

RAPORT DE ACTIVITATE

Obiectivul general al cercetării IRO: Cercetare oncologică translatională

Finalitate: Taxonomia moleculară a tumorilor cu prevalență ridicată. Identificarea de leziuni moleculare cu potențial terapeutic de monitorizare și intervenție pe baza heterogenității tumorale și subtipurilor evolutive a pacienților încadrați diagnostic în aceeași localizare neoplazică.

CENTRUL DE CERCETARE FUNDAMENTALĂ ȘI DEZVOLTARE EXPERIMENTALĂ ÎN MEDICINĂ TRANSLATIONALĂ-TRANSCEND, realizat în cadrul Programului Operațional Creșterea Competitivității Economice, Axa prioritară 2 – Competitivitate prin cercetare, dezvoltare tehnologică și inovare, Domeniul major de intervenție 2.2 – Investiții în infrastructura de CDI, Operațiunea 2.2.1: Dezvoltarea infrastructurii CD existente și crearea de noi infrastructuri CD în valoare de 50.000,00 mii lei, a implinit, la sfârșitul anului 2017, 17 luni de activitate.

Activitatea de cercetare a centrului TRANSCEND se desfășoară pe două nivele: medicina moleculară și medicina nucleară.

Nivelul de medicina moleculară este constituit dintr-un flux de activități desfășurate în cadrul următoarelor departamente:

Culturi de celule, Microscopie digitală, și Tissue Array, Proteomică, Biologie și genetică moleculară, Bioinformatică și simulare moleculară, Citometrie în flux și Imunofenotipare

Nivelul de medicina nucleară este reprezentat de: Unitatea de sinteză și cercetare radiotrasori, Unitatea de radiofarmacie și Unitatea PET-CT diagnostic translational.

La acestea se adaugă Biobanca criogenică pentru stocarea tesuturilor, celulelor și plasmei.

I. Departament Culturi de Celule, Microscopie Digitală și Tissue Array

Departamentul de Culturi de Celule, Microscopie Digitală și Tissue Array are în dotare laboratoare individualizate și dedicate diferitelor tehnici: culturi celulare, procesarea probelor biologice prin derularea/realizarea tehnicilor de tissue microarray, imunohistochimie și imunofluorescență și achiziția digitală prin microscopie a probelor, precum și analiza ulterioară a datelor obținute prin microscopie. Din punct de vedere al echipamentelor deținute, departamentul are în dotare:

- incubatoare pentru culturi celulare marca Sartorius Stedim biotech și ThermoScientific,
- hote BIOAIR s@felow 1.2 and Flores Valles Fume Cupboard model VA150960ADVC+M
- hota chimică pentru imunohistochimie BIOAIR safehood 120
- centrifuge Beckman Coulter Allegra X-15R
- microscop Zeiss AXIO Observer.Z1, prevăzut cu obiective 5x, 10x, 20x, 40x și 63x, camera color Baumer, camera monocromă pentru fluorescență Hamamatsu, filtre Chroma 69000, 89401, 89901, 49006 și 49007 precum și softuri de achiziție și analiză a imaginilor furnizate de TissueGnostics.

Lista mai detaliată a echipamentelor se găsește pe ERRIS:

<https://erris.gov.ro/Center-of-Fundamental-Resear>

Utilizând baza materială din acest departament, personalul angajat reprezentat de Crina Tiron, Adrian Tiron și Roxana Avadanei a fost implicat în următoarele activități în 2017:

1. Finalizarea etapei 2016 – 2017 pentru proiectul de cercetare dintre IRO și BerGenBio,

Norvegia: **Validation of nuclear Akt3 as a biomarker for advance stage human malignancy.**

Etapa s-a incheiat pe data de 31 Ianuarie 2017, au fost explorate 226 cazuri cu diverse malignitati.

Principal investigator: Crina Tiron

Personal implicat: Adrian Tiron, Roxana Avadanei, Dan Ferariu, Eugen Carasevici;

2. Pe baza unor rezultate preliminare obtinute in experimente *in vitro* si *in vivo* a efectului indus de iradiere asupra unor linii celulare de tumori mamare s-a trimis o expresie de interes (31 Martie 2017) pentru programul britanic CATALYST 2017 pentru cancer mamar: **Gedatolisib potentiate radiobiological effect of irradiation by inducing an abscopal response.**

Principal investigator: Crina Tiron

Personal implicat: Anisoara Anghelache, Adrian Tiron, Anca Munteanu;

3. Aplicatie spre finantare a proiectului de cercetare pentru BJA international grant call, 2017, TRANSCEND – Clinica de Anestezie si Terapie intensiva IRO: **The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Hyperoxia Effects on Cancer Progression.**

