuata dal Prof. Mikati. Nella fase successiva, valuteremo l'effetto del trattamento cronico sia in termini di variazione degli eventi parossistici (frequenza, inducibilità e durata) e comportamentali.

La collaborazione con il Prof. Mikati è già in corso da svariati anni, anteriore al presente progetto e che ha portato, tra l'altro, all'identificazione di ATP1A3 come gene maggiore dell'AHC (Heinzen et al., 2012) e di nuovi geni responsabili (Panagiotakaki, Mikati, Tiziano et al., submitted). La copertura dei costi e le autorizzazioni del comitato etico di riferimento per il mantenimento ed il trattamento del modello pre-clinico sarà coperto con altri fondi di ricerca ottenuti dal Prof. Mikati in collaborazione con il PI del presente progetto.

Utilizzeremo piattaforme per high-content screening per caratterizzare la morfologia cerebrale dei topi mutanti, con specifico riguardo del conteggio di specifiche sub-popolazioni neuronali e della morfologia sinaptica. Questi aspetti verranno valutati in topi mutati di diverse età, rispetto a topi wild-type appaiati per età, trattati o non-trattati con i composti candidati. Una volta identificate le sottopopolazioni maggiormente coinvolte, procederemo alla loro caratterizzazione molecolare, mediante esecuzione dell'intero trascrittoma su cellule selezionate mediante laser capture e microdissezione. Questa parte dello studio verrà effettuata in collaborazione con il Prof. Mikati che fornirà i cervelli dei topi mutati, il Dr. De Billy per l'uso delle piattaforme di high-content screening e presso il Laboratorio del PI. La disponibilità di dispositivi di high-content screening consentirà di ottenere grandi quantità di dati su un numero ampio di cellule e su diverse caratteristiche morfologiche che non potrebbero essere ottenuti mediante approcci convenzionali.

*Deliverables:* questi dati saranno indispensabili per decidere se procedere alla valutazione clinica dei composti sui pazienti. Il numero molto limitato di pazienti disponibili, tenuto conto della rarità della condizione, richiederà un disegno dello studio estremamente accurato che possa portare a risultati (positivi o negativi) interpretabili in maniera univoca. I dati preclinici, sebbene non riflettano necessariamente quanto poi si osserva nei pazienti, tuttavia forniscono una base indispensabile di dati preliminari.

Il **coordinatore tecnico-scientifico** del progetto è il prof. Francesco Danilo Tiziano. I **collaboratori chiave** saranno la dr.ssa Agnese Novelli e la dr.ssa Emanuela Abiusi, entrambe afferenti al gruppo di ricerca del Prof. Tiziano.

Il **coordinatore amministrativo** del progetto è il Dott. Lorenzo Maria Cecchi, Direttore di Sede dell'Università Cattolica del Sacro Cuore - Sede di Roma, ed il suo sostituto è l'Avvocato Filippo Elvino Leone, Responsabile dell'Ufficio-Ricerca dell'Università Cattolica del Sacro Cuore - Sede di Roma.

#### **Curriculum breve del coordinatore tecnico-scientifico:**

Francesco Danilo Tiziano è professore associato di Genetica Medica presso la Sezione di Medicina Genomica del Dipartimento di Scienze della Vita e Sanità Pubblica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore. Inoltre, è Dirigente Medico del Servizio di Genetica Medica e Ricercatore della Fondazione Policlinico Universitario IRCCS "A. Gemelli" di Roma. Il Prof. Tiziano ha un profilo internazionale nell'ambito di diagnosi e ricerca sull'AHC e sull'atrofia muscolare spinale (SMA). Negli ultimi anni è stato responsabile del primo progetto pilota italiano (ed uno dei primi al Mondo) per l'implementazione dello screening neonatale della SMA tra quelli obbligatori per Legge. È membro del comitato scientifico dell'Associazione Famiglie SMA Onlus ed è consulente scientifico di AISEA Onlus.

Il prof Tiziano è autore di 76 pubblicazioni su riviste internazionali con impact factor, ha un H-index di 35 e 4582 citazioni (fonte: Scopus).

#### **Diffusione e trasferimento dei risultati del progetto**

I dati verranno presentati a congressi Nazionali e (prevalentemente) Internazionali. Verranno inoltre pubblicati su riviste internazionali con impact factor. L'eventuale protezione della proprietà intellettuale verrà valutata caso per caso e discussa con i referenti del Servizio Ricerca dell'Università Cattolica del Sacro Cuore.

#### **Pubblicazioni inerenti o correlate al presente progetto degli ultimi 5 anni:**

- Tiziano FD, Lomastro R, Abiusi E, Pasanisi MB, Di Pietro L, Fiori S, Baranello G, Angelini C, Sorarù G, Gaiani A, Mongini T, Vercelli L, Mercuri E, Vasco G, Pane M, Vita G, Vita G, Messina S, Petillo R, Passamano L, Politano L, Campanella A, Mantegazza R, Morandi L. (2019). Longitudinal evaluation of SMN levels as biomarker for spinal muscular atrophy: results of a phase IIb double-blind study of salbutamol. *J Med Genet.* 56:293-300
- Severino M, Pisciotta L, Tortora D, Toselli B, Stagnaro M, Cordani R, Morana G, Zicca A, Kotzeva S, Zanaboni C, Montobbio G, Rossi A, De Grandis E; IBAHC Consortium. White matter and cerebellar involvement in alternating hemiplegia of childhood. *J Neurol.* 2020 267:1300-1311.
- Abiusi E, Infante P, Cagnoli C, Lospinoso Severini L, Pane M, Coratti G, Pera MC, D'Amico A, Diano F, Novelli A, Spartano S, Fiori S, Baranello G, Moroni I, Mora M, Pasanisi MB, Pocino K, Le Pera L, D'amico D, Travagliani L, Ria F, Bruno C, Locatelli D, Bertini ES, Morandi LO, Mercuri E, Di Marcotullio L, Tiziano FD (2021). SMA-miRs: miR-181a-5p, -324-5p, -451a are overexpressed in spinal muscular atrophy skeletal muscle and serum samples. *Elife.* 10:e68054.
- Cordani R, Stagnaro M, Pisciotta L, Tiziano FD, Calevo MG, Nobili L; I.B.AHC Consortium, De Grandis E (2021). Alternating Hemiplegia of Childhood: Genotype-Phenotype Correlations in a Cohort of 39 Italian Patients. *Front Neurol.* 12:658451.
- Pane M, Coratti G, Sansone VA, Messina S, Bruno C, Catteruccia M, Sframeli M, Albamonte E, Pedemonte M, D'Amico A, Bravetti C, Berti B, Brigati G, Tacchetti P, Salmin F, de Sanctis R, Lucibello S, Piastra M, Genovese O, Bertini E, Vita G, Tiziano FD, Mercuri E; Italian Expanded Access Program Working Group. Nusinersen in type 1 spinal muscular atrophy: Twelve-month real-world data. *Ann Neurol.* 2019 Jun 22. doi: 10.1002/ana.25533.

