



DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

Modulo richiesta assegno

TUTOR	Fabio Dall'Olio		
PRODUZIONE SCIENTIFICA TUTOR			
Punteggio VRA	0.92		

Commissione proposta 3 commissari + 1 supplente	Prof. Fabio Dall'Olio
	Dott. Nadia Malagolini
	Prof. Letizia Polito
	Prof. Andrea Bolognesi (supplente)

TITOLO DEL PROGETTO		
Meccanismi molecolari di regolazione della glicosiltrasferasi B4GALNT2 nel cancro coloretale		
ASSEGNO FINANZIATO DA PROGETTO COMPETITIVO <i>(barrare la casella corrispondente)</i>	<input type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO
SE IL FINANZIAMENTO È COMPETITIVO L'ENTE FINANZIATORE		
PROGETTO/ATTIVITÀ A SCOPO COMMERCIALE <i>(es. sperimentazione profit)</i>	<input type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO
CARATTERISTICHE DEL PROGETTO <i>(biomedico/osservazionale/clinico-interventistico/multidisciplinare)</i>	Biomedico	
STATO DI APPROVAZIONE DEL PROGETTO DA PARTE DEL COMITATO ETICO <i>(se necessario per il tipo di studio barrare o evidenziare la casella corrispondente)</i>	<input type="checkbox"/> Ottenuto	<input type="checkbox"/> Da ottenere
DESCRIZIONE DEL PROGETTO <i>(max 800 parole)</i>		



DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

(1) obiettivi, (2) materiali e metodi, (3) risultati/impatto attesi, (4) attività formativa e (5) di ricerca dell'assegnista

(1) Obiettivi. La glicosilazione consiste nell'aggiunta di catene di zuccheri alle proteine e ai lipidi di membrana. Il fenomeno è mediato da una classe di enzimi noti come glicosiltrasferasi. Le catene glicidiche mediano svariati processi biologici e subiscono profonde alterazioni nel cancro, spesso dovute ad alterata espressione di alcune glicosiltrasferasi. Un'alterata espressione nei tumori di glicosiltrasferasi e delle strutture glicidiche da esse sintetizzate ha non solo un ruolo prognostico predittivo, ma anche la capacità di alterare il fenotipo neoplastico, rendendolo più o meno aggressivo. La glicosiltrasferasi B4GALNT2, che sintetizza l'antigene glicidico Sda, è fortemente espressa nel colon normale ma viene quasi totalmente inibita nel carcinoma coloretale (CRC). Tuttavia, i pazienti che mantengono nel tumore livelli più elevati di B4GALNT2 presentano una migliore prognosi. Inoltre, l'espressione di questo enzima riduce la malignità di linee cellulari di CRC in vitro. L'obiettivo dell'assegnista di ricerca è la comprensione dei meccanismi molecolari che regolano l'espressione del gene B4GALNT2 nel CRC. **(2) Materiali e metodi.** Studi precedenti hanno identificato come potenziali fattori di regolazione di B4GALNT2 nel CRC: i) la metilazione in siti specifici della "CpG island" e delle "Northern shores" del promotore, oltre che di una posizione "open sea" situata nell'introne tra il sesto ed il settimo esone del gene. Dall'analisi di banche dati come "The Cancer Genome Atlas" (TCGA) è emerso il ruolo chiave di quest'ultimo; ii) il miR-204-5p; iii) il fattore di trascrizione FOXD1, il cui ruolo inibitore è stato da noi identificato mediante analisi delle banche dati di espressione genica e confermato sperimentalmente, mediante trasfezione genica. Per gli studi ci si avvarrà di numerose linee cellulari di CRC a diverso livello di espressione di B4GALNT2 tra cui spicca per la sua unicità la linea Gp2d con livelli di B4GALNT2 simili a quelli di una mucosa normale. In tutti gli studi descritti in seguito, l'espressione di B4GALNT2 verrà misurata sia mediante RT-PCR quantitativa (qRT-PCR) che come attività enzimatica utilizzando un substrato radioattivo. Per confermare il ruolo di FOXD1 nel blocco di B4GALNT2, ci si ripromette di riattivarne l'espressione in linee di CRC (come le SW948) in cui è bloccata, trattandole con siRNA specifici per FOXD1. La capacità di FOXD1 di legarsi ai diversi "binding motifs" già identificati nella sequenza del promotore verrà studiata mediante la tecnica "electrophoretic mobility binding assay" (EMSA). Il ruolo della metilazione del DNA nella regolazione di B4GALNT2 verrà studiato mediante la tecnica di "methylation specific PCR" sui siti specifici in presenza o assenza dell'agente de-metilante 5'azacitidina. Il ruolo di miR-204-5p verrà studiato sia mediante trasfezione del "miRNA mimic" nelle cellule Gp2d sia misurando mediante qRT-PCR il livello di espressione endogena di miR-204-5p in linee a diversa espressione di B4GALNT2. **(3) Risultati/impatto attesi.** Ci si attende di approfondire la conoscenza dei meccanismi di regolazione di B4GALNT2 allo scopo di ottenerne la riattivazione. Considerando il forte valore prognostico favorevole di questa attività enzimatica nel CRC, ciò può delineare originali approcci terapeutici a medio-lungo termine. **(4) Attività formativa** L'attività formativa dell'assegnista consisterà nell'approfondimento delle tematiche generali del progetto, nel caso specifico della glicobiologia del cancro e dei meccanismi di controllo dell'espressione genica. Verrà inoltre appreso l'approccio critico alla progettazione degli esperimenti, alla valutazione dei risultati e alla stesura di articoli scientifici. Ciò verrà perseguito mediante contatti diretti e quotidiani col tutor e gli altri membri del gruppo di ricerca e con la partecipazione a congressi scientifici. **(5) Attività di ricerca.** Durante il periodo di ricerca, l'assegnista acquisirà e perfezionerà abilità e competenze metodologiche di ampio valore nella ricerca biomedica, completando il percorso già avviato durante il dottorato. In particolare, verranno messe a punto ed utilizzate tecniche di trasfezione genica, di RT-PCR quantitativa, di EMSA e di knock-down genico.

DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ DELL'ASSEGNIISTA

*(per i **nuovi** assegni: max 400 parole; competenze richieste, scansione temporale della formazione, scansione temporale dell'attività, obiettivi primari e secondari)*

*(per i **rinnovi**: max 600 parole – da integrare con la relazione dell'assegnista; formazione raggiunta, attività effettuata, obiettivi raggiunti/competenze acquisite, formazione ancora da acquisire (se pertinente), scansione temporale dell'attività durante il rinnovo)*

Punti



DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

(per i **nuovi** assegni: max 400 parole; competenze richieste, scansione temporale della formazione, scansione temporale dell'attività, obiettivi primari e secondari)

Competenze richieste. E' richiesto che il/la candidato/a possieda competenze di base nell'ambito della biologia cellulare e molecolare ed in particolare nell'ambito della glicobiologia. E' fortemente favorita la competenza pregressa nello studio delle glicosiltrasferasi nel cancro. **Scansione temporale della formazione.** La formazione verrà modellata sulla base delle competenze pregresse dell'assegnista ed inizierà con colloqui ed incontri tesi ad approfondire le tematiche della ricerca mediante "journal club" nel corso dei quali articoli scientifici verranno discussi criticamente alla presenza degli altri membri del gruppo di ricerca. Ciò consentirà di familiarizzarsi con la letteratura specifica dell'ambito di ricerca. I dati che verranno prodotti dall'attività di ricerca verranno analizzati e valutati criticamente in colloqui col tutor e presentati in incontri collettivi agli altri membri del gruppo. Ciò consentirà di potenziare le capacità comunicative e di difendere i propri risultati in contraddittorio. Lo sviluppo di queste abilità è cruciale per ogni sviluppo futuro della carriera dell'assegnista. **Scansione temporale dell'attività.** Nelle prime fasi dell'attività di ricerca l'attenzione sarà focalizzata sugli esperimenti di riattivazione di B4GALNT2 nelle linee in cui è bloccata. Successivamente, verrà messa a punto la tecnica EMSA e ci si focalizzerà sulla messa a punto della "methylation specific PCR". In ultimo, verranno saggiati gli effetti della trasfezione con miR-204-5p sulle Gp2d, misurandone i livelli di espressione. **Obiettivi primari e secondari.** L'obiettivo primario del progetto di ricerca è comprendere dettagliatamente il ruolo di FOXD1 nella mancata o ridotta espressione di B4GALNT2 nel CRC. Obiettivi secondari, ma pur sempre di notevole rilevanza, sono la comprensione del ruolo di altri meccanismi di regolazione già identificati, come la metilazione del DNA e i miRNA.

SE RINNOVO, SI RICORDA DI ALLEGARE ANCHE LA RELAZIONE DELL'ASSEGNIATA CON LA SUA PRODUZIONE SCIENTIFICA.

Scheda attività assistenziale (se prevista)

ATTIVITÀ ASSISTENZIALI DELL'ASSEGNIATA/ N. ORE SETTIMANA (max 18 ore settimanali)
AZIENDA SANITARIA PRESSO CUI SI SVOLGERÀ L'ATTIVITÀ

Si ricorda che, come previsto dagli Accordi sull'impiego nell'attività assistenziale dei Titolari di assegni di ricerca, sottoscritti tra l'Università di Bologna e le Aziende Ospedaliere di riferimento, una volta stipulato il contratto con il vincitore della selezione, il tutor deve consegnare alla Direzione Medica Ospedaliera la relativa modulistica, nella quale andranno riportate le attività qui segnalate.