Principal investigator: Ioana Grigoras;

Personal implicat: experimentele in vitro si in vivo vor fi realizate de Crina Tiron si Adrian Tiron, Radu Iliescu);

4. Proiect tinere echipe (TE) 2017: **Assesement of pro-BDNF Implication in Breast Cancer Development.**

Principal investigator: Adrian Tiron

Personal implicat: Roxana Avadanei;

5. Aplicatie finantare Proiect: Collaborative Research Programme in cadrul International for Genetic Engineering and Biotechnology – ICGEB: **Identification of Myeloid Derived Suppressor Cells (MDSC) dynamics in Breast Cancer development** – aplicatie reluata, imbunatatita prin rafinarea ipotezei, adaugarea de noi date preliminare si depusa pentru 2017;

Principal investigator: Crina Tiron

Personal implicat: Adrian Tiron, Florin Zugun, Radu Iliescu;

6. Grant intern UMF: **Survival fraction and the role of Axl-Akt pathway in DNA repair in irradiated cell culture.**

Principal investigator: Anca Munteanu (UMF, IRO)

Personal implicat: Crina Tiron, Anisoara Anghelache, Bargaoanu Elena-Roxana, Adrian Tiron;

7. Grant intern UMF **aprobat spre finantare: FACTORS INVOLVED IN HYPEROXIA-INDUCED CANCER PROGRESSION.**

Principal investigator: Irina Ristescu (UMF, IRO)

Personal implicat: Crina Tiron, Adrian Tiron, Ioana Grigoras;

8. Grant intern UMF **aprobat spre finantare: THE EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF SEVOFLURANE ON AKT ISOFORMS IN BREAST CANCERS CELLS.**

Principal investigator: Emilia Patrascanu (UMF, IRO)

Personal implicat: Crina Tiron, Adrian Tiron, Ioana Grigoras;

9. Aplicatie proiect Proiecte Complexe realizate în consorții CDI – 2017; **aprobat spre finantare: PLATFORME TERANOSTICE ANTITUMORALE PE BAZĂ DE CARBON DOTS ȘI MATRICE POLIMERICE.**

Principal investigator: *Bogdan Simionescu* (Universitatea Tehnica Ghe. Asachi, Iasi)

Personal implicat: *Crina Tiron, Adrian Tiron, Iliescu Radu, Florin Eloaie Zugun;*

10. Depunere proiect TRIALECT: Inhibition of receptor tyrosine kinase-B potentiates radiobiological effect of irradiation by inducing an abscopal response.

Principal investigator: *Adrian Tiron*

Personal implicat: *Anisoara Anghelache, Anca Munteanu, Crina Tiron;*

11. Colaborare cu Departamentul de Citometrie in flux: Screening pentru evaluarea profilului de expresie a citokeratinelor CK-7, CK-20 in linii celulare tumorale din colectia institutului: HT29 (adenocarcinom colo-rectal), U87 (glioblastom), LL/2 (carcinom pulmonar murin), EMT6 (carcinom mamar murin), A549 (adenocarcinom alveolar uman), 4T1 (carcinom mamar murin), LNCAP (adenocarcinom prostata). Crestere liniilor celulare mentionate in vederea analizei prin citometrie de flux si imunohisochimie;

Personal implicat: *Crina Tiron, Adrian Tiron;*

12. Colaborare cu Departamentul de Proteomica TRANSCEND: Aplicatie consortiu international pe cancer, BDNF si izoforme Akt;

Personal implicat: *Crina Tiron, Adrian Tiron;*

13. Roxana Avadanei (anatomopatolog 0,5 norma cercetare) **si Adrian Tiron** : sistemul semiautomat Galileo TMA CK4500, Tissue Microarray platform, optimizarea obtinerii de imagini IHC pe tesuturi prelucrate cu platforma Tissue Microarray, optimizare achizitie si prelucrare imagistica (*Adrian Tiron, Roxana Avadanei*). Studiu in desfășurare: Profilul moleculelor de adeziune ALCAM si MCAM in patologia tumorală digestivă gastrică și pancreatică; se urmaresc datele referitoare la (i) profilul expresiei ALCAM și MCAM în patologia gastrică și pancreatică, și (ii) relația ALCAM, MCAM și β -catenina, în contextul implicării căii de semnalizare Wnt/ β -catenină în carcinogeneză.

Personal implicat: Doctorand UMF implicat: *Andreea (Dima) Rusu* si *personal TRANSCEND Roxana Avadanei*.

