**Progetto di ricerca: Ruolo dei ligandi di Notch e degli acidi biliari nella valutazione precoce dell’insorgenza del cancro al colon retto**

Il progetto dell’Assegno di Ricerca prevede lo studio di nuovi biomarcatori, più specifici per la rivelazione precoce del cancro del colon retto (CRC).

In primis verrà valutato il ruolo della segnalazione mediata dai recettori Notch di membrana in cellule umane tumorali da sia attraverso tecniche biochimiche convenzionali (Real Time PCR, saggi con sonde fluorescenti, saggi spettroscopici) sia attraverso lo sviluppo di biosensori cellulari al fine di individuare anche i meccanismi coinvolti nella tumorigenesi. Verranno poi condotti studi di espressione genica e di immunoistochimica in biopsie provenienti da soggetti con polipi iperplastici, displasici di basso e alto grado e affetti da CRC conclamato per verificare se i ligandi specifici di Notch coinvolti nell’attivazione di questa via di trasduzione del segnale possano essere utilizzabili anche nella pratica clinica. In aggiunta, verrà analizzata la composizione dello sterolbioma fecale per identificare se specifici acidi biliari possano essere coinvolti nel processo tumorigenico. I risultati potrebbero portare all’individuazione di strategie diagnostiche e preventive “tailor-made” basate sulla valutazione di nuovi biomarcatori.

***Piano di attività***

Il piano di attività prevede che il titolare dell’assegno di ricerca si occupi dell’ottimizzazione di tutti i parametri sperimentali per la valutazione del coinvolgimento della via di segnalazione di Notch e della messa a punto dei metodi biochimici descritti nel progetto, in particolare:

- procedure di analisi per valutare e quantificare l’espressione genica *in vitro* su cellule umane tumorali da CRC (con Real Time PCR e western blot) dei componenti della via di segnalazione di Notch, anche in seguito a trattamento con acidi biliari primari e secondari;

- procedure di analisi per valutare e quantificare l’espressione genica dei ligandi e recettori di Notch e la loro localizzazione tissutale su sezioni di biopsie mediante immunoistochimica utilizzando opportuni anticorpi, o attraverso lo sviluppo di proteine ricombinanti bioluminescenti ottenute attraverso tecniche di bioingeneria da colture di cellule d’insetto.

- analisi del contenuto fecale di acidi biliari da soggetti con polipi iperplastici, displasici di basso e alto grado e affetti da CRC conclamato attraverso HPLC-MS/MS.