#### **Progetti connessi al tema oggetto del presente progetto:**

“TREAT-AHC. Identification of compounds for the treatment of Alternating Hemiplegia of Childhood by drug repositioning. Molecular and pre-clinical evaluation and clinical outcome measure validation”. Finanziato da La Marato de TV3, Spain

Durata: gennaio 2020 ad oggi

“Identificazione di un farmaco candidato al trattamento dell'emiplegia alternante mediante medium throughput screening”. Finanziato da Associazione Italiana Sindrome Emiplegia Alternante (AISEA Onlus)

Durata: settembre 2018 ad oggi

“Screening neonatale per l'atrofia muscolare spinale nel Lazio e in Toscana: un progetto pilota di due anni”. Finanziato da Biogen Pharmaceuticals Inc.

Durata: settembre 2018 - settembre 2021

“HLA and innate-immunity gene variants as severity predictors of COVID-19: an Italian multi-centric prospective association study”. Finanziato da Emergex Vaccines (Finanziamento €218000)

Durata: novembre 2021 - novembre 2022

#### **6. Descrizione di ciascun Work Package**

WP1: caratterizzazione molecolare del meccanismo d'azione dei composti candidate

Task1: L'analisi dell'intero trascrittoma verrà effettuata utilizzando le piattaforme di sequenziamento di nuova generazione (NGS) ION-Proton (Thermofisher) disponibili presso la nostra Istituzione. Per i campioni non trattati (linee cellulari naïve e quelle con ciascuna delle tre mutazioni) analizzeremo almeno tre replicati biologici. Per ciascun trattamento, analizzeremo due replicati biologici (delle linee cellulari naïve o con la mutazione Asp801Asn). Le cellule verranno trattate per 4 ore con 10 µM di ciascun composto. Una massa minima di  $2 \times 10^7$  reads di sequenza verranno considerate sufficienti. Per l'analisi quantitativa utilizzeremo la pipeline TopHat-Cufflinks.

*Deliverable 1:* questa parte del progetto ci consentirà di identificare il meccanismo d'azione dei composti candidati, dati di estrema rilevanza per le successive applicazioni cliniche.

**Task2:** validazione dei dati ottenuti nel *Task 1*. Una volta identificati i pathway di trasduzione del segnale deregolati nell’AHC e modulati dalle molecole candidate, sarà necessario confermare i dati -omici mediante approcci targeted basati su esperimenti a livello proteico ed elettrofisiologico. Tali metodi verranno presi in considerazione in base ai risultati ottenuti nel *Task 1*.

**Deliverable 2:** unitamente a quelli del *Task 1*, questi risultati sono indispensabili per la caratterizzazione molecolare dei farmaci candidati al trattamento dell’AHC.

**WP 2:** Valutazione preclinica dei composti candidati

**Task 3:** per l’efficacia pre-clinica dei composti, analizzeremo i seguenti gruppi (10 animali/Gruppo):

- topi mutanti trattati col veicolo del composto
- topi mutanti trattati col principio attivo
- topi wt trattati col veicolo del composto
- topi wt trattati col principio attivo.

Il dosaggio ottimale di ciascun principio attivo verrà determinato in base ai dati preliminari di efficacia e tossicità. La somministrazione dei composti verrà effettuata per via sistemica intra-peritoneale dal giorno P1 a P40. La valutazione fenotipica dei topi affetti verrà effettuata con diverse misure di outcome a P33 e P40. In dettaglio, utilizzeremo: Balance Beam e Rotarod test seguito dal Cold Water forced Swim Induction Test. Balance Beam e Rotarod test consentiranno di documentare potenziali eventi avversi del trattamento sulle abilità motorie dei topi trattati. Il Cold Water Force Swim induction Test consentirà di documentare l’effetto del trattamento sugli eventi parossistici dell’AHC (distonia, emiplegia, epilessia). L’analisi statistica verrà effettuata mediante MANOVA e Kruskal-Wallis test per confrontare i diversi gruppi. is to document the effect of therapy on induced AHC spells (dystonia, hemiplegia and seizures).

**Deliverable 3:** questi dati saranno assolutamente necessari per stabilire se i dati ottenuti *in vitro* siano traslabili *in vivo*, prerequisito per la valutazione clinica dei composti.

**Task 4:** analisi morfo-funzionale del cervello dei topi AHC, trattati e non trattati.

I cervelli di topi mutati e wild type verranno dissezionati e congelati a fresco per le analisi morfologiche. Per le analisi di immuno-istofluorescenza, utilizzeremo le metodiche già messe a punto presso il nostro laboratorio. Il conteggio cellulare e l’analisi quantitativa dei tessuti verranno effettuati mediante la piattaforma Operetta (Perkin Elmer).