Indicator de personal instruit si beneficiar al facilitatilor de cercetare

Doctoranzi: *Ioana Hristov (UMF), Paula Alexandra Postu (Facultatea de Biologie)* sub indrumarea *Crina Tiron* si *Adrian Tiron*

Masteranzi: *Vlad Mihai Valu (Facultatea de Biologie)* sub indrumarea *Adrian Tiron*

Voluntari: *Camelia Ticu, PhD* sub indrumarea *Crina Tiron* si *Adrian Tiron*

Au beneficiat de facilitatea de cercetare si studentii *Dr. Ghetu* si studenti ERASMUS de la UMF sub indrumarea personalului reprezentat de *Crina Tiron, Adrian Tiron*.

II. DEPARTAMENTUL DE PROTEOMICA

Infrastructura de cercetare a laboratorului constă în: (i) instrument de spectrometrie de masa MALDI-ToF, (Urtrafelx- Bruker Daltonics, Bremen, Germania), (ii) Imageprep – robot de depunere a matricei pe target, (iii) UHPLC – cromatograf de lichide (Thermo-fisher, Bremen, Germania), (iv) Colectorul de fracții LC-MALDI/ PROTEINEER fc II, (v) Criotom Leica CM1860 UV.

Activități de cercetare

Activitatea desfășurată în Laboratorul de Proteomică al Institutului TANSCEND în anul 2017 cuprinde etape de învățare și instruire în mod majoritar cât și etape de cercetare efectuate de membrii echipei (Dr. Alina Petre, Dr. Roxana Avadavei, Dr. Radu Iliescu și Dr. Andrei Neamțu). Dr. Petre și Dr. Avadanei au participat în perioada 23-25 ianuarie 2017 la un curs de specializare pentru tehnica de imagistică moleculară prin spectrometrie de masă de tip MALDI-ToF (*eng. MALDI-Imaging*) la firma Bruker Daltonics, Bremen, Germania. În decursul anului 2017 au fost implementate și optimizate protocoalele standard de identificare a unor biomolecule cu mase moleculare diferite precum peptide standard și peptide sintetice (1000-2500 Da), proteine intacte (citocrom C, insulina, mioglobina, lizozim, albumina serică) și amestecuri de peptide generate după digestia enzimatică cu tripsină.

Au avut loc două cursuri de pregătire pentru tehnica de imagistică moleculară prin spectrometrie de masă și off-line LC- MALDI-MS, susținute de firma Mecrosystem, București. Până în prezent la MALDI-Imaging au fost analizate secțiuni de țesut (rinichi, ficat, splină) de soarece. Imagistica s-a realizat în prezenta a trei matrici diferite (acid alpha hidroxid cinamic pentru mase moleculare mici, acid sinapinic pentru proteine intacte, acid 2,4 dihidroxibenzoic pentru lipide). A fost exersat și perfecționat modul de tăiere, fixare, spălare a țesutului pe lamele ITO. Prin această tehnică s-a reușit evidențierea unor semnale moleculare ionizate direct de pe o secțiune de țesut cu ajutorul instrumentului MALDI-TOF, urmând a se investiga în paralel țesut tumoral și țesut control.

În colaborare cu Departamentul de Culturi Celulare, am aplicat pentru finanțare în cadrul unui consorțiu internațional a unui proiect ce urmărește corelarea în cancer a BDNF-ului și izoformelor Akt. Proiectul a fost depus în cadrul apelului H2020-FETOPEN-2016-2017 - Novel ideas for radically new technologies, RIA (Research and Innovation action).

Departamentele de cercetare din cadrul TRANSCEND au organizat o școală de vară cu participare internațională sub coordonarea Departamentului de Proteomică intitulată „*Proteomics: from introduction to clinical application*” în perioada 9-13 iulie 2017.

Dr. A. Petre și Dr. Andrei Neamțu au participat la Workshop-ul internațional “*Affinity - Mass spectrometry – Clinical Methods Development and Applications*” în perioada 2-3 noiembrie 2017, în Rüsselsheim am Main, Germania, organizat de coordonatorul proiectului menționat mai sus. În cadrul acestei manifestări participanții au susținut două prezentări orale în calitate de invitat (*eng. invited speaker*).

Lupaescu A., M. Iavorschi, L. Ion, C. Tiron, M. Stumbaum, M. Przybylski, B-A. Petre, *Structure Identification of Pathophysiological Epitopes using Immunoaffinity – Mass Spectrometry – prezentare orală;*

Andrei Neamțu, Radu Iliescu, Brindusa- Alina Petre, Eugen Carasevici, *Improving in silico epitope mapping using Replica Exchange Molecular Dynamics (REMD) simulations – prezentare orală;*

III. DEPARTAMENT BIOLOGIE MOLECULARĂ

Echipe utilizate în tehnicile de biologie moleculară din cadrul proiectelor de cercetare desfășurate în Transcend

- Platforma de secvențiere masivă paralelă Miseq- Illumina.
- Platforma de secvențiere masivă paralelă IonTorrent – LifeTechnologies,
- Aparat electroforeză pe chip în sistem microfluidic Bioanalyser 2100 Agilent,
- Scanner microarray de înaltă rezoluție Agilent cu cuptor de hibridizare și hota OzoneFree.

