



Predstavitev programske skupine: P1-0390 Funkcijska genomika in biotehnologija za zdravje

prof. dr. Damjana Rozman,
Inštitut za biokemijo, UL MF

Konferenca *Predstavitev raziskovalnih skupin MF, UKC in OI*
Ljubljana, 27. 9. 2018

Sestava raziskovalne skupine

Vodja: **Prof. dr. Damjana Rozman**

CFGBC

Raziskovalci:

Doc. dr. Juvan Peter
Doc. dr. Režen Tadeja

Mladi raziskovalci:

Blagotinšek Cokan Kaja
Kovač Urša
Razpotnik Rok

Doktorski študenti:

Skubic Cene
(Cvitanović Tanja)

Tehniki:

Klavžar Helena (MRIC)
Nejc Nadižar (Elixir)
Novi tehnik

MCMB

Raziskovalci:

Prof. dr. Debeljak Nataša
Prof. dr. Hudler Petra
Asist. Dr. Jovchevska Ivana
Prof. dr. Komel Radovan
Liović Mirjana
Dr. Rogar Marija
Dr. Šamec Neja
(Dr. Lucija Raspor dal O'lio)
Doc. dr. Videtič Paska Alja
(Dr. Jernej Gašperšič)

Mladi raziskovalci:

Kouter Katarina
Pužar Dominkuš Pia
Zottel Alja
(Kristan Aleša)

Tehnik:

Germ Dubravka

Inštitut za
biokemijo

MRIC UL



Z rdečo barvo so
prikazani sodelavci na
pedagoških mestih

Univerza v Ljubljani
Medicinska fakulteta



Kje nas najdete ?

N. Debeljak P. Hudler R. Komel M. Liović A. Videtič Paska

T. Režen D. Rozman



Raziskovalna področja: Funkcijska genomika in biotehnologija za zdravje

• Sklop A: Raziskave molekulskih in celičnih vidikov:

- Karcinogeneze:
 - glioblastom (R. Komel: *TransGlioma*)
 - gastrični karcinom (P. Hudler)
 - hepatocelularni karcinom (T. Režen, D. Rozman)
- Poškodbe in regeneracija tkiva (M. Liović: *Era CoSysMed 4D Healing, CELSA Alliance*)
- Psihiatrične motnje (A. Videtič Paska: *J3-1732, J3-7320, J3-9293, bilateralna BI-MK/17-18-003*)
- Progresivne nealkoholne bolezni jeter (D. Rozman: *J1-9176*)
- Eritrocitoze (N. Debeljak: *L3-9297*)

MRIC-CFGBC
ELIXIR

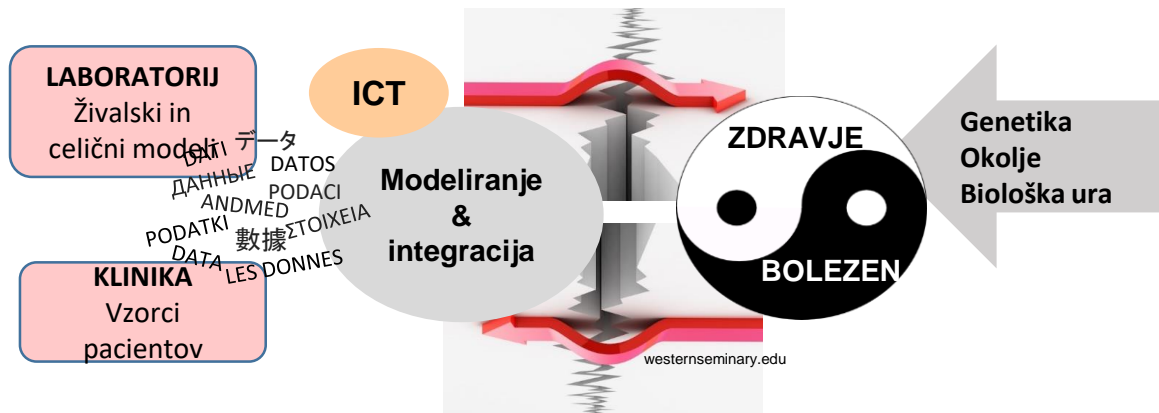
• Sklop B **Sistemiški pristopi** za opredelitev:

- Prekrivajočih bolezenskih mehanizmov,
- Iskanje biooznačevalcev in tarč,
- Načrtovanje novih zdravil in dostavnih sistemov.