**Deliverable 4:** questi dati consentiranno di ottenere informazioni sui meccanismi di malattia correlati alla presenza di mutazioni di ATP1A3 e sull’effetto dei trattamenti farmacologici sulla morfologia cellulare dei neuroni.

**Svolgimento del progetto**

Per via del coinvolgimento di gruppi con expertise diversa, la maggior parte delle attività dello studio saranno svolte in parallelo. Lo svolgimento temporale previsto è schematizzato nel grafico di Gantt.

Activity	Year 1				Year 2	
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2
Molecular characterization of mutated cells						
Characterization of the mode of action of compounds						
Pre-clinical evaluation of candidate compounds						
morphological analyses of brain tissues						

## 7. Costi del progetto

Il presente progetto prevede il coinvolgimento di personale con diverse competenze il cui salario verrà soltanto in parte coperto con i fondi assegnati dalla Regione Lazio. In particolare, quanto previsto nel budget verrà utilizzato per un contratto di collaborazione libero-professionale per la Dr.ssa Agnese Novelli (Biotecnologo con Dottorato di Ricerca in Genetica Molecolare ed attualmente Assegnista di Ricerca con il PI come tutor) che sarà coinvolta all'80% in questo progetto, in particolare per lo svolgimento del WP1 e per le parti del WP2 di competenza del gruppo del PI (le caratterizzazioni molecolari del modello murino). Il ruolo della dr.ssa Novelli sarà di effettuazione delle analisi molecolari previste dal progetto, con particolare riferimento alla caratterizzazione dell'effetto *in vitro* delle molecole candidate e sui tessuti dei topi mutanti trattati. La dr.ssa Novelli ha avuto un ruolo chiave nell'effettuazione dello screening delle molecole e nella caratterizzazione molecolare dei composti candidati, insieme alla dr.ssa Abiusi.

Emanuela Abiusi (Medico Chirurgo con Specializzazione in Genetica Medica e Dottorato di Ricerca in Genetica Molecolare) è RTDA presso la Sezione di Medicina Genomica del Dipartimento di Scienze della Vita e Sanità Pubblica dell'Università Cattolica. Il Suo impegno nel progetto è del 10% e sarà coinvolta nel supporto alla dr.ssa Novelli sia nelle metodiche di laboratorio che nell'analisi dei dati.

Cristian Ripoli è Professore Associato presso la Sezione di Fisiologia Umana del Dipartimento di Neuroscienze dell'Università Cattolica del Sacro Cuore. Il Prof. Ripoli ha collaborato sin dalle fasi preliminari del presente progetto, già durante l'identificazione delle molecole candidate. Il Suo impegno nel progetto sarà del 5%. Il prof. Ripoli ha vastissima esperienza nel campo dell'elettrofisiologia sia su colture cellulari che organotipiche; il suo contributo sarà determinante nello sviluppo del presente progetto.

Gli altri Collaboratori del Progetto (il Dr. De Billy ed il Prof. Mikati) afferiscono ad altre Istituzioni con le quali hanno già in essere contratti di lavoro dipendente di diverso tipo. Le attività di laboratorio previste per lo svolgimento del WP2 saranno pertanto svolte da personale afferente alle diverse istituzioni, coperto con fondi indipendenti da questo grant il cui budget non sarebbe comunque sufficiente a coprire interamente i costi del progetto

Il budget allocato ai materiali di Laboratorio consentirà di coprire solo in parte i costi del progetto. Una parte dello sviluppo dello stesso verrà realizzato mediante altri fondi già disponibili o che verranno via via ottenuti mediante partecipazione ad altri bandi di ricerca.

In particolare, il budget previsto verrà utilizzato nel primo anno per l'acquisto dei reagenti di laboratorio necessari all'effettuazione dell'analisi del trascrittoma delle colture cellulari, trattate e non trattate. Questo tipo di analisi verrà effettuato *in house* mediante le piattaforme già disponibili (sequenziatore NGS ION Proton, ThermoFisher). Il costo per campione *attuale* si aggira intorno agli 800 euro (IVA esclusa), compresi reagenti di preparazione dei campioni e di sequenziamento degli stessi. La stima dei costi è variabile e soggetta all'inflazione contingente ed all'aumento dei costi di mercato dei materiali utilizzati per i sequenziatori a semi-conduttori, quali le piattaforme ION.

La conferma dei risultati ottenuti mediante NGS verrà effettuata in PCR realtime. Le piattaforme necessarie (Vii7 Instrument, Life Technologies) sono già disponibili presso l'Istituzione. Pertanto, il budget allocato verrà utilizzato per l'acquisizione dei reagenti. La stima esatta dei costi è variabile e dipendente dal numero di geni differenzialmente espressi identificati mediante trascrittoma. Sulla base di esperimenti simili condotti presso il nostro Laboratorio su altre condizioni geneticamente determinate, si può stimare il numero di trascritti da validare (prioritizzati sulla base dell'analisi bio-informatica) nell'ordine del centinaio. La metodica di conferma (sonde Taqman vs. SybrGreen, che presentano costi di reagenti diversi) verrà stabilita gene per gene.

Il budget allocato per il secondo anno prevede anche l'acquisto di reagenti e materiali di laboratorio per immunostochimica da condurre su sezioni dei cervelli dei topi trattati e non trattati. Esso pertanto comprende il costo di anticorpi specifici, reagenti comuni e consumabili per microscopia ottica e confocale in fluorescenza. Inoltre, verrà condotta l'analisi di trascrittomi di cellule cerebrali (neuroni e cellule gliali) di topi affetti trattati e non trattati, ottenuti mediante microdissezione laser di sezioni di tessuto cerebrale. La scelta degli anticorpi verrà condotta sulla base dei risultati dell'analisi trascrittomica, dopo prioritizzazione bio-informatica ed identificazione dei geni target. Infine, in collaborazione col Dr. De Billy, effettueremo il conteggio delle cellule neuronali e la valutazione quantitativa dell'espressione di proteine target mediante la piattaforma per high-throughput screening già utilizzata durante lo

screening di molecole (Operetta, Perkin Elmer). Il costo dei reagenti per tali esperimenti verranno coperti con il budget del presente progetto.

