

Contractor

Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare în Domeniul Patologiei și Științelor Biomedicale „Victor Babeș”, București (INCDVB)

Denumirea programului-nucleu - acronim:

Identificarea semnăturilor moleculare pentru diagnosticul și monitorizarea bolilor majore – SEMODIAMO

Scopul programului:

Semnăturile moleculare sunt seturi de gene și produși de transcriere, respectiv traducere a informațiilor codificate de acestea, cu diferitele variante, care descriu un fenotip particular [Nilsson R, Björkergren J, Tegnér. On reliable discovery of molecular signatures. *BMC Bioinformatics*. 2009 Jan 29; 10:38. doi: 10.1186/1471-2105-10-38]. Metodele de identificare a semnăturilor moleculare se constituie ca instrumente utile atât aprofundării cunoașterii în biologia celulară, cât și pentru elucidarea mecanismelor diversității de patologii pe de o parte, ca și variabilității acestora datorate personalizării lor în contextul diferiților pacienți. Identificarea semnăturilor moleculare în diferite patologii este preconizată a permite determinarea unor seturi optime de medicamente care să eficientizeze tratamentul personalizat [Rykunov D, Beckmann ND, Li H, Uzilov A, Schadt EE, Reva B. A new molecular signature method for prediction of driver cancer pathways from transcriptional data. *Nucleic Acids Res*. 2016 Jun 20; 44(11):e110. doi: 10.1093/nar/gkw269]. Programul Nucleu din acest an își propune, într-o abordare unică la nivel național, să inițieze o contribuție majoră la depășirea unor bariere identificate în cercetarea medicală oncologică și inflamatorie privind diagnosticul și monitorizarea. Prin urmărirea realizării de protocoale/algoritmi inovativi de diagnostic molecular bazat pe abordări multi-omice se țintesc premisele conceptului medicinei de precizie. Se vor pune bazele generării și validării unor semnături moleculare multi-omice și corelării acestora cu particularitățile biologice tumorale/inflamatorii. Pe baza semnăturilor moleculare multi-omice se vor putea configura paneluri comprehensive de biomarkeri (genomici, proteomici, transcriptomici, epigenetici) cu valoare diagnostică, predictivă și prognostică, alături de paneluri compozite de tehnologii de diagnostic de înaltă performanță.

Durata programului – luni (maxim până în decembrie 2018): 10 luni

Obiectivele programului:

Obiectiv 1: *Identificarea semnăturilor moleculare în patologia tumorală.*

Obiectiv 2: *Identificarea semnăturilor moleculare în patologii inflamatorii și imune.*

Ținte stabilite pentru atingerea obiectivelor: Țintele pe care ni le stabilim pentru cercetările din acest Program Nucleu de numai 10 luni se potențează reciproc în privința identificării unor semnături moleculare în boli majore, în conformitate cu conceptul relativ nou prin care se urmărește depășirea unor dificultăți științifice și clinice referitoare la diagnosticul de încredere și schemele terapeutice. Semnăturile moleculare ale diferitelor patologii sunt considerate critice atât în privința diagnosticării în contextul medicinei de precizie, personalizate, cât și în privința monitorizării evoluției bolilor și a eficienței terapeutice. Semnăturile moleculare detaliate se preconizează a fi un sprijin practic în abordări terapeutice specifice nu atât bolii în sine (fără ca acest lucru să se ignore) cât specificului bolii la pacientul în cauză. Abordarea cercetărilor privind semnăturile moleculare sunt o completare firească a Programului Nucleu anterior (2016-2017) și se încadrează în domeniile și tematicile științifice de dezvoltare viitoare a institutului. Ele se corelează cu orientările actuale din SNDCI 2014-2020 (domeniile Sănătate și Bioeconomie). Ținte vizate se pot sistematiza prin următoarele:

- Inițierea unor studii privind identificarea de semnături multi-omice în patologia tumorală (obiectiv 1);
- Inițierea unor studii privind identificarea de semnături multi-omice în patologii inflamatorii și imune (obiectiv 2);
- Posibilități de definire a relațiilor dintre diversele componente ale semnăturilor multi-omice relevante farmacologic în vederea unor noi abordări terapeutice (obiective 1, 2).