- *Secvențiator Sanger ABI3500 – Life Technologies,*
- *Aparat pentru PCR în timp real LightCycler480II - Roche Diagnostics,*
- *Aparat pentru PCR în timp real Stratagene MX30005p – Agilent,*
- *Thermocycler PalmCycler - Corbett Research,*
- *Thermocycler SureCycler 8800 – Agilent,*
- *Thermocycler Labcycler – Sensoquest,*
- *Sistem de vizualizare și interpretare geluri Geldoc – UVP,*
- *Aparat electroforeză orizontală geluri SubCell - Biorad,*
- *Aparat electroforeză verticală PowerPac200 - Biorad,*
- *Uscător de geluri Gel Dryer - Biorad cu pompa de vid Hydrotech.*
- *Mașina de fulgi de gheata Medical Refrigeration – Evermed,*
- *Pipetor automat cu doua brațe (8 si 96) Biomek Fx – Beckman Coulter,*
- *Hote cu flux laminar sterile Euroclone SafeCyto și SafeMate,*
- *Congelator –80°C - ThermoScientific,*
- *Congelator –150°C - ThermoScientific,*
- *Containere cu azot lichid TaylorWharton LABS-80k cu butelii de alimentare dedicate (240l), stație produs azot lichid (60l/zi) Cryomech Syracuse.N.Y.*
- *Autoclav 50L orizontal Raypa Model AH-75- DRY,*
- *Pupinel Memmert 3,*
- *Centrifuga Allegra X-15R - Beckman Coulter,*
- *Centrifuga Microfuge 22R - Beckman Coulter,*
- *Centrifugi cu vortex Biosan,*
- *Centrifuga 3-30K –Sigma,*
- *Centrifuga Microfuge 30R – BeckmanCoulter,*
- *Centrifuga Microfuge 16 – BeckmanCoulter,*
- *Aparat de filtrare apă și generare apă deionizată MaxiTower Plus 80 si 3 Barnstead GenPure Pro pentru producere apă nucleas free – ThermoScientific,*
- *Băi uscate termostatate cu agitare TS-100 Thermo-Shaker – BioSan,*
- *Baie termostatata Heto Model AG,*
- *Baie termostatata WB7 – Memert,*
- *Vortex pentru eprubete,*
- *Spectrofotometru NanoDrop 2000 – Thermo Scientific,*
- *Ultrasonicator Bioruptor Pico – Diagenode,*
- *Pipete automate Eppendorf cu vârful detașabile,*

Tehnici-suport practicate in departamentul de Biologie Moleculara: PCR, Real-Time PCR, Secvențiere Sanger, Secvențiere masiva paralela Next Generation, Micro array (array CGH si gene expression array), Revers Hibridizare (Colon, melanom, viremie), Multiplex Ligation Probe Amplification – MLPA – (LLC)

Proiecte in stadiu de documentare si instruire tehnica:

1. Identificarea semnăturii imunologice in patologiile neoplazice maligne pe baza identificării populațiilor limfocitare T activate.

Tip proiect: Transcend intern

Coordonator: Ivanov Iuliu

Personal Transcend implicat: Irina Trandafir, Daniela Jitaru, Loredana Dragos

Proiecte in desfasurare:

2. Studiul unor anomalii moleculare si citogenetice in Mielomul Multiplu

Tip proiect: proiect doctoral Univeritatea Al.I. Cuza Iasi,

Personal implicat: doctorand Dragos Loredana, Ivanov Iuliu, Mihaela Zlei

Activitati: separarea plasmocitelor atipice prin flowcitometrie si bile magnetice, extractie ADN si ARN, aCGH+SNP, secventiere Sanger, MLPA.

3. Expression of ghrelin receptor (GHSR-1A) in subcutaneous adipose tissue and its effect on preadipocytes proliferation and differentiation.

Tip proiect: proiect intern UMF,

Coordonator: Prof Mocanu Veronica

Personal Transcend implicat: Ivanov Iuliu

4. Evaluarea nivelelor de expresie genica a unor marker osteogenici specifici liniilor celulare cu fenotip osteoblastic (colagen tip I, foasfataza alcalina, osteocalcina)

Tip proiect: Transcend intern

Coordonator: Daniela Vlad

Personal Transcend implicat: Ivanov Iuliu

5. Identificarea anomaliilor genice pe un panel de 111 de gene implicate in predispozitia la cancer in populatia din regiunea de NE a Romaniei.