Voci di spesa	Wp1	Wp2	Totale
a) Costi per il personale	27.000 €	27.000 €	54.000 €
b) Ammortamenti strumentazione			
c) Servizi			
d) Materiali	30.000 €	52.000 €	82.000 €
e) Canoni noleggio o leasing strumentazione			
f) Diffusione e al trasferimento dei risultati del progetto	3.000 €	3.000 €	6.000 €
g) Costi indiretti forfettari			7.100 €
<b>Totale Costo del Progetto</b>			<b>149.100 €</b>

A tal fine dichiara di avere preso visione di tutte le condizioni e le modalità indicate nelle Manifestazione di interesse e dell'Informativa privacy di cui all'appendice 1.

Dichiara, altresì:

- di essere a conoscenza delle sanzioni penali in cui incorre in caso di dichiarazione mendace ai sensi dell'art.76 del DPR 445/2000,
- di essere a conoscenza dell'art. 75 del DPR 445/2000 relativo alla decadenza di benefici eventualmente conseguenti al provvedimento emanato qualora l'Amministrazione, a seguito di controllo, riscontri la non veridicità del contenuto di quanto dichiarato.

ROMA, 20/06/2023

**Il Direttore Di Sede**

Dott. Lorenzo Maria Cecchi

Università Cattolica Del Sacro Cuore -  
Sede Di Roma

---

FIRMA (DIGITALE)

Si allega documento di identità

## **PROGETTO SAFE-IN-MAN**

“Valutazione preclinica e molecolare di piccole molecole candidate al trattamento dell’Emiplegia Alternante dell’infanzia, identificate mediante screening di molecole SAFE-IN-MAN”

Disciplinare per la determinazione e la rendicontazione dei costi sostenuti per lo svolgimento del progetto



## 1. Premessa

Il presente documento contiene le linee guida per la predisposizione dei rendiconti che l'Università Cattolica del Sacro Cuore (di seguito per brevità l'Università), dovrà redigere a fronte della ricezione di risorse finanziarie da parte della Regione Lazio, per lo svolgimento delle attività di ricerca e sviluppo riferite al progetto SAFE-IN-MAN (Valutazione preclinica e molecolare di piccole molecole candidate al trattamento dell'Emiplegia Alternante dell'infanzia, identificate mediante screening di molecole Safe-in-Man).

## 2. Obblighi del soggetto convenzionato

L'Università è tenuta a presentare, secondo quanto previsto nella Convenzione, la rendicontazione dei costi effettivamente sostenuti nel periodo in esame, consistente in un elenco contabile analitico, ove risultino indicate le fatture e gli altri titoli di spesa, il relativo importo posto a carico della progettualità, secondo i criteri illustrati nel presente disciplinare.

La rendicontazione dovrà essere compilata sui formati di rendicontazione allegati al presente disciplinare, denominati nel loro insieme "modulistica di rendicontazione". L'Università è tenuta a raccogliere tutta la documentazione a supporto della rendicontazione, che trasmetterà alla Regione Lazio nel rispetto di quanto disposto nella Convenzione.

La "modulistica di rendicontazione" comprende il rendiconto complessivo, con le singole tabelle dei costi, ad esso collegate. Fanno parte integrante di tale modulistica i seguenti documenti:

- relazione tecnico-scientifica finale;
- dichiarazione in autocertificazione della data di fine progetto;
- time-sheet del personale partecipante al progetto

Ogni singola tabella, relativa ad una specifica categoria di costo, dovrà essere timbrata e firmata dal responsabile della convenzione. Tale tabella accompagnerà la documentazione amministrativa, unitamente agli allegati di cui sopra.

La relazione tecnica, comprovante l'avvenuta conclusione del progetto, dovrà illustrare nel dettaglio l'andamento delle attività, i risultati conseguiti in relazione agli obiettivi preventivati, le problematiche emerse e gli eventuali cambiamenti rispetto al progetto.

Si rammentano gli obblighi del beneficiario circa la tenuta della documentazione relativa al progetto, che deve essere:

- consultabile in originale;
- chiaramente identificabile;
- archiviata secondo le procedure adottate dall'Università (raccolta digitale o cartacea separata di tutta la documentazione relativa al progetto);
- tenuta nel rispetto dei criteri civilistici e fiscali in tema di contabilità e dei regolamenti di contabilità del beneficiario;
- conservata nel rispetto dell'art. 90 del Regolamento (CE) N. 1083/2006.

### **3. Criteri generali**

#### **3.1 Impegni**

I costi dovranno derivare da atti giuridicamente vincolanti (contratti, lettere di incarico, ecc.) da cui risulti chiaramente l'oggetto della prestazione o fornitura, il suo importo, la sua pertinenza al progetto ed alle attività svolte.

#### **3.2 Criterio di ammissibilità e pagamento documenti di spesa**

I costi saranno riconosciuti solo se effettivamente sostenuti dal soggetto convenzionato. Le fatture e gli altri titoli di spesa devono essere emessi entro la data di fine progetto e il pagamento essere effettuato entro la data di presentazione della rendicontazione.

Le fatture e gli altri titoli di spesa di cui non si dia dimostrazione inequivoca dell'avvenuto pagamento alla presentazione del rendiconto contabile saranno esclusi dai costi ammissibili.

#### **3.3 Vigenza temporale e varianti all'articolazione del costo del progetto**

I costi saranno riconosciuti solo se sostenuti nell'ambito del progetto, attinenti allo svolgimento delle attività espressamente indicate nel progetto stesso e richiamate in Convenzione.

Le eventuali variazioni che dovessero determinare scostamenti rispetto al piano finanziario originario, superiori al 20% oppure inferiori al 20% ma tali da determinare una variazione degli obiettivi dei work packages progettuali, devono essere trasmesse alla Regione Lazio, per le opportune valutazioni.