Aceste ținte se corelează și cu orientarea generală a activității de cercetare a institutului, prezentând complementaritate cu proiectele aflate în derulare, oferite și/sau câștigate prin competiție în alte programe de cercetare naționale (Programele Idei, Parteneriate, Tinere echipe, Proiecte complexe derulate în consorții) sau cu finanțare europeană (Horizon 2020, ERANET, POC, SANCO, COST, proiecte bilaterale).

Managementul programului va fi asigurat printr-o atentă monitorizare pe baza întâlnirilor periodice de raportare a progreselor în activitățile de cercetare aferente temelor și prin urmărirea stadiului de realizare a indicatorilor asumați prin program.

Indicatorii asociați pentru monitorizare și evaluare sunt:

- publicații: articole ISI (minim 2 per obiectiv), articole BDI (minim 3 per obiectiv)
- comunicări: manifestări științifice interne/internaționale (minim 1/temă = 13)
- organizare de manifestări științifice/simpozioane – 1

Rezultate estimate ale programului

Rezultatele estimate, la care se va ajunge prin activitatea de cercetare desfășurată, exprimate în mod sintetic, vor cuprinde:

- a) Realizarea de modele experimentale *in vitro* și *in vivo*, destinate investigării patologiilor sub aspectul îmbunătățirii diagnosticelor și monitorizării de eficacitate a tratamentelor;
- b) Stabilirea de biomarkeri relevanți pentru identificarea semnăturilor moleculare ale diferitelor patologii investigate;
- c) Identificarea unor posibile ținte terapeutice pe baza semnăturilor moleculare multi-omice ale patologiilor investigate;

La aceste rezultatele științifice obținute, atingerea obiectivelor va implica și următoarele activități complementare ale căror rezultate vor contribui la creșterea vizibilității instituționale și a valorii cercetării biomedicale românești:

- Diseminarea rezultatelor prin publicare de articole și comunicări la manifestări științifice; organizarea de manifestări științifice cu tematica relevantă pentru programul-nucleu propus;
- Formarea personalului de cercetare pentru interpretarea și aplicarea rezultatelor obținute pe baza semnăturilor moleculare.

Programul-nucleu „**Identificarea semnăturilor moleculare pentru diagnosticul și monitorizarea bolilor majore**” se va dovedi benefic pentru domeniile **Sănătate** și **Bioeconomie** prin corespondența obiectivelor propuse în program cu prevederile prevăzute în documentele strategice adoptate la nivel național și european, respectiv SNCDI 2014-2020 și Strategia Europa 2020.

Rezultatele preconizate a fi obținute în cadrul programului răspund obiectivelor formulate în strategia instituțională de cercetare în conformitate cu SNCDI 2014-2020.

Programul se încadrează în obiectivele stabilite de Strategia proprie de dezvoltare instituțională, prin urmărirea direcției de cercetare ce implică abordări experimentale noi. Încadrându-se în categoriile de cercetări fundamentale, dezvoltări experimentale, respectiv cercetări industriale menționate în SNCDI 2014-2020, prezentul proiect „își propune să crească contribuția României la dezvoltarea Spațiului European al Cercetării (ERA)”.

Prin participările la manifestări științifice ca și prin articolele ce se vor publica pe baza rezultatelor de impact obținute prin Programul Nucleu se va respecta prevederea din SNCDI 2014-2020 de a se urmări „promovarea, la nivel internațional, a identității științifice românești, crearea de „leadership” în domenii cum sunt [...] științele bio-medicale [...]”.

Premizele de succes ale activităților de cercetare propuse prin actualul Program Nucleu sunt asigurate prin infrastructura competitivă introdusă în INCD „Victor Babeș”, în anii recentți,

datorită proiectelor câștigate în cadrul Programelor PNCDI și a celor cu finanțare europeană (POS-CCE), ca și prin existența unui personal înalt specializat, cu deschidere către noutate. Aceste două resurse asigură o corelație optimă în activitatea de cercetare și răspund complexității propunerii de Program Nucleu, raportată la dimensiunea instituției și misiunea asumată prin Strategia instituțională și planul de dezvoltare pe următorii cinci ani.