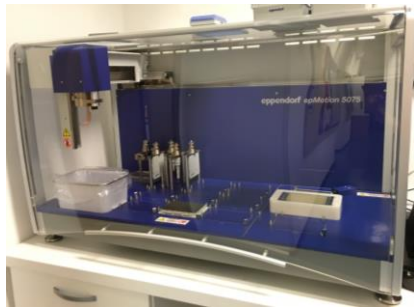
Problem: kronične večfaktorske bolezni, ki se s staranjem prepletajo

- Tehnološka revolucija pogenomske dobe je prinesla eksponentno rast raznovrstnih podatkov
- Učinek na medicino je zaenkrat preslab, translacija je počasna, premalo je interdisciplinarno izobraženih strokovnjakov
- Pozornost moramo preusmeriti iz razumevanja posameznih delov na razumevanje celote: pristopi sistemske medicine v naši raziskovalni skupini



Raziskovalna oprema MCMB, Vrazov trg 2 (stara stavba IBK)

- Standardna laboratorijska oprema: naprave za PCR, sistem za elektroforezo in 2D elektroforezo, sistem za prenos western, robot za izolacijo RNA/DNA, (hlajene) centrifuge, hladilniki in skrinje za globoko zamrzovanje (-80 °C), oprema za celični laboratorij.
- Večja oprema:



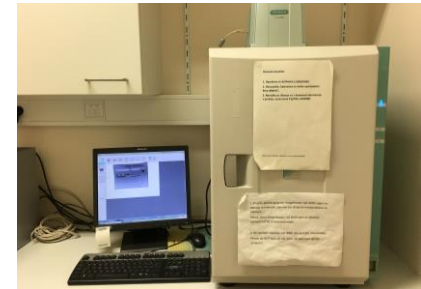
robot za pipetiranje
epMotion 5075
(Eppendorf)



optični čitalec
Synergy H4
(BioTek)



sistem za qPCR
ViiA7
(Applied Biosystems)



sistem za zajem slik
LAS 4000
(FujiFilm)



Raziskovalna oprema CFGBC, Zaloška 4 (oddaljena enota IBK)

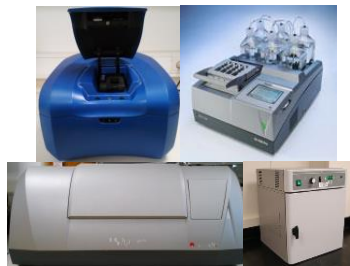
- Standardna laboratorijska oprema: naprave za PCR, Nanodrop ND-1000 in ND-3300, sistem za elektroforezo in sistem za prenos western, sistem za vizualizacijo gelov, oprema za izolacijo RNA/DNA (FujiFilm), (hlajene, vakumske) centrifuge, hladilniki in skrinje za globoko zamrzovanje (-80 °C), oprema za celični laboratorij, Epoch (Biotek) in Genios (Tecan) spektrofotometer.
- Večja oprema: strežnik: HP DL150



NGS sekvenator
MiniSeq
(Illumina)



sistem za analizo
Affymetrix/Clariom
DNA-mikromrež
(TermoFischer)



oprema za analizo
DNA-mikromrež
(Tecan, Molecular
Devices, Agilent)



sistem za qPCR
LightCycler 480
(Roche)



sistem za analizo
vzorcev 2100
Bioanalyzer
(Agilent)