Il periodo di ammissibilità delle spese decorre dalla data di approvazione del progetto.

#### **3.4 I.V.A**

I costi riguardanti le diverse tipologie di spesa dovranno considerarsi in via ordinaria comprensivi di I.V.A essendo tale imposta non trasferibile per il soggetto destinatario del finanziamento.

Nel caso in cui tale imposta risulti trasferibile in sede di presentazione della dichiarazione periodica gli stessi dovranno considerarsi al netto di I.V.A.

#### **3.5 Fatture in valuta diversa dall'euro**

Nella rendicontazione contabile delle fatture con divisa diversa dall'euro, per la valutazione del costo dovrà essere riportato il cambio in euro relativo al giorno di effettivo pagamento delle fatture stesse. Resteranno in ogni caso esclusi gli oneri per spese e commissioni.

#### **3.6 Accettazione delle rendicontazioni e delle relazioni scientifiche**

Nel rispetto dell'ammontare totale del progetto, i maggiori importi rendicontati su una voce di spesa potranno essere compensati dai minori importi rendicontati su altre voci di spesa. Tali variazioni, se contenute entro il 20% dell'importo iniziale della voce di spesa che riceve la variazione in aumento, non necessitano dell'autorizzazione preventiva. Tali variazioni sono comunque oggetto di comunicazione alla Regione Lazio da parte del soggetto convenzionato con indicazione delle voci di spesa coinvolte, degli importi iniziali e dell'importo della variazione.

#### **3.7 Dichiarazioni sostitutive di certificazione**

La rendicontazione presentata dovrà essere accompagnata da una dichiarazione attestante:

- che nello svolgimento delle attività di progetto sono state rispettate tutte le norme di legge e regolamentari vigenti;
- che per le spese rendicontate, tutte effettivamente sostenute, non sono stati ottenuti o richiesti ulteriori rimborsi e/o contributi;
- che le ore/uomo relative a ciascuna unità di personale corrispondono all'effettivo impegno temporale dedicato alle attività di progetto, come da time-sheet allegato;
- che i costi orari lordi del personale indicati nella rendicontazione sono stati calcolati nel pieno rispetto di quanto previsto nel presente disciplinare.

#### 4. Criteri generali di ammissibilità e presentazione documentazione di spesa

Fermo restando quanto previsto nei "criteri generali", potranno essere riconosciute le spese relative alle voci di costo di seguito indicate, fatto sempre salvo il diritto della Regione Lazio di valutarne l'ammissibilità, la congruità e la pertinenza in base alla documentazione presentata.

I costi ammissibili non possono essere imputabili ad attività di gestione corrente o diverse da quelle previste per la realizzazione del progetto. Per le medesime spese, non possono essere stati ottenuti altri contributi, previsti da norme statali, regionali o comunitarie o comunque concessi da altri enti o istituzioni pubbliche.

Tutta la documentazione afferente al progetto dovrà riportare il codice CUP assegnato al progetto medesimo.

Le fatture e gli altri titoli di spesa rendicontati devono essere prodotti in copia conforme all'originale, se disponibili in forma cartacea; se disponibili in formato digitale (fatture elettroniche) l'Università dovrà rilasciare un'autocertificazione come da fac-simile allegato.

Su tutti i documenti di spesa emessi in formato cartaceo deve essere apposto un timbro contenente le seguenti informazioni nel sottostante fac-simile di timbro, firmati in originale dal Responsabile della Convenzione con apposto timbro aziendale dell'Istituto.

<b>PROGETTO SAFE-IN-MAN</b>
Codice CUP:.....
Spesa rendicontata imputata al progetto: €.....
Quota a carico Regione Lazio: €.....
Quota a carico Università/Altri: €.....

Sono ammissibili a finanziamento le spese che rientrano nelle tipologie sotto specificate ai punti A. – B. – C. – D. – E - F. Tali spese saranno ammesse nei limiti stabiliti, per importo e/o natura, dal piano finanziario allegato alla Convenzione.

Per la rendicontazione delle spese sono disponibili i format allegati.

#### A) SPESE DI PERSONALE

Il costo di ciascun partecipante al progetto è determinato, in base alle ore lavorate, utilizzando le tabelle standard di costi unitari per la rendicontazione delle spese del personale nei progetti di ricerca e sviluppo sperimentale finanziati da MIUR e MISE adottate con decreto interministeriale n. 116 del 24 gennaio 2018, di cui alla Tabella n. 1 di seguito esposta.

FASCIA DI COSTO - LIVELLO	BENEFICIARIO	
	UNIVERSITÀ E AFAM	EPR VIGILATI DAL MUR
Alto	€ 73,00	€ 55,00

Medio	€ 48,00	€ 33,00
Basso	€ 31,00	€ 29,00

A tal fine si forniscono le seguenti indicazioni:

Il costo riconosciuto ai fini delle agevolazioni è determinato, per ogni persona impiegata nel progetto, in base alle ore lavorate, valorizzate attraverso la Tabella n. 1 - Costi orari standard unitari per le spese di personale dei progetti di ricerca;

- I costi orari standard unitari da applicare alle spese di personale dipendente dei progetti di ricerca, come da tabella n. 1, sono articolati per due tipologie di soggetti (“Università e AFAM”, “Enti pubblici di ricerca vigilati dal MUR”), suddivisi per tre diverse macro categorie di fascia di costo (“Alto”, “Medio”, “Basso”).
- Nello specifico, le fasce di costo corrispondenti alle tre tipologie di soggetto beneficiario, sono di seguito definite:
  - per i soggetti “Università e AFAM”:
    - Alto, per Professore Ordinario e docente AFAM di prima fascia;
    - Medio, per Professore Associato e docente AFAM di seconda fascia;
    - Basso, per Ricercatore;
  - per i soggetti “EPR”:
    - Alto, per Dirigente di Ricerca e Tecnologo di I livello/Primo Ricercatore e Tecnologo II livello;
    - Medio, per Ricercatore e Tecnologo di III livello;
    - Basso, per Ricercatore e Tecnologo di IV, V, VI e VII livello.