Tip proiect: proiect pilot Transcend,

Personal implicat: Ivanov Iuliu, Adriana Sireteanu, Irina Trandafir, Daniela Jitaru, Loredana Dragos

Activitati: Iuliu Ivanov instruire in Valencia pentru dobandirea competentelor de procesare a probelor, de realizare a testelor si de interpretare a datelor

6. Efectul unor peptide citotoxice asupra unor linii celulare pozitive pentru gene de fuziuni implicate in patogenia leucemiilor acute

Tip proiect: proiect pilot Transcend,

Personal implicat: Jitaru Daniela, Loredana Dragos

7. Sortarea populatiilor celulare caracteristice dezvoltarii normale a lineajului limfoid B prin utilizarea flowcitometrului FACS ARIA III.

Tip proiect: proiect pilot Transcend,

Personal implicat: Zlei Mihaela, Ivanov Iuliu, Oana Pintilie

Activitati: Setarea parametrilor de functionare a echipamentului; Optimizarea etapelor de sortare celulara; Realizarea testelor pe probe biologice primare

8. Identificarea factorilor de semnalizare solubili eliberati de celule embrionare in mediul de cultura, ca potentiale elemente cheie in descifrarea capacitatii de resetare a genomului indusa de sistemul imun embrionar.

Tip proiect: proiect pilot Transcend,

Personal implicat: Bogdan Doroftei, Simona Cumpana, Ivanov Iuliu, Radu Iliescu, Andrei Neamtu, Alina Petre, Roxana Avadanei, Eugen Carasevici

Activitati: Documentare stiintifica pe baza literaturii de profil si cu referinta la tehnicile necesare realizarii proiectului; Setarea parametrilor de functionare a echipamentului MALDI TOF-TOF; identificarea diferentelor spectrale intre mediile de cultura control si cele de la embrionii cu dezvoltare normala sau cei degenerate

9. Realizarea unei baze de date cu pacientii cu leucemii acute din clinica de Hemato-Oncologie, in vederea investigarii statistice a parametrilor clinici, paraclinici si imagistici colectati in etapele de diagnostic si urmarire a raspunsului la tratament, cu recoltarea si stocarea de probe biologice suplimentare in vederea utilizarii acestora in studii ulterioare.

Tip proiect: proiect pilot Transcend,

Personal implicat: Angela Dascalescu, Irina Trandafir, Daniela Jitaru, Loredana Dragos, Ivanov Iuliu, Mihaela Zlei, Oana Pintilie, Ion Antohe, Catalin Danaila

Activitati: Completarea bazei de date cu pacientii diagnosticati in perioada 2015-2016 si cei nou diagnosticati; Recoltarea de probe pentru prezervarea de material biologic; Procesarea probelor primare pentru extractia acizilor nucleici, a celulelor de interes, plasma, ser, inregistrarea si stocarea acestora in congelatoare.

10. Boala minima reziduala in leucemiile acute limfoblastice la adult – monoclonalitate B si T
Tip proiect: proiect doctoral Univeritatea A.I. Cuza Iasi,

Personal implicat: doctorand Irina Trandafir, Ivanov Iuliu, Mihaela Zlei

Activitati: Documentare stiintifica pe baza literaturii de profil; Completarea bazei de date cu pacientii diagnosticati in perioada 2015-2016 si cei nou diagnosticati; Recoltarea de probe pentru prezervarea de material biologic; Procesarea probelor primare pentru extractia acizilor nucleici, a celulelor de interes, plasma, ser, inregistrarea si stocarea acestora in congelatoare.

11. Diagnosticul infectiilor asociate afectiunilor tumorale, prin secventiere ADN 16S
Tip proiect: proiect pilot Transcend,

Personal implicat: Ivanov Iuliu, Madalina Stefan, Irina Trandafir, Daniela Jitaru

Activitati: Extractia de ADN bacterian si fungic din probele primare de la pacientii cu sepsis din sectiile de ATI si Hematooncologie; Realizarea amplificarii PCR si realizarea etapelor de secventiere a produsilor amplificati; Interpretarea rezultatelor si corelarea cu datele obtinute din laboratoarele de microbiologie.

12. Novel Ti-apatite composite scaffold based on 3D-printing technology intended for spinal restoration

Tip proiect: Grant Intern de Cercetare - UMF Iasi (Acord de colaborare cu Transcend)

Coordonator: Șef Lucr. Dr. Maria Daniela Vlad

Personal Transcend implicat: Maria Daniela Vlad, Ivanov Iuliu

Activitati: Evaluarea caracterului osteogenic al structurilor compozite tridimensionale studiate: Culturi celulare, extractie ARN, expresie genica prin Real Time-PCR.

