Cercetare comună ROMD, privind pronosticul și strategiile de tratament pentru pacienții HIV (+) DLBCL

Contract de finantare nr.31ROMD/2024

Director de proiect Sef lucrari dr. Ciprian Tomuleasa

Valoare buget:710.520 lei

Perioada de implementare:20.05.2024-19.05.2026

Parteneri:

Universitatea de Medicina si Farmacie,, Nicolae Testemiteanu" Chisinau Republica Moldova
Institutul Oncologic Chisinau Republica Moldova

Scopul principal al acestei propuneri de proiect comun, de cercetare și dezvoltare, este să valorifice potențialul de excelență al cercetătorilor de la Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu din Cluj Napoca, România (Coordonator), Universitatea de Stat Nicolae Testemițanu din Chișinău, Moldova (Partener P1), și Institutul de Oncologie din Chișinău, Moldova (Partener P2), oferind acces la infrastructura de cercetare existentă în România, în vederea creării unui panou genetic țintit de limfom cu secvențiere de nouă generație (NGS) pentru utilizare la pacienții cu DLBCL HIV(+) precum și DLBCL HIV(-), permițând o evaluare cuprinzătoare a peisajului genetic al DLBCL în ambele populații de pacienți, facilitând o mai bună înțelegere a mecanismelor moleculare la baza bolii. Acest lucru poate duce la îmbunătățirea diagnosticului, prognozei și strategiilor de tratament personalizate adaptate fiecărui pacient. Proiectul va contribui la extinderea echipei de cercetare românești prin crearea a unei poziții echivalenta normă întreagă. În plus, va facilita mobilitatea cercetătorilor din ambele state, promovând schimbul de bune practici și transferul de cunoștințe, va consolida și avansa carierele a 6 tineri cercetători în instituțiile de cercetare din Moldova, îmbunătățindu-le statutul profesional prin intermediul unui set de vizite educaționale în România, permițându-le să înțeleagă complet și deplin contextul științific din spatele patogenezei limfoamelor asociate cu HI

Membrii echipei:

Universitatea de Medicina si Farmacie,, Iuliu Hatieganu" Cluj Napoca

Tomuleasa Ciprian-Director de proiect
Adrian Bogdan Tigu-Membru-Cercetător postdoctoral
Diana Cenariu- Membru-Cercetator
Sabina Iluta-Membru-Doctorand
Minodora Silvia Desmirean-Membru-Cercetător postdoctoral
Madalina Nistor-Membru-Cercetător postdoctoral

Universitatea de Medicina si Farmacie,, Nicolae Testemiteanu" Chisinau-Republica Moldova

Maria Robu- Responsabil Partener 1 (P1)
Daniela Galea-Abdusa- Membru-Cercetător postdoctoral
Ivan Negara- Membru-Doctorand
Victor Tomacinschii- Membru-Doctorand

Institutul Oncologic Chisinau-Republica Moldova

Oleg Arnaut- Responsabil Partener 2 (P2)
Ina Sclifos- Membru-Cercetător postdoctoral
Dumitru Brinza- Membru-Doctorand
Cristina Dudnic- Membru-Doctorand

Rezultate intermediare

Dezvoltarea protocolului de extracție a acizilor nucleici pentru evaluarea expresiei genice din probele din țesut păstrat in parafina

Pentru izolarea ARN si ADN din blocurile de parafina se realizează secțiuni din proba de interes, utilizând dimensiunea de 20 microni pentru fiecare secțiune. Astfel fiecare proba este formata din 4-8 secțiuni de parafina din nodulul limfatic.

a. Țesutul parafinat este stocat in tuburi sterile de plastic, cu volum de 1.5 mL si fundul conic.
b. Peste fiecare grup de secțiuni de 4x20 um sau 8x20 um se adaugă 1mL de Xylen 100% - puritate analitica.
c. Tuburile se centrifughează si sedimentul este apoi incubat la 50 grade Celsius timp de 3 minute. Urmate de o centrifugare la viteza maxima, si temperatura camerei.
d. Probele sunt spălate cu etanol pur, prin centrifugare. Apoi sunt lăsate 15-40 minute in hota sterila cu flux laminar pentru evaporarea rezidiului de etanol.

Procesarea ulterioara se realizează folosind Kitul produs de Ambion/ThermoScientific – Recover All Total Nucleic Acid Isolation Kit AM1975.
a. Fiecare 40 um sunt imersati in 100 uL de Tampon de digestie si se adaugă 4 uL de proteaza pentru degradarea proteinelor. Proba se amesteca usor, fara vortex!
b. Pentru izolarea de ARN – se incubează 15 minute la 50*C urmat imediat de 15 minute la 80*C, fara agitare.
c. Se adaugă apoi tampon de digestie (preparat conform kitului) si de amesteca prin pieptare.
d. Probele sunt transferate pe coloane cu filtru si sunt spălate prin centrifugare cu Wash 1 si Wash 2/3 (conform protocolului din kit).

Pentru izolarea ARN se urmează pașii din kit.
a. 60 uL de amestec de DNAse si se incubează la temperatura camerei 30 minute.
b. Probele sunt spălare cu Wash 1 si Wash 2/3, conform protocolului, iar la final coloanele cu filtru sunt mutate intr-un tub de colectare steril si 60 uL de apa ultrapura, libera de nucleaze si pirogeni, sunt pipetati peste filtru.
c. Se incubează 1-2 minute la temperatura camerei – pentru a permite apei sa desprindă ARN de pe filtru.

Evaluarea probelor si stocarea

a. ARN se măsoară la Nanodrop urmărind rapoartele de absorbție la 260/280 nm si 260/230 nm astfel încât sa fie conform cu necesarul de calitate pentru ARN.

b. Stocarea se realizează la -80*C in tuburi sterile.