Relativamente ai Dottorati di Ricerca, ai sensi del Decreto del Ministero dell’Università e della Ricerca del 22 giugno 2022 n. 1042, il Costo Standard, comprensivo del 40% di altri costi di cui all’art. 14.2 reg. 1304/2013, risulta come di seguito riportato

Importo borsa standard mensile dottorato senza periodo estero	€ 2.337,57
Importo borsa standard mensile dottorato con periodo estero	€ 3.506,35

L’unità di costo standard fissata per le borse di dottorato di ricerca, si adegua automaticamente al valore definito da decreti ministeriali successivi al citato Decreto del Ministero dell’Università e della Ricerca del 22 giugno 2022 n. 1042.

Nel caso in cui per la particolare tipologia di costo contrattuale non sia disponibile un analogo valore standard, è ammessa la rendicontazione del costo reale.

#### **A.1 Personale dipendente**

Questa voce comprende il personale (con contratto a tempo indeterminato o a tempo determinato) dipendente dal soggetto convenzionato e che risulti direttamente impegnato nelle attività tecnico-scientifiche.

Il costo relativo sarà determinato in base all’impegno temporale dedicato al progetto ed attestato nella dichiarazione sostitutiva di certificazione allegata alla rendicontazione, e sarà valorizzato come di seguito indicato:

- per ogni persona impegnata nel progetto sarà preso come base il costo effettivo annuo lordo (retribuzione effettiva annua lorda, con esclusione dei compensi per lavoro straordinario e diarie, maggiorata dei contributi di legge o contrattuali e degli oneri differiti e comprensivo anche degli oneri fiscali a carico dell’Ente) desunto dalle tabelle di retribuzione per l’anno di riferimento;
- sarà determinato il costo orario lordo quale rapporto tra l’ammontare lordo ed il monte ore annuo;
- il costo da imputare al progetto sarà computato moltiplicando il costo orario lordo per il numero di ore/uomo effettivamente dedicati al progetto.

Ai fini della rendicontazione dovrà essere predisposta la Tabella a), timbrata e firmata dal Responsabile della Convenzione, riportante i nominativi del personale interno direttamente impegnato nel progetto.

A supporto di tale tabella dovrà essere prodotto:

- copia del curriculum vitae firmato e copia di un documento d'identità in corso di validità;
- copia, con timbro e firma del Responsabile della Convenzione, di tutte le buste paga relative ai mesi che vengono rendicontati, vidimate con l'apposito timbro di cui al punto 4 dei "*criteri generali di ammissibilità e presentazione documentazione di spesa*";
- time-sheet per il personale dipendente coinvolto nel progetto;
- copia del mandato di pagamento, con allegata copia della ricevuta di eseguito bonifico, ovvero disposizione di bonifico con relativo estratto conto.

#### **Aspetti e casi particolari:**

- **personale comandato o distaccato:** i costi relativi a tale voce potranno comprendere anche quelli relativi a personale comandato o distaccato presso il gruppo di ricerca; nei rapporti tra enti pubblici e/o università regolati da apposite convenzioni i costi relativi a tale voce potranno comprendere anche quelli del personale del partner pubblico convenzionato;
- **mesi/uomo:** per ogni anno solare e per ogni docente/ricercatore, anche tenendo conto del contemporaneo eventuale impegno su più progetti, non potrà essere superato il limite di 1500<sup>1</sup> ore. L'eventuale superamento di detto limite non sarà ammissibile ai fini della rendicontazione.

#### **A.2 – Personale non dipendente**

Questa voce comprenderà il personale che (esclusivamente e direttamente con il gruppo di ricerca) risulti titolare di:

- contratto di lavoro a progetto appositamente stipulato;
- assegno di ricerca o dottorato di ricerca (che non risulti già a carico di altri soggetti diversi dal soggetto convenzionato);
- borsa di studio (che non risulti già a carico di altri soggetti, e solo qualora nel progetto siano espressamente previste specifiche attività di formazione).

Il personale in argomento dovrà essere direttamente impegnato nelle attività tecnico scientifiche.

I contratti ed i bandi (ove previsti da norme vigenti) dovranno contenere, in linea generale, l'indicazione dell'oggetto e della durata del rapporto, della remunerazione prevista, delle attività da svolgere e delle eventuali modalità di esecuzione.

Il costo ammissibile sarà determinato secondo le stesse procedure di cui al punto A.1.

#### **B) STRUMENTAZIONI, ATTREZZATURE, APPARATI E COMPONENTISTICA DI ALTA TECNOLOGIA, HARDWARE E SOFTWARE**

In questa voce dovranno essere inserite le attrezzature, strumentazioni, gli apparati e la componentistica di alta tecnologia, hardware e prodotti software il cui acquisto sia finalizzato all'esclusivo utilizzo per la realizzazione del Progetto.

L'acquisto di beni strumentali, quali apparati e componentistica di alta tecnologia, hardware e software, sono ammissibili in quota parte a condizione che gli stessi siano strettamente collegati al progetto.

---

<sup>1</sup>Rendicontazione dell'impegno orario dei professori e ricercatori di ruolo nei progetti di ricerca (Legge n. 240 del 30 dicembre 2010, Art. 6, commi 1 e 2).

Qualora le attrezzature e le strumentazioni siano stati acquisiti in leasing, saranno ammessi esclusivamente i canoni relativi al periodo di utilizzo + il maxi-canone (o la percentuale di utilizzo qualora lo stesso bene sia stato utilizzato per più progetti)

### **B.1 – Leasing e Noleggio**

Per le attrezzature e strumentazioni in leasing, saranno ammessi esclusivamente i canoni relativi al periodo di utilizzo (e per la percentuale di utilizzo), limitatamente alla quota capitale delle singole rate pagate, e pertanto con l'esclusione di tutti gli oneri amministrativi, bancari e fiscali; l'importo massimo ammissibile non potrà in nessun caso superare il valore commerciale netto del bene. Il contratto di leasing dovrà, inoltre, prevedere esplicitamente una clausola di riacquisto, ovvero un periodo di leasing pari alla vita utile del bene oggetto del contratto.