Mihaela Mentel, voluntar in perioada septembrie 2017-februarie 2018 in cadrul Departamentului de Biologie moleculara.

In aceasta perioada s-au stabilit doua protocoale de lucru:

1. Protocolul de lucru pentru inserarea fragmentelor de ADN de interes in vectori de clonare. Etapa de clonare este necesara in monitorizarea Bolii minime reziduale la pacientii cu leucemii acute limfoblastice, monoclonalitate B si T. Vectorul cu ADN test obtinut a fost introdus prin transformare bacteriana in celule de E. coli si apoi izolat prin purificare. Confirmarea clonarii fragmentului de ADN in vector s-a realizat prin secventiere Sanger cu primeri specifici (doctorand Irina Trandafir).
2. Protocolul de lucru pentru tehnica Western blot. Metoda a fost aplicata pentru a identifica prezenta proteinei Akt in lizate celulare folosind anticorpi specifici. Aplicarea metodei presupune mai multe etape: obtinerea lizatelor celulare, electroforeza SDS-PAGE, transfer pe membrana de nitroceluloza si localizarea complexelor antigen-anticorp specifice prin chemiluminiscenta.

Indicator de personal instruit si beneficiar al facilitatilor de cercetare

Doctoranzi: Ana Maria Musina (UMF), Ion Antohe (UMF), Ioana Hristov (UMF), Irina Trandafir

(Facultatea de Biologie), Andreea Rusu (UMF)

Masteranzi: Madalina Stefan (Facultatea de Biologie), Nemtanu Loredana Valentina (Facultatea de Biologie)

IV. DEPARTAMENTUL BIOINFORMATICA SI SIMULARE MOLECULARA

Infrastructura de cercetarea laboratorului constă într-un sistem High Performance Computing (HPC) care conține servere echipate cu GPU și 48 TBytes de stocare, furnizând o putere de calcul de 9.84 TFLOPS. Pentru analiza datelor și interpretarea sunt disponibile stații de lucru grafice.

Activități de cercetare

1. Studiu de caracterizare a unor nanovectori artificiali pentru transfecția genică. Cercetările au vizat caracterizarea interacțiunilor cu materialul genetic a doua tipuri de nanovectori: polimeri cationici bazați pe ciclodextrine PEG-ilate și polirotaxani.
2. Studiu asupra modalităților de îmbunătățire a predicției *in silico* a structurilor de anticorpi naturali/terapeutici și de predicție a epitopilor. Activitatea de cercetare s-a concentrat asupra predicției regiunilor hipervariable (bucla H3) utilizând simulări extensive de dinamică moleculară cu eșantionare îmbunătățită (Replica Exchange Molecular Dynamics). Utilizarea acestor metode pentru predicția structurală de anticorpi reprezintă o noutate în literatura de specialitate din domeniu.

Diseminare

Articole publicate

1. Transfection-capable polycationic nanovectors which include PEGylated-cyclodextrin structural units: a new synthesis pathway A. I. Dascalu, R. Ardeleanu, A. Neamtu, S. S. Maier, C. M. Uritu, A. Nicolescu, M. Sillion, D. Peptanariu, M. Calin, M. Pinteala, J. Mater. Chem. B, 2017, Advance Article; DOI:10.1039/C7TB01722G
2. Multivalent polyrotaxane vectors as adaptive cargo complexes for gene therapy Rodinel Ardeleanu, Andrei I. Dascalu, Andrei Neamtu, Dragos Peptanariu, Cristina M. Uritu, Stelian S. Maier, Alina Nicolescu, Bogdan C. Simionescu, Mihail Barboiu and Mariana Pinteala, Polymer Chemistry, 2017; DOI:10.1039/C7PY01256J

Participări la conferințe

Prezentări plenare (conferințe invitate)

1. Experiment Design and Molecular Dynamics Simulations in Polyplex Formation Tudor Vasiliu, Andrei Neamtu, Mariana PINTEALA Nineth Cristofor I. Simionescu Symposium frontiers in Macromolecular and Supramolecular science 12 – 14 June 2017 Iasi Romania 2017, Iași
2. Understanding protein dynamics using molecular simulatons Andrei Neamtu, “PROTEOMICS – from introduction to Clinical Applications” iulie 9 – 13 2017 Iasi, Romania

Prezentări orale

1. In Silico Epitope Mapping Using Replica Exchange Molecular Dynamics (REMD) Simulations, Andrei Neamtu, Affinity - Mass spectrometry – New Methods for Biochemical and Clinical Applications, November 2 – 3rd, 2017 Hochschule RheinMain, Rüsselsheim am

Main

Prezentări tip poster

1. Influența lungimii radicalului alchil din alchil-ureido-benzo-eteri- 15-coroană- 5 asupra capacității de transport cationic prin membrane lipidice dublustrat Radu Zonda, Adina Coroabă, Sorin Ibanescu, Tudor Vasiliu, Andrei Neamțu, Mihaela Silion, Mariana Pinteală Zilele Academice Iașene, a XXVI-a sesiune de comunicări științifice - Progrese în știința compușilor organici și macromoleculari, 5 - 6 octombrie 2017, Iași

Stagii de pregătire profesională

Stagiu (1 lună) la Institut de Biologie Physico-Chimique, Paris, France 13 Rue Pierre et Marie Curie, 75005. Perioada: 16.oct – 10.nov 2017

V. DEPARTAMENT CITOMETRIE IN FLUX SI IMUNOFENOTIPARE

Departamentul de Citometrie in Flux si Imunofenotipare este alcatuit din echipamente si metodologie specifica dedicate imunofenotiparii multiparametrice (maxim 12 parametri celulari investigabili concomitent), evaluarii apoptozei, viabilitatii celulare, ciclului celular, fragmentarii ADN, proliferarii celulare, detectiei populatiilor celulare rare, sortarii aseptice a populatiilor celulare de interes care, ulterior, pot fi transferate altor departamente (Culturi celulare, Biologie Moleculara, Citogenetica).

Echipamentele din dotarea Departamentului sunt:

- Platforma de separare celule si Citometru in flux AriaIII, Becton Dickinson, serie P648282B200, cu trei lasere, 10 detectori fluorescenta, maxim 12 parametri celulari si posibilitatea de sortare aseptica a celulelor de interes.
- Citometru in flux Navios, Beckman Coulter, seria AW14250, cu trei lasere, 10 detectori fluorescenta, maxim 12 parametri celulari.
- Citometru in flux Gallios, Beckman Coulter, seria AV29646, cu trei lasere, 10 detectori fluorescenta, maxim 12 parametri celulari.

Utilizand baza materiala din acest departament, personalul angajat reprezenta de Zlei Mihaela, Oana Maria Pintilie a fost implicat in urmatoarele activitati in 2017:

Personalul Departamentului furnizeaza urmatoarele activitati suport pentru proiectele de cercetare:

- consiliere design experimental
- consiliere selectie reactivi
- optimizare metoda
- instruirea tehnica a solicitantilor (utilizare citometru, inclusiv mentenanta, utilizare software de achizitie date, utilizare software analiza date, la cerere),
- consiliere tehnica (troubleshooting),
- analiza fisierelor de date cu furnizarea unei statistici brute si imagini + interpretare pentru rapoarte/publicatii, la cerere.

Activitate cercetare

1. Sortarea aseptica a populatiilor celulare de interes consecutiv evaluarii prin citometrie in flux (inclusiv optimizarea tehnicii).

A fost optimizata tehnica, astfel incat sa se obtina celule in suspensii sterile, cu puritate celulara optima (peste 90%) si recuperarea unui numar suficient de celule de interes (*recovery*).

Au fost sortate celule din linii celulare carcinomatoase, transfectate, GFP si RFP pozitive si CD44

pozitive versus negative, in vederea cultivarii lor ulterioare (studiu inter-disciplinar, proiect pilot

Investigator principal Crina Tiron.\

Personal implicat: Oana Maria Pintilie, Mihaela Zlei

De asemenea, au fost sortate celule mielomatoase, pentru evaluarea ulterioara prin biologie moleculara a profilului de expresie genica (proiect doctorat doctorand Universitatea Al I Cuza, Iasi, proiectul **Studiul unor anomalii moleculare si citogenetice in mielomul multiplu**).

Investigator principal: Loredana Mihaiela Dragos, doctorand

Personal implicat: Oana Maria Pintilie, Mihaela Zlei

2. **Comparatie intre doua protocoale de anestezie (sevofluran vs propofol) asupra nivelului circulator al limfocitelor T reglatorii si limfocitelor NK la paciente cu cancer de col uterin**, Grant intern Universitatea de Medicina si Farmacie, Iasi

Investigator principal: Dr. Irina Ristescu

Personal implicat: medici rezidenti terapie intensiva IRO, Iasi, Oana Maria Pintilie, Mihaela Zlei

3. **Systemic and local immune response evaluation to tumor aggressiveness in patients with colorectal cancer**, Grant intern Universitatea de Medicina si Farmacie, Iasi

Investigator principal: Dr. Dr. Ana Maria Musina (Prof. Dr. Scripcaru)

