Analisi genomica e trascrittomica a livello di singola cellula su cellule staminali di pazienti con Mielofibrosi.

La caratterizzazione dell'assetto mutazionale e della deregolazione trascrizionale di cellule staminali di pazienti con Mielofibrosi, mediante analisi genomiche e trascrittomiche a livello di singola cellula, è uno dei progetti di cui si occupano i ricercatori del CIDSTEM, nell'ambito della medicina personalizzata.
Il progetto si propone lo studio puntuale di singole cellule staminali di pazienti affetti da Neoplasie Mieloproliferative. Questa famiglia di rari tumori ematologici è caratterizzata dall'evoluzione di una patologia cronica in una leucemia acuta che esita in una prognosi infausta.
La caratterizzazione dei cloni che sostengono la patogenesi in fasi precoci della malattia e l'identificazione di nuove vie di segnalazione, coinvolte nell'evoluzione della neoplasia, sono alla base dello sviluppo di terapie personalizzate.
Inoltre l'estensione dell'ambito di applicazione di questa metodica consentirà di implementare i modelli prognostici attualmente in uso.

Laboratorio	CIDSTEM
Area di specializzazione	Salute e Benessere
Referenti	Rossella Manfredini
Keyword	Medicina personalizzata, Medicina Molecolare, Diagnosi precoce, Hematological Neoplasms

"Analisi single cell su cellule staminali emopoietiche"

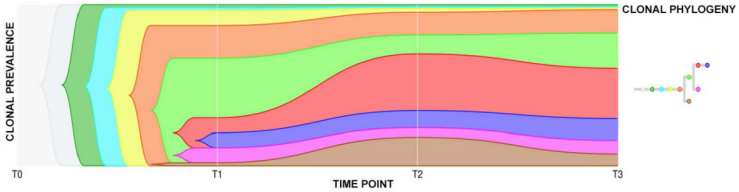


Fig. 1: Digramma rappresentativo dell'architettura clonale di un paziente di Mielofibrosi

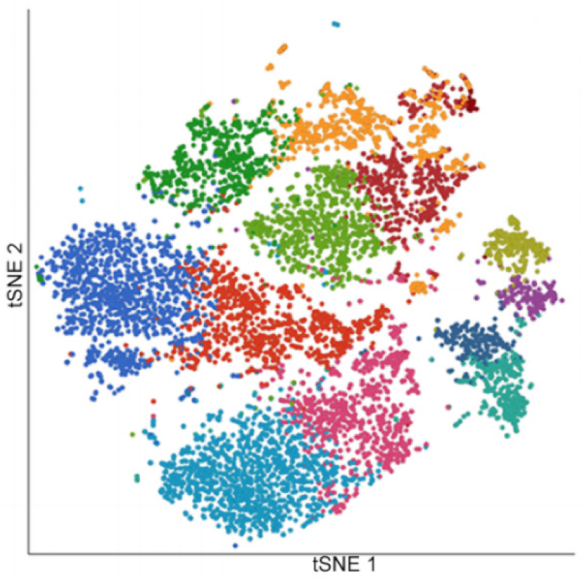


Fig. 2: Rappresentazione della disposizione spaziale di ciascuna cellula sulla base del loro profilo trascrizionale

Descrizione

Gli obiettivi specifici del progetto sono:
• l'ottimizzazione di uno stumento di analisi genomica a livello di singola cellula che consenta di caratterizzare i cloni che sostengono la patogenesi in fasi precoci della malattia.;
• lo sviluppo di un workflow per l'analisi trascrittomica a livello di singola cellula, al fine di identificare nuove vie di segnalazione, coinvolte nell'evoluzione della neoplasia, che possano essere target di nuovi approcci terapeutici;
• l'estensione dell'ambito di applicazione di questo protocollo a tutte le neoplasie ematologiche e a tumori solidi, sostenuti da cloni multipli la cui prevalenza è modulata durante la progressione della malattia

Aspetti innovativi

Le analisi genomiche e trascrittomiche condotte a livello di singola cellula sono la nuova frontiera dello studio delle neoplasie. Recenti studi hanno infatti dimostrato che l'ordine di acquisizione delle mutazioni influenza la sensibilità di un paziente ai trattamenti farmacologici. Questo progetto si propone di caratterizzare la complessità clonale delle neoplasie mieloproliferative. Questo studio si colloca quindi nel settore in rapida evoluzione della medicina personalizzata

Applicazioni

Le metodologie di analisi su singola cellula sviluppate dal progetto possono trovare applicazione non solo nel campo delle tumori ematologici ma anche in quello delle neoplasie solide a carico di tutti gli altri organi. Il modello studio può essere applicator infatti a tutte le neoplasie caratterizzate da un'ampia eterogeneità clonale.



