



Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca
Direzione Generale per il Coordinamento, la Promozione e la Valorizzazione della
Ricerca
Uff. V.

Rendiconto di spesa Fondi 5 per mille ANNO 2016
Enti della Ricerca Scientifica

Ente¹: OSPEDALE SAN RAFFAELE S.r.l.

Codice fiscale: 07636600962

Indirizzo sede legale: Via Olgettina, 60 – 20132 Milano

Referenti (nominativo, telefono, e.mail) Dr. Luca Guidotti

Attività: Medicina molecolare per studi patogenetici di malattie multifattoriali ad alta complessità.

Molte delle malattie di cui oggi soffre la specie umana possono essere inquadrare come patologie multifattoriali ad alta complessità e di diversa eziologia. Sebbene queste patologie prevedano il coinvolgimento di processi sistemici basati sulle specifiche attività di svariati componenti cellulari, i processi molecolari coinvolti spesso coinvolgono vie molecolari per lo più comuni. L'identificazione di queste vie comuni è potenzialmente di grande utilità se si pensa alla generazione di nuovi approcci terapeutici molecolari che possano impattare positivamente e simultaneamente malattie apparentemente diverse. La difficoltà nell'identificare tali vie molecolari risiede principalmente nella grande diversità con cui patologie multifattoriali ad alta complessità si presentano inizialmente. Per aggredire quindi il problema è fondamentale adottare un approccio multidisciplinare basato sull'accoppiamento dei migliori modelli sperimentali ad oggi disponibili con diverse e avanzate piattaforme tecnologiche.

Le sperimentazioni in questione si sono quindi avvalse di tecnologie definibili come 'high-data content' (-omiche) abbinare ad analisi cellulari e molecolari eseguite su campioni biologici (siero e tessuti patologici), ottenuti prima, durante o dopo l'insorgenza di patologie multifattoriali ad alta complessità in modelli animali, o su popolazioni cellulari rappresentative. Svariate attività sono state e continuano ad essere coinvolte e queste hanno incluso l'utilizzo di modelli sperimentali per una prima fase di messa a punto delle complesse piattaforme tecnologiche (dalla genomica alla trascrittomica, dalla proteomica alla metabolomica e dalla radiomica al sorting e analisi di popolazioni cellulari) a cui hanno fatto seguito le fasi di acquisizione, analisi e correlazione dei dati.

Generazione, messa a punto e utilizzo di modelli sperimentali e tecnologie.

I modelli sperimentali cellulari (modelli in vitro con cellule proliferanti o staminali) e pre-clinici (soprattutto topi da laboratorio geneticamente modificati) coinvolti sono stati diverse dozzine e hanno riguardato aree di interesse come le malattie genetiche, le malattie metaboliche, le malattie

¹ Istituzione beneficiaria del contributo del 5 per mille.

infettive, l'oncologia, l'immunologia e le neuroscienze. Le piattaforme tecnologiche coinvolte sono state anch'esse molteplici e hanno riguardato le suddette -omiche (genomica, trascrittomica, proteomica, metabolomica e radiomica) associate alla capacità di separare e analizzare popolazioni cellulari diverse tra loro (sorting e analisi di popolazioni). Un esempio di processi molecolari comuni che possono, in vario modo, influenzare la patogenesi o l'evoluzione di una patologia, è il funzionamento della risposta immunitaria adattativa in patologie speculari per quanto riguarda questa funzione quali le malattie infettive e il cancro.

Usando principalmente il linfonodo e il fegato infettati da virus o invasi da cellule tumorali come modelli di organi/tessuti in cui cellule infiammatorie si sviluppano e espletano funzioni effettrici, abbiamo sviluppato piattaforme di imaging avanzato che includono la microscopia intravitale (valutante in tempo reale e ad altissima risoluzione il comportamento di singole cellule all'interno di organi e tessuti) in abbinamento a tecniche di single cell sequencing definite "NICHE-seq". NICHE-seq è un nuovo metodo che, combinando reporter fluorescenti fotoattivabili alla microscopia intravitale permette di i) "marcare" in vivo una cellula di interesse, ii) seguirla mentre espleta le sue funzioni e iii) isolarla dall'organo di interesse e iv) analizzarla attraverso tecniche di sequenziamento in modo da comprendere quali geni sono associati ad una determinata funzione biologica controllata nello spazio e nel tempo. Un ulteriore progresso tecnologico che abbiamo apportato si riferisce all'installazione del cosiddetto "resonant scanning" su microscopi a multifotoni. Il resonant scanning permette di scannerizzare sull'asse delle z a grande velocità (fino a 50 frames/secondo), rendendo per la prima volta al modo possibile la registrazione in 3D e ad alta risoluzione di eventi biologici che avvengono in maniera molto rapida (come l'adesione leucocitaria alla parete vascolare). Grazie a questi miglioramenti stiamo attivamente studiando come le risposte immunitarie adattative si sviluppino e riescano - o meno - a eliminare cellule infettate da virus o cellule tumorali.

L'utilizzo di queste piattaforme si integra poi con competenze presenti presso il nostro Centro di Imaging Sperimentale dove sono state eseguite ulteriori sperimentazioni con tecnologie a diversi livelli di risoluzione e sorgenti di energia sia in ambito pre-clinico (ecografia, MR, CT, Optical imaging, PET e SPECT) che cellulare (microscopia a fluorescenza a scansione laser con varie applicazioni: FRET, PALM, FLIM, FRAP, e microscopia elettronica TEM, EM-tomography, cryo-tomography). L'integrazione con il nostro Centro di Genomica Proteomica e metabolomica si sono anche avvalse di tecniche di spettrometria di massa e di spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR).

L'integrazione di tutte queste piattaforme e modelli sperimentali rappresentano un impegno economico gravoso ma indispensabile per un ente di ricerca. Questa campagna, come le precedenti campagne del 5x1000, rappresenta un importante strumento non solo per mantenere eccellenza scientifica e competitività ma anche per affrontare la continua necessità di sviluppare/adattare tecnologie al continuo e rapido evolversi della ricerca scientifica in ambito biomedico.

