Relazione Mobilità di breve durata (Short-term mobility STM) 2015 della Dott.ssa Floriana Forzati riguardante il periodo di permanenza presso l'Istitute of Cancer Research, London (UK).

A chi di competenza,

Dal giorno mercoledi 15 Aprile 2015 al giorno lunedi 18 Maggio 2015 ho lavorato presso l'Istitute of Cancer Research, London (UK) nel laboratorio del Dr. Spiros Linardopoulos, responsabile dell'unità di "Drug Discovery"per una collaborazione scientifica nell'ambito del programma Mobilità di breve durata (Short term moblity STM) 2015 del CNR.
Il Dr. Spiros Linardopoloulus si occupa da anni dello studio di geni bersaglio per lo sviluppo di nuove terapie anticancro, in particolare le sue ricerche sono focalizzate sullo studio delle chinasi mitotiche Aurora A e "Monopolar spindle 1" (Mps1).
Lo scopo del mio progetto e'stato quello di valutare se l'iperespressione della proteina oncosoppressoria CBX7, in cellule tumorali polmonari e tiroidee, possa modulare la sensibilità al trattamento con inibitori di chinasi mitotiche in combinazione o non con chemioterapici.
Durante questo periodo, grazie alla consolidata esperienza del laboratorio ospitante, ho messo appunto le condizioni sperimentali per il trattamento con tali farmaci.
Il primo "step" è stato valutare la concentrazione di utilizzo delle singole sostanze. Stabilite le condizioni di trattamento (concentrazioni utili del farmaco e tempi, relativamente al numero di cellule piastrate), le cellule sono state piastrate in piastre da 96 pozzetti ad una confluenza di 2000 cellule per punto e trattatte con taxolo, con un inibitore di Aurora A e di Mps1 (in fase sperimentale) per 72 ore. L'attività metabolica delle cellule trattate è stata valutata mediante saggi di vitalità (Cell Titer assay, Promega).
Risultati preliminari ottenuti in cellule A549 (NSCLC) e FRO (Anaplastic thyroid carcinoma) suggeriscono che la presenza in overespressione stabile della proteina CBX7 aumenta notevolmente la sensibilità al taxolo, rispetto alle cellule wild type. L'inibitore di Aurora A e l'inibitore di Mps1 hanno mostrato un 'attività inibitoria significativa nelle cellule overesprimenti, che necessita di ulteriori conferme.
Nella seconda parte della mia permanenza presso il laboratorio del Dr. Linardopoulos ho imparato e messo appunto il protocollo sperimentale per effettuare trattamenti combinati tra inibitori delle chinasi mitotiche con chemioterapici. Gli approcci sperimentali appresi sono stati due: nel primo approccio le combinazioni farmacologiche sono effettuate usando uno dei due composti con contrazione fissa e il secondo a concentrazione variabile, i dati vengono analizzati con il programma Macsinergy II, in modo da poter individuare un area di sinergia tra due composti. Il secondo metodo invece utilizza le combinazioni dei due composti in ogni singolo punto, mantenendo il rapporto delle concentrazioni uguali al rapporto delle rispettive IC50 per ogni singolo punto sperimentale e i dati vengono analizzati utilizzando il metodo di Chou Talami che ci permette di individuare l'indice di combinazione.
In questo caso abbiamo potuto effettuare gli esperimenti solo su cellule di controllo, usando 1000 cellule per pozzetto, e trattandole per 72 ore. Le cellule sono state analizzate con saggi di vitalità.
I dati preliminari ottenuti e le metodologie messe a punto permetteranno di proseguire lo studio del ruolo esercitato da CBX7 nella sensibilità ai chemioterapici.
L'esperienza presso il laboratorio del Dr. Linardopoulos è stata di straordinaria importanza sia da un punto di vista tecnico che scientifico, inoltre si è stabilita una collaborazione scientifica, per la quale il Dr. Linardopoulos ci ha fornito i composti usati durante la STM, per potere continuare gli esperimenti, e piena disponibilità di carattere pratico e teorico per il futuro.

Napoli 16/06/2015

Floriana Forzati