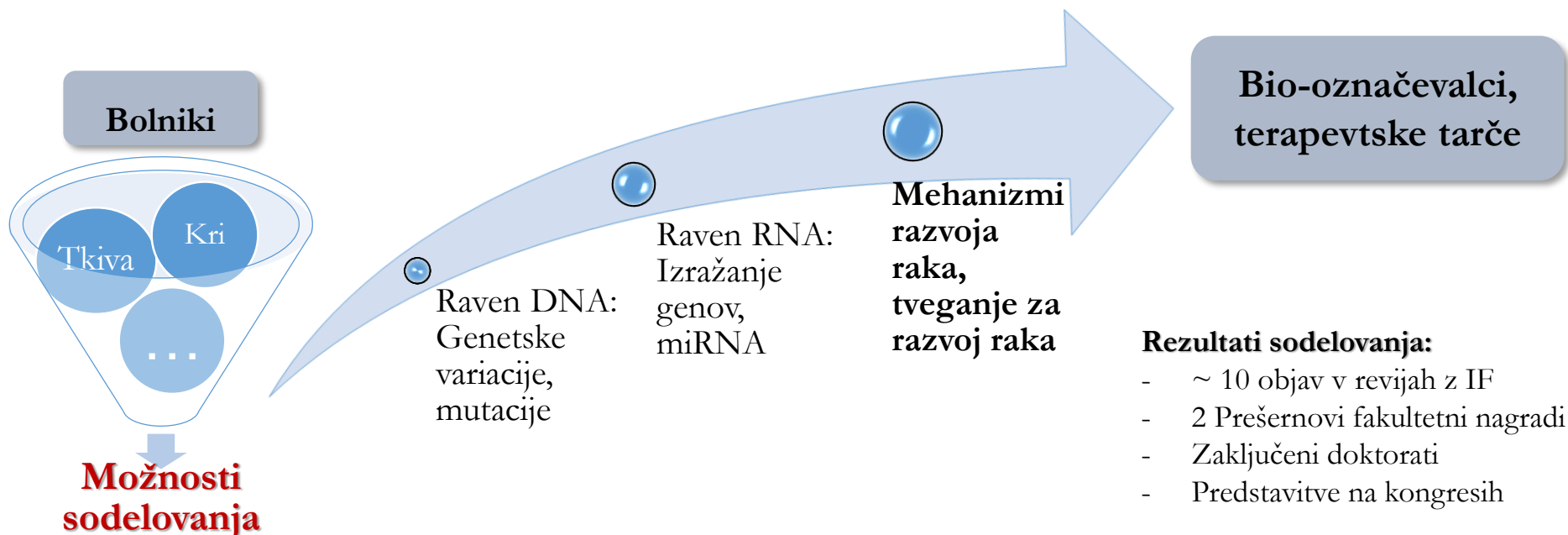


Karcinogeneze: Glioma (R. Komel, I. Jovčevska, N. Zupanec Samec, L. Raspor Dall'Olio, A. Zottel)

- **Fokus dela:** možganski tumorji – glioblastom, matične celice raka, biooznačevalci, ciljano zdravljenje.
- **Bazične raziskave z biokemijskimi in molekularno-biološkimi tehnikami:**
 - A/ Produkcija kamelidnih nano-protiteles in iskanje proteinskih biooznačevalcev tumorskih matičnih celic (inverzna proteomika).
 - B/ Validacija biooznačevalcev (qPCR, prenos western, imunocitokemija, imunohistokemija).
 - C/ Funkcionalne analize:
 - na celičnih kulturah (metabolni testi, testi apoptoze/nekroze, imunocitokemija, migracijski testi, *in vitro* imunofluorescenčna mikroskopija);
 - na živalskih glioblastomskih modelih (riba cebrica – sodelovanje z NIB; mišji model – sodelovanje z ASUIUD).
 - D/ Preučevanje sistemov za dostavo nano-teles: načrtovanje ciljanega zdravljenja (arheosomi, eksosomi).

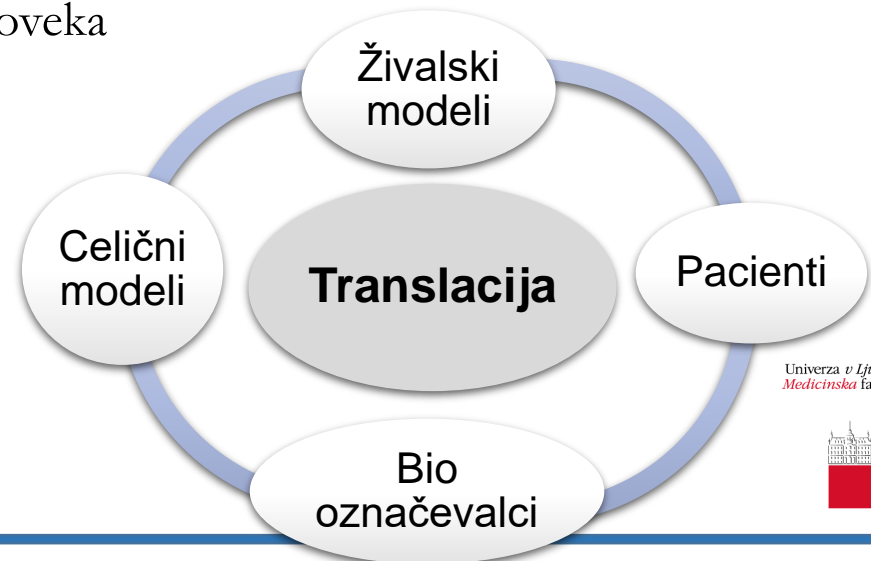
Karcinogeneze: **Gastrični karcinom** (P. Hudler, P. Pužar Dominkus)