### **B.2 - Documenti giustificativi di spesa**

I documenti giustificativi di spesa per l'acquisto di attrezzature, strumentazioni, apparati e componentistica di alta tecnologia, prodotti software, ecc., sono quelli di seguito elencati:

- copia degli atti sottostanti l'individuazione del fornitore e del relativo affidamento dell'incarico;
- offerta del fornitore e/o contratto di fornitura con indicazione dei beni da fornire, della durata temporale della fornitura e del corrispettivo;
- report di avvenuta installazione;
- fattura di acquisto o nota di debito aventi forza probatoria;
- disposizione di pagamento.

Nel caso di investimenti effettuati in leasing dovrà essere prodotto:

- copia conforme all'originale del contratto di leasing;
- copia conforme all'originale del verbale di presa in consegna ed accettazione del bene;
- copia della fattura emessa dal fornitore alla società di leasing;
- copia delle fatture del maxi-canone e dei successivi canoni pagati, con le modalità precisate in precedenza.

### **B.3- Documenti giustificativi di pagamento**

I documenti attestanti il pagamento delle spese per l'acquisto di attrezzature, strumentazioni, apparati e componentistica di alta tecnologia, hardware e prodotti software, sono i seguenti:

- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla disposizione di bonifico e relativo estratto conto bancario;

ovvero

- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla ricevuta di bonifico emessa dalla banca attestante l'avvenuto pagamento.

Nel caso di investimenti effettuati in leasing dovrà essere prodotto:

- copia conforme all'originale degli estratti conti bancari da cui si evinca l'addebito dei canoni di leasing che, di norma, vengono addebitati all'utilizzatore tramite RID.

## **C) SPESE DI PUBBLICIZZAZIONE**

Si tratta esclusivamente di spese sostenute per la pubblicazione dei risultati, ancorché in progress, della ricerca finanziata dalla Regione Lazio. In ogni pubblicazione deve essere fatta espressa menzione che la ricerca è stata finanziata dalla Regione Lazio.

### **C.1 - Documenti giustificativi di spesa**

I documenti giustificativi di spesa per la pubblicizzazione sono quelli di seguito elencati:

- copia di documenti ed atti a supporto della spesa;
- copia di fatture di acquisto o note di debito aventi forza probatoria;

## **C.2 - Documenti giustificativi di pagamento**

I documenti attestanti il pagamento delle spese per l'acquisto di materiali di consumo sono i seguenti:

- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla disposizione di bonifico e relativo estratto conto bancario;
- ovvero
- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla ricevuta di bonifico emessa dalla banca attestante l'avvenuto pagamento.

## **D) COSTI PER CONSULENZA, PRESTAZIONI DI TERZI E SUB-CONTRATTIE DI SERVIZI EQUIVALENTI ESCLUSIVAMENTE AI FINI DELL'ATTIVITA' DI PROGETTO UTILIZZATI**

Dovrà essere predisposta una tabella (timbrata e firmata dal Responsabile della Convenzione) riportante il nominativo dei fornitori, con i relativi costi derivanti dalle fatture e/o ricevute emesse.

### **D.1 Documenti giustificativi di spesa**

I documenti giustificativi di spesa per consulenza e prestazioni di terzi ed i servizi equivalenti utilizzati esclusivamente ai fini dell'attività di progetto sono quelli di seguito elencati:

- copia della documentazione inerente all'iter procedurale per la selezione dei fornitori di servizi;
- contratto o lettere di incarico firmate per accettazione, stipulate tra il beneficiario e il soggetto fornitore della ricerca/servizi;
- profilo professionale del soggetto fornitore dei servizi: CV in caso di persona fisica; brochure aziendale in caso di società;
- copia delle fatture/ricevute dichiarate conformi all'originale (riportanti la dicitura "copia conforme all'originale", con timbro e firma del Responsabile della Convenzione);
- copia disposizione di pagamento.

### **D.2 Documenti giustificativi di pagamento**

I documenti attestanti il pagamento delle spese per servizi di consulenza ed i servizi equivalenti utilizzati esclusivamente ai fini dell'attività di progetto sono i seguenti:

- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla disposizione di bonifico e relativo estratto conto bancario;
- ovvero
- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla ricevuta di bonifico emessa dalla banca attestante l'avvenuto pagamento.

## **E) STAGES, MISSIONI, CONVEGNI, ECC.**

In questa voce vanno rendicontate tutte le spese sostenute per missioni, anche all'estero, finalizzati alla partecipazione a stages, convegni, ecc. inerenti il progetto, da personale effettivamente partecipante al progetto ed il cui impegno temporale risulti pertanto attestato nell'ambito della rendicontazione della voce di spesa "Costi per nuovo personale dipendente (o assunto con forme contrattuali equivalenti)".

In particolare, potranno essere riconosciute, ove attribuibili al personale sopra indicato e nel rispetto degli eventuali regolamenti interni per viaggi e missioni, le spese per il trasporto (viaggio di andata e ritorno), le spese per il soggiorno (pernottamenti e ristoranti) le diarie, le eventuali spese per l'iscrizione a corsi, congressi, convegni, ecc. e le eventuali spese per l'acquisto del materiale scientifico e didattico. Il criterio generale è quello della forma più economica di trasporto e alloggio.

Al fine del riconoscimento di tali spese è peraltro necessario che la missione sia stata preventivamente autorizzata dall'ente e formalizzata in una lettera d'incarico "ad personam", in cui risultino chiaramente indicati il periodo di missione ed i motivi di carattere tecnico-scientifico, strettamente correlati con lo svolgimento delle attività previste nel progetto.

### **E.1 - Documenti giustificativi di spesa**

I documenti giustificativi di spesa per convegni missioni ecc. sono quelli di seguito elencati:

- copia delle note spese compilate dalle persone autorizzate che hanno effettuato le missioni, rimborsate dall'ente, firmate dal responsabile del progetto, annullate con il timbro di cui al punto 4 dei Criteri Generali dichiarate conformi all'originale (riportanti la dicitura "copia conforme all'originale", con timbro e firma del legale rappresentante o suo delegato in originale);
- copia dei titoli di viaggio intestati, se previsto, alle persone autorizzate e comunque riportante la data di godimento, annullati con il timbro di cui al punto 4 dei Criteri Generali dichiarato conforme all'originale, con timbro e firma del legale rappresentante o suo delegato;
- copia delle fatture o ricevute fiscali attestanti la fruizione del vitto e/o alloggio intestate alla persona autorizzata annullate con il timbro di cui al punto 4 dei Criteri Generali dichiarate conformi all'originale, con timbro e firma del legale rappresentante o suo delegato;
- copia delle fatture o ricevute fiscali attestanti le eventuali spese per l'iscrizione a corsi, congressi, convegni, ecc. e le eventuali spese per l'acquisto del materiale scientifico e didattico annullate con il timbro di cui al punto 4 dei Criteri Generali dichiarate conformi all'originale, con timbro e firma del legale rappresentante o suo delegato in originale;
- copia dei programmi dei corsi, convegni, ecc. a cui si è partecipato, dichiarati conformi all'originale, con timbro e firma del legale rappresentante o suo delegato in originale.

## **E.2 - Documenti giustificativi di pagamento**

I documenti attestanti il pagamento delle spese per convegni missioni ecc. sono i seguenti:

- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla disposizione di bonifico e relativo estratto conto bancario;  
ovvero
- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla ricevuta di bonifico emessa dalla banca attestante l'avvenuto pagamento.

## **F) SPESE PER ADEGUAMENTO LABORATORI E MESSA IN FUNZIONE APPARECCHIATURE E STRUMENTAZIONI, ED ALTRI COSTI STRETTAMENTE CONNESSI AL PROGETTO**

Rientrano in questa voce le spese relative a servizi e materiali utilizzati per l'adeguamento dei laboratori e la messa in funzione di apparecchiature e strumentazioni. Nello specifico, i costi dei materiali di consumo, delle forniture e di eventuali spese accessorie, sono ammissibili come costi diretti a condizione che si possa chiaramente stabilire l'utilizzo esclusivo ai fini diretti ed operativi del progetto. Se non si è in grado di fornire una chiara giustificazione bisogna includere tali spese nei costi indiretti forfettari.

### **F.1 - Documenti giustificativi di spesa**

I documenti giustificativi di spesa per la pubblicizzazione sono quelli di seguito elencati:

- copia di documenti ed atti a supporto della spesa;
- copia fatture di acquisto o note di debito aventi forza probatoria.

### **F.2 - Documenti giustificativi di pagamento**

I documenti attestanti il pagamento delle spese per l'acquisto di materiali di consumo sono i seguenti:

- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla disposizione di bonifico e relativo estratto conto bancario;  
ovvero
- copia del mandato di pagamento accompagnato dalla ricevuta di bonifico emessa dalla banca attestante l'avvenuto pagamento.

## **5. Overhead e spese generali**

Sono ammissibili le spese generali sostenute nella misura forfettaria del 5% dei costi diretti rendicontati e giudicati ammissibili in sede di controllo, solo se preventivamente inserite nel Piano economico-finanziario. Nel caso in cui, in sede di verifica amministrativa e finanziaria del rendiconto presentato, si riscontrino decurtazioni dei costi diretti sostenuti dalla beneficiaria, i costi indiretti saranno riparametrati sulla base della percentuale risultante nel Piano economico-finanziario approvato.

#### **6. Rendiconto complessivo di spesa**

Il soggetto convenzionato, ai fini del riconoscimento delle spese relative alle attività previste nella convenzione, deve effettuare una serie di adempimenti contabili e amministrativi il cui risultato finale è il Rendiconto di Spesa.

Il Rendiconto di spesa costituisce il prospetto contabile obbligatorio che deve essere prodotto e trasmesso dal soggetto convenzionato alla Regione Lazio, nei tempi e con le modalità previste nella Convenzione.

Attraverso il Rendiconto di spesa il soggetto convenzionato attesta e dichiara l'effettivo sostenimento delle spese per la realizzazione delle attività convenzionate, chiedendone il riconoscimento.

Tale documento è costituito da:

- tabella di Rendiconto Complessivo, che attesta gli importi complessivi per ciascuna categoria di spesa rendicontati durante il periodo di eleggibilità;
- note esplicative (eventuali) per ciascuna categoria di spesa;
- serie di tabelle (una per ciascuna categoria di spesa A, B, C, D, E, F), in cui sono dettagliati i singoli importi rendicontati durante il periodo di eleggibilità;
- attestazione delle spese rendicontate.

La tabella del Rendiconto Complessivo e quelle relative a ciascuna categoria di spesa devono essere obbligatoriamente compilate dai soggetti convenzionati secondo i format e le modalità di cui al presente disciplinare.

Ai fini di una corretta rendicontazione delle spese sostenute, tale documentazione dovrà essere immediatamente e puntualmente collegabile all'importo rendicontato. Qualora questo non fosse possibile, dovranno essere prodotti i documenti (prospetti di calcolo e fogli di lavoro) idonei a dimostrare il criterio di riparto e di determinazione utilizzato, completi delle adeguate spiegazioni.

Nel caso di documenti giustificativi comuni a più voci di spesa e/o a più rendiconto di spesa, dovrà esserne prodotta una copia per ogni categoria di spesa e/o per ogni rendiconto.

La modulistica di rendicontazione sarà trasmessa a cura della Regione Lazio.