Fig. 3: Operatore dell'area GMP del CIDSTEM

Partner coinvolti	CIDSTEM, CGR UNIMORE, AOU Modena, Holostem Terapie Avanzate, Chiesi Famaceutici, JSB, Fondazione Democenter-Sipe
Tempi di realizzazione	5 anni
Livello di maturità tecnologica	TRL 4 - tecnologia validata in laboratorio
Valorizzazione applicazione	Carretta C, Mallia S, et al., Genomic Analysis of Hematopoietic Stem Cell at the Single-Cell Level: Optimization of Cell Fixation and Whole Genome Amplification (WGA) Protocol. Int J Mol Sci. 2020 Oct 6;21(19):E7366. Parenti S, Rontauroli S, Carretta C, Mallia S et al., Mutated clones driving leukemic transformation are already detectable at the single cell level in CD34-positive cells in the chronic phase of Primary Myelofibrosis. Precision Oncology,2021

Esempio di applicazione

Identificazione precoce dei cloni che sostengono la progressione tumorale e identificazione di terapie personalizzate per ogni paziente.

I ricercatori del CIDSTEM hanno messo a punto con successo il protocollo di analisi genomica su singola cellula volto alla caratterizzazione dello stato mutazionale di pazienti affetti da Mielofibrosi (Carretta C., Mallia S. et al, IJMS, 2020). Il protocollo è stato applicato all'analisi delle cellule staminali del primo paziente con diagnosi di Mielofibrosi, seguito durante la progressione della malattia, confermando la solidità del workflow ottimizzato e l'importanza dello studio della complessità clonale (Parenti S., Rontauroli S. Carretta C, Mallia S. et al., Precision Oncology under revision).
Partendo dal sangue periferico del paziente vengono isolate le cellule staminali CD34+ e sottoposte alle analisi descritte. Questo studio ha consentito di caratterizzare precocemente piccoli cloni di cellule, recanti un particolare assetto mutazionale, in grado di espandersi e determinare l'evoluzione della neoplasia in senso maligno. Tale espansione riflette l'aggravamento delle condizioni globali del paziente e la non responsività dello stesso alle terapie.
CIDSTEM, CGR UNIMORE, AOU Modena, Holostem Terapie Avanzate, Chiesi Famaceutici, JSB, Fondazione Democenter-Sipe
5 anni
Carretta C, Mallia S, et al., Genomic Analysis of Hematopoietic Stem Cell at the Single-Cell Level: Optimization of Cell Fixation and Whole Genome Amplification (WGA) Protocol. Int J Mol Sci. 2020 Oct 6;21(19):E7366.
Parenti S, Rontauroli S, Carretta C, Mallia S et al., Mutated clones driving leukemic transformation are already detectable at the single cell level in CD34-positive cells in the chronic phase of Primary Myelofibrosis. Precision Oncology,2021

CIDSTEM

Centro Interdipartimentale Cellule Staminali e Medicina Rigenerativa

Il Centro Interdipartimentale Cellule Staminali e Medicina Rigenerativa (CIDSTEM) dell'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia ha sede presso il Centro di Medicina Rigenerativa "Stefano Ferrari" (CMR), punto di riferimento internazionale per le terapie avanzate mediante l'utilizzo di cellule staminali epiteliali, che dispone di un'officina farmaceutica di produzione autorizzata GMP.Le attività di ricerca del CIDSTEM sono focalizzate sulla ricerca e sviluppo di nuovi prodotti per terapie avanzate (ATMPs) a base di cellule staminali e sulla loro applicazione clinica in protocolli di terapia cellulare e terapia genica.
Il Centro dispone di tutto il know-how e la strumentazione necessaria per offrire alle aziende:
• un servizio di implementazione di ricerca e sperimentazioni cliniche, approvate dagli enti regolatori, di terapie avanzate che prevedono colture cellulari in GMP, le cui modalità di accesso sono pubblicate sul sito;
• un servizio di consulenza per il trasferimento tecnologico in GMP delle sperimentazioni cliniche e precliniche e per la produzione di colture cellulari per terapie avanzate.
• implementazione di ricerche volte all'industrializzazione di colture cellulari per lo sviluppo di ATMPs;
• testing di nuove tecnologie (nanomateriali, scaffolds per la realizzazione di tessuti in 3D cellularizzati, attrezzature da laboratorio, software per trial clinici e per la gestione di dati biologici, logistica GMP compliant, etc).

Sito web	http://www.cidstem.unimore.it
Direttore	Graziella Pellegrini
Data pubblicazione	22/10/2024