INCD „Victor Babeș” are echipamente performante de CDI, dobândite prin proiecte de cercetare POSCCE sau PNCDI2:

- **tehnologiile multiplex array** (ex. Luminex 200) - analiza „high-throughput” - semnături moleculare: panel de citokine proces inflamator, panel apoptoză, angiogeneză, panel semnalizare celulară etc.
- **tehnologii proteomice/genomice** - spectrometrie de masă; 2D-DIGE, „protein microarray”, „gene microarray”; metode ideale de detectare a genelor, peptidelor și proteinelor, datorită universalității, selectivității și sensibilității lor în vederea realizării profilului genomic/proteomic – semnături moleculare.

Echipamente CD de ultimă generație, de înaltă performanță au fost achiziționate în perioada 2014-2015 prin proiectul POSCCE 633/2014 “Modernizarea infrastructurii INCD „Victor Babeș” pentru cercetare avansată în medicina celulară și moleculară – CAMED”. O selecție a echipamentelor ce vor fi folosite pentru realizarea obiectivelor și atingerea țintelor asumate este prezentată în cele ce urmează:

- **Biologie moleculară, genomică și proteomică:**

sistem automat integrat de secvențiere LT ION TORRENT NGS; RT-PCR 7500; echipament secvențiere tip SANGER; scanner microarray de rezoluție înaltă – ALGILENT SURESCAN 4900DA; sistem de scanare microarray pentru acizi nucleici și proteine INNOSCAN IS1100AL; DROPLET DIGITAL PCR SYSTEM QX200 BIO-RAD; PCR cantitativ cu bloc de 384 godeuri pt. carduri microfluidice TF QUANTSTUDIO 7FLEX; tape station nucleic acid system AT 2200; vacuum concentrator – SAVANT TM DNA SPEED VACTM TS; spectrofotometru NANODROP2000; spectrofluorimetru NANODROP3300; sistem de vizualizare și captură imagine gel UVPN CHEMIDOC IT2IMAGER și LI-COR BIOSCIENCES C-DIGIT BLOT3600; separator de celule cu 5 lasere de excitare MOFLO ASTRIOS EQ; echipamente conexe.

- **Bioimagică de înaltă rezoluție – microscopie electronică și de fluorescență:**

microscop electronic de transmisie 200KEV FEG TALOS F200C FEI CO; sistem optic modular detecție hiperspectrală CYTOVIVA; microscop confocal cu sistem de super – rezoluție LEICA TCS SP8 SP8WLL STED3X; ecograf pentru animale mici - VEVO 2100 VISUAL SONICS.

- **Echipamente prelucrare probe pentru bioimagică:**

sistem de criofixare la presiune mare LEICA EM PACT 2; ultramicrotom cu incintă de criosecționare LEICA EM UC7; sistem robotizat de vitrificare a probelor biologice LEICA EMGP; echipamente conexe.

- **Microscopie optică - histologie și imunohistochimie:**

sistem de scanare automată a lamelor LEICA APERIO AT2; sistem integrat de scanare lame IHC, FISH și fluorescență, LEICA ARIOL DM 6000B; microscopie cu captură de imagine LEICA DM750; microscop cu 10 posturi observare LEICA DM2500; microtom semi-automat LEICA RM2245; criostat LEICA CM1860UV; stație de orientare TF GROASSLAB SENIOR; procesor de țesuturi automat cu vacuum THERMO SHANDON EXCELSIOR; sistem automat de colorare și montare lame SHANDON GEMINI; Immunostainer VENTANA BENCH MARK ULTRA; echipamente conexe.

- **Culturi celulare și experimentare în timp real:**

hota culturi celulare TS MSC-ADVANTAGE1.2. CLASS II; microscop inversate culturi celulare cu fluorescență EVOS FL AUTO AMAFD1000 și EVOS XL AME3300; microscop optic motorizat direct de cercetare LEICA DM6000B; incubatoare pentru culturi de celule cu CO₂ și O₂ – MEMMERT INC153 MED și EPPENDORF GALAXY 48R; centrifuga cu răcire și autocompensare TS SL40R; ultracentrifuga TS SORVALL WX100; echipamente conexe, BioStation IM, xCELLigence.