Personal implicat: Oana Maria Pintilie, Mihaela Zlei

4. **Imunoeditare si imunosupraveghere in leucemia acuta mieloblastica**, proiect doctorat, Universitatea de Medicina si Farmacie, Iasi

Investigator principal: Dr. Ion Antohe, doctorand

Personal implicat: Oana Maria Pintilie, Mihaela Zlei, Ioana Doina Popa

5. Colaborare cu Departamentul de Culturi Celulare: screening pentru evaluarea **profilului de expresie a citokeratinelor CK-7, CK-20** in linii celulare tumorale din colectia institutului: HT29 (adenocarcinom colo-rectal), U87 (glioblastom), LL/2 (carcinom pulmonar murin), EMT6 (carcinom mamar murin), A549 (adenocarcinom alveolar uman), 4T1 (carcinom mamar murin), LNCAP (adenocarcinom prostata) (proiect pilot, studiu interdisciplinar).

Investigator principal: Gabriel Dimofte

Personal implicat: Oana Maria Pintilie, Mihaela Zlei

6. Optimizarea si implementarea unor protocoale standard de identificare si caracterizare imunofenotipica prin citometrie in flux a unor populatii celulare tumorale de interes clinic.

7. Optimizarea si implementarea unor protocoale de prelucrare a probei pentru identificare cu sensibilitate crescuta (**Next generation flow cytometry**) si caracterizarea imunofenotipica prin citometrie in flux a unor populatii celulare tumorale de interes clinic.

Investigator principal: Mihaela Zlei

Personal implicat: Oana Maria Pintilie, Mihaela Zlei

8. Utilizarea unui instrument software specializat pentru analiza fisierelor de date generate prin achizitia prin citometrie in flux (software Infinicyt, Cytognos) pentru evaluarea retroactiva a datelor la diagnostic si pe parcursul monitorizarii (boli hematologice maligne) pentru crearea unor **baze de date** continand profile imunofenotipice normale sau caracteristice fiecarei entitati patologice. Aceste baze de date vor fi utilizate in viitor pentru diagnosticul imunofenotipic automatizat

Investigator principal: Mihaela Zlei

Personal implicat: Oana Maria Pintilie, Mihaela Zlei

VI. Medicina Nucleara: Unitatea de sinteza si cercetare radiotrasori si Unitatea de radiofarmacie

Unitatile de sinteza si cercetare radiotrasori si radiofarmacie sunt constituite dintr-un **ciclotron**, două **laboratoare radiosinteză**, și un **laborator de control al calității** (*fizico chimic și microbiologic*). Aceste structuri sunt interconectate și au ca scop *producerea de trasori marcați cu izotopi radioactivi și controlul de calitate al acestora*.

Ca aparatură majoră din cadrul acestor laboratoare menționăm:

- sisteme de monitorizare continuă a radioactivității în încăperile aferente laboratorului și în conducta de evacuare a aerului;
- ciclotron self shielded
- două HotCell-uri de sinteză a radiofarmaceuticelor prevăzute cu trei aparate automate de sinteză, sisteme de dispensare, sisteme de măsurare a radioactivității etc.
- un sistem de stocare și carantină a aerului contaminat prevăzut și acesta cu sistem de control al radioactivității,
- aparatură dedicată controlului de calitate al produselor radiofarmaceutice (cromatograf de lichide prevăzut cu detector electrochimic și detector radiochimic, cromatograf de gaze prevăzut cu detector de ionizare în flacără, TLC-scanner prevăzut cu detector radiochimic, gama spectrometru, calibrator de doze, aparat de detectare a endotoxinelor, două incubatoare, două frigidere, un congelator, două autoclave, pH-metru, dozimetre portabile, balanță analitică, aparat pentru producere de apă purificată etc.

În decursul anului 2017 a fost finalizată instalarea acestor facilități și demonstrarea capacității de producere a unor izotopi radioactivi din diverse materiale, verificarea capacității de sinteză a trasorilor marcați cu izotopii radioactivi, demonstrarea faptului că toată aparatura necesară testelor de calitate funcționează corespunzător precum și validarea metodelor de analiză (acolo unde a fost cazul).

Astfel, pentru toate sistemele din dotare au fost efectuate:

- Calificarea Instalării (IQ);
- Calificarea Operațională (OQ);
- Calificarea Performanțelor (PQ).

Au fost efectuate măsurători și au fost demarate activitățile necesare în vederea dotării Laboratorului de Radiofarmacie cu strictul necesar de mobilier pentru zonele controlate (atât pentru zona neclasificată cât și pentru zona clasificată).

Au fost elaborate tematicile pentru concursurile de ocupare a posturilor de fizician și respectiv chimist din organigrama Laboratorului.

Coordonator interimar Centrul de Cercetare TRANSCEND,

Crina Tiron