- **Fokus dela:** Molekularno ozadje raka želodca, raka jeter in drugih rakov prebavnega trakta v sodelovanju s UKC, Ljubljana, SPS Kirurško kliniko, KO za abdominalno kirurgijo in SPS Interno kliniko, Kliničnim oddelkom za gastroenterologijo ter Onkološkim inštitutom Ljubljana
- **Raziskave z biokemijskimi in molekularno-biološkimi tehnikami:**



Karcinogeneze: Hepatocelularni karcinom-HCC (T. Režen, R. Razpotnik; D. Rozman, K. Blagotinšek Cokan)

- **Fokus dela:** molekularni vzroki razvoja HCC, biooznačevalci v krvi, nekodirajoče RNA, holesterol
- **Sodelovanje:** Inštitut za biokemijo MF, Univerza v Kaliforniji
- **Raziskave z biokemijskimi, molekularno-biološkimi in „omskimi“ pristopi:**
 - A/ Identifikacija biooznačevalcev v krvi (eksosomi) in jetrih
 - B/ Molekularni vzroki razvoja HCC: nekodirajoče RNA in RNA vezavni proteini, s holesterolom povezani geni/proteini
 - C/ Translacija živalskih/celičnih modelov na človeka
- **Dobra praksa:** 2 mlada raziskovalca, PKP projekt
- **Iskanje sodelovanja: vzorci pacientov!**



Poškodbe in regeneracija tkiva (M. Liović, M. Rogar, R. Komel)

Molekularna in regenerativna medicina bolezni vezanih na citoskeletne proteine

Raziskovalne teme:

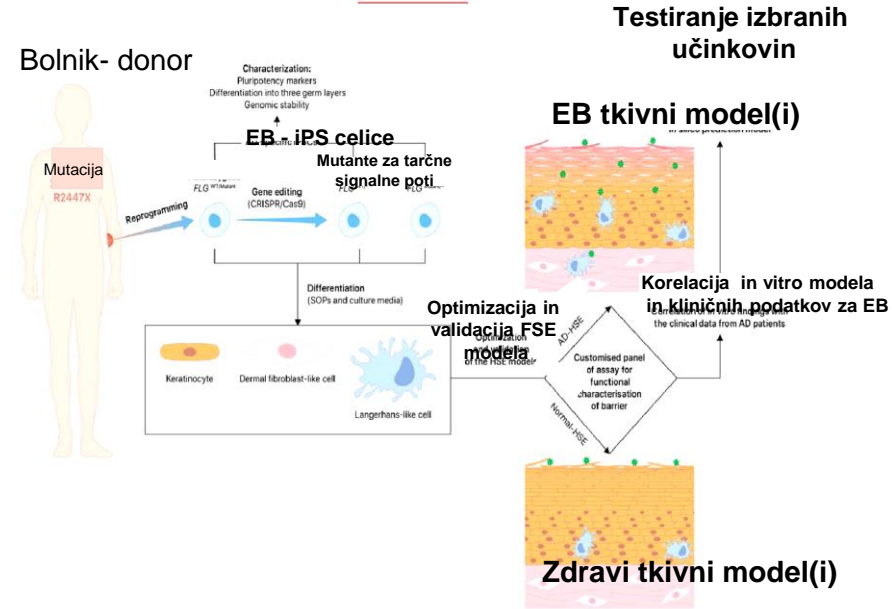
- Epitelijska tkiva
- Citoskelet in nanj vezane bolezni (npr. bulozna epidermoliza)
- Novi terapevtski pristopi in dostavni sistemi
- Mezenhimske in inducirane pluripotentne matične celice

Tehnike:

- Reprogramiranje somatskih v pluripotentne celice (iPSC)
- *In vitro* diferenciacija
- 3D *in vitro* tkivni ekvivalenti kot modelni sistemi za bolezni
- Gene editing in *in vitro* mutageneza
- Celični (2D) modeli za bolezni
- Označevanje tarčnih genov s fluorescenčnimi sondami
- Live cell imaging

Sodelovanja:

- Dermatovenerološka klinika, UKC LJ



Psihiatrične motnje (A. Videtič Paska, K. Kouter)

- **Fokus dela:** Epi)genetika duševnih motenj, predvsem samomorilno vedenje (samomor) in depresivna motnja
- **Raziskave z biokemijskimi in molekularno-biološkimi tehnikami:**

A/ Proučevanje prisotnosti SNP-jev pri samomorilnem vedenju

B/ Epigenomske in epigenetske raziskave, predvsem metilacije DNA in mi RNA pri samomorilnem vedenju

C/ Vloga SNP-jev pri depresivni motnji

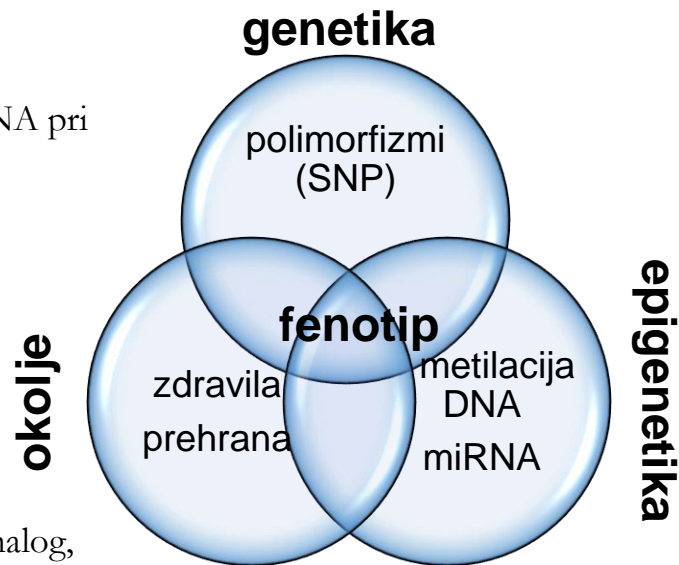
Vse v sodelovanju z **Inštitutom za sodno medicino** in

Katedro za psihiatrijo, oba UL MF in

Univerzitetno psihiatrično kliniko Ljubljana.

- Dobra praksa: trije projekti ARRS, projekt PKP, 6 diplomskih/magistrskih nalog, Prešernovo priznanje MF, doktorska naloga, mlada raziskovalka MF.

- Želimo si razširitve sodelovanja z UKC LJ, kar bi nam omogočilo študij psihopatologij tudi na drugih kohortah bolnikov, s čimer bi želeli doprinesti k boljšemu razumevanju kompleksnih bolezni in sodelovati pri razvoju novih pristopov pri njihovem zdravljenju in odkrivanju.

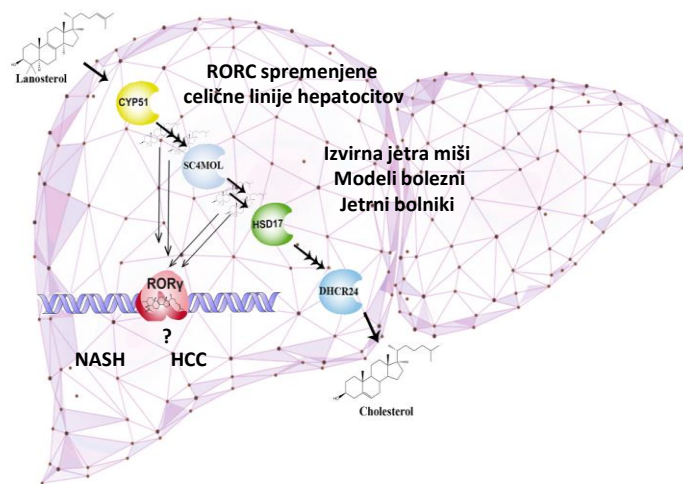


Progressivne nealkoholne bolezni jeter (D. Rozman, K. Blagotinšek Cokan, U. Kovač, C. Skubic, T. Režen)

- **Fokus dela:** molekularni vzroki razvoja HCC, biooznačevalci, razlike med spoloma
- **Raziskave s pristopi sistemske medicine**

- Določiti omrežje in regulatorna vozlišča (transkripcijske faktorje in njihove tarče) v hepatocitih z aktivirano ali zmanjšano signalizacijo ROR. Pripravili bomo hepatocite, kjer bomo s pomočjo tehnologije CRISPR izbili izbrane gene sinteze Holesterola. To bo privedlo do različnih linij hepatocitov z aktivirano ali zmanjšano signalizacijo RORC zaradi prisotnosti ali odsotnosti sterolnih aktivatorjev.

- Ugotoviti, katera regulatorna vozlišča *HolesteROR* odražajo modelu miši in predlagati značilne vzorce.
- Vzpostaviti mehanistični model omrežja *HolesteROR* in modelom *SteatoNet*.
- Validirati vzorce NAFLD pri bolnikih in predlagati tarče NAFLD na podlagi eksperimentalnih podatkov in moč



Ad1) Ad2) Hepatocite bomo opredelili biokemijsko in z globalnim izražanjem genov (mikromreže ali sekvenciranje RNA), vključili bomo tudