

Monitoraggio 2020

Descrizione azioni realizzate nel 2019

Nel corso del secondo anno di attività del progetto del DSM sono state realizzate le seguenti infrastrutture di ricerca:

- Biobanca centralizzata con modalità di gestione e fruizione open access per il processamento e la conservazione dei campioni biologici di interesse. Inoltre è stata realizzata l'architettura informatica della biobanca mediante progettazione di un software che garantisca la sicurezza dei dati sensibili. Nel corso del 2019 sono stati attivati 5 progetti di ricerca con regolare approvazione del Comitato Etico aziendale che prevedono l'appoggio alla biobanca. Da luglio 2019 è attivo il reclutamento e lo stoccaggio di campioni sui diversi progetti (per un totale di € 69.696,62). Si fa presente che la quota pari a € 45.000 dichiarata come cofinanziamento per l'anno 2018 per la ristrutturazione dei locali siti nella palazzina di Genetica è stata infine presa in carico e sostenuta dall'Amministrazione Centrale;

- Piattaforma per l'analisi genomica, collocata al secondo piano della Palazzina di Genetica, finalizzata all'applicazione di tecniche di sequenziamento di nuova generazione (NGS) e costituita da un laboratorio per attività "Pre-PCR" e un laboratorio "Post-PCR". Nel corso del 2019, sono stati acquistati ed installati i seguenti strumenti aggiuntivi: CFX Real-Time PCR Detection System; Agilent 2100 Bioanalyzer system; Qubit 4 Fluorometer; NanoDrop One spectrophotometer e altro materiale base per il funzionamento dei laboratori. La piattaforma Genomica è stata usata finora in maniera trasversale da tutte le aree di ricerca del DSM portando all'analisi in NGS di più di 860 campioni, includendo esomi clinici, miRNoma, ampi pannelli genici (per un totale di € 62.727,05). E' stato inoltre creato il Gruppo di Lavoro Core-Lab che ha portato alla stesura di un primo manuale di tecniche di estrazione di DNA/RNA e di metodiche relative all'analisi NGS di DNA (pannelli, esomi clinici) e di RNA (miRNoma, trascrittoma) iniziando da diversi tessuti di partenza;

- Centro di calcolo per l'analisi di dati omici e big data, la piattaforma relativa al calcolo scientifico è ora in grado di offrire un supporto per il calcolo ad alte prestazioni, utilizzando il supercomputer OCCAM (<http://c3s.unito.it>). Ciò è stato possibile consolidando la collaborazione con il Centro di Competenza sul Calcolo Scientifico C3S dell'Università di Torino, nel cui Consiglio Scientifico è rappresentato il DSM. Il cluster OCCAM ha ora un'ulteriore dotazione di quattro PowerEdge R740 Server con connessione InfiniBand e 192GB di RAM, che sono dedicati alle esigenze di calcolo del DSM e stanno funzionando in parallelo alla struttura esistente. È stata definita la modalità tecnica di accesso dei ricercatori del DSM in accordo con l'ente gestore del C3S. Inoltre, sono state identificate le procedure per la creazione di aree dati con visibilità limitata ai singoli progetti di ricerca, utilizzando il sistema di creazione gruppi e progetti di gitLab. Si è acquistato un sistema di backup remoto ospitato presso il Consorzio TOP-IX (Torino Piemonte Internet Exchange, che include tra i membri l'Università di Torino), che per ragioni geografiche (distanza dal sequenziatore e dal sistema di calcolo Occam) offre una maggiore garanzia nei casi di disaster recovery. Il sistema di backup è stato installato ad ottobre 2019 e si stanno progettando le modalità di trasferimento dati dalle sorgenti stesse (dati da sequenziamento, basi di dati già consolidate, ecc.) verso il sistema di backup e quello di calcolo OCCAM (per un totale di € 28.117,34). Stato di avanzamento delle attività legate agli obiettivi scientifici di definizione e validazione di profili di rischio omico-clinico, con identificazione di nuovi marcatori utilizzabili nelle 4 aree principali di interesse del DSM:

- Area Cardio Metabolica: è stato avviato il progetto per l'identificazione di potenziali biomarcatori mirati alla prevenzione, diagnosi e prognosi di patologie cardio-metaboliche. Al fine di analizzare i microRNA dal siero di

soggetti con disturbi metabolici e una serie di relativi controlli sani, sono stati acquistati i reagenti per la precipitazione di vescicole extracellulari da siero, estrazione di RNA, preparazione di librerie per small non coding RNA e celle di flusso per l'analisi sul sequenziatore della piattaforma genomica (NextSeq550). Sono stati analizzati i profili di espressione di 228 soggetti della casistica EPOS, 400 casi appartenenti allo studio EURODIAB e concluse le analisi bioinformatiche di 184 campioni dello studio prospettico EPICOR. Seguiranno le analisi statistiche per identificare i microRNA associati a diabete di tipo 1 e patologie epatiche e procedere alla validazione con RT-PCR. Verranno anche analizzati i profili di metaboliti nel siero ed integrati con i dati genetici ottenuti dall'analisi dell'esoma. E' stato avviato il reclutamento per la creazione di una coorte prospettica di pazienti in accordo al protocollo di arruolamento per l'area cardio-metabolica approvato dal Comitato Etico della Città della Salute e della Scienza (per un totale di € 122.032,84);

- Area Oncologica: durante il secondo anno di progetto i gruppi di lavoro dedicati al carcinoma della mammella e al melanoma hanno lavorato a stretto contatto con il gruppo di Genomica per il disegno dei pannelli genici relativi alle analisi molecolari. Il gruppo "carcinoma della mammella" ha ottimizzato il pannello "TSO500", di cui è stato fatto training con personale di

'Anatomia Patologica e Genetica Medica. E' stato effettuato uno studio pilota di 8 casi che ha messo in evidenza la piena fattibilità della metodica con relativa analisi nei nostri laboratori, ed è ora in corso una analisi di 16 ulteriori casi. In parallelo, una coorte di 73 tumori della mammella a fenotipo triplo negativo risultati wild type per BRCA1/BRCA2 è stata analizzata dalla Genetica Medica con pannello Haloplex di 15 geni associati a un moderato-alto rischio di sviluppare il tumore della mammella. L'Anatomia Patologica ha inoltre: i) validato una metodica di analisi di copy number profiling a partire da piccole quantità di DNA estratto da tessuto FFPE (CUT-seq) in collaborazione con il prof. Nicola Crossetto (Karolinska Institute, Stoccolma) e analizzato con tale metodica 20 casi di carcinoma della mammella con pattern HER2-equivoco; ii) lavorato al grado di frammentazione del DNA su tessuti FFPE tramite assay di qRT-PCR identificando come la fissazione in formalina pre-raffreddata possa portare a un minore grado di frammentazione del DNA.

Il gruppo di lavoro "melanoma" ha attivato un ambulatorio per pazienti con melanoma multiplo o familiare arruolando a dicembre 2019 n.55 pazienti, di cui sono disponibili caratteristiche cliniche complete e prelievo di sangue per estrazione DNA germinale stoccato presso la Genetica Medica per analisi di geni non oggetto di pratica clinica. Per lo studio relativo alle mutazioni somatiche è stata selezionata una coorte di pazienti affetti da melanoma metastatico stadio III e IV disease-free dopo chirurgia o con malattia metastatica in atto sottoposti presso la Dermatologia a terapia sistemica con nuovi farmaci sia Anti-PD1 (nivolumab/pembrolizumab) sia terapia target a bersaglio molecolare (dabrafenib/trametinib). Sono stati raccolti nella Biobanca TESEO campioni di siero, plasma e buffy coat di 25 pazienti al basale prima di inizio di terapia adiuvante e poi a intervalli mensili. La genetica medica ha supportato il gruppo di lavoro per la definizione del disegno del pannello genico da utilizzare per gli studi molecolari. Sono stati infine attivati reclutamenti di coorti su altre sedi tumorali (per un totale di € 36.400,10);

- Area Genetica Medica e Farmacogenomica: sono stati acquistati reagenti e materiale per analisi di biologia molecolare e cellulare, quali plasmidici e reagenti standard per colture cellulari, vettori di espressione, reagenti per PCR, qRT-PCR, analisi di espressione e dei livelli proteici (anticorpi/reagenti per western blot). Per la caratterizzazione genetica di casi complessi sono stati utilizzati pacchetti di analisi esomiche in service, e reagenti per sequenziamento NGS con piattaforma in house NextSeq550. Per lo studio di modelli cellulari sono stati ordinati reagenti per reprogramming di cellule in senso staminale (generazione iPSC).

Sono stati sostituiti alcuni piccoli apparecchi da bancone non più funzionanti tra cui una centrifuga da laboratorio (per eppendorf 1.5), 2 apparati da elettroforesi orizzontale per gel di agaroso, e 5 set di micropipette. Inoltre, sono stati effettuati interventi di manutenzione su incubatori e congelatori di laboratorio. Inoltre è stato acquisito software per il modeling in campo farmacocinetico / farmacodinamico e tossicocinetico (per un totale di € 51.746,13);

- Area Trapianti di Organo Solido: i filoni di interesse in questo campo sono due. Il primo riguarda l'identificazione di marcatori precoci di rigetto. In questo anno è stato approvato il progetto per il reclutamento di pazienti con trapianto di organi toracici su cui monitorare il rigetto attraverso la misura del DNA libero circolante di origine del donatore. Al momento abbiamo reclutato 16 pazienti trapiantati di polmone e 15 di cuore. Le analisi, basate sul mismatch HLA al locus DR, sono in corso. Il secondo riguarda l'uso del sequenziamento NGS per l'identificazione di geni mutati in pazienti candidati al trapianto di organo solido. In quest'anno sono stati reclutati circa 200 pazienti con insufficienza renale cronica e sospetto di patologia monogenica che sono stati sottoposti all'analisi dell'"esoma clinico". I risultati indicano che per circa il 60% di questi pazienti, l'indagine permette di identificare geni mutati responsabili della patologia (per un totale di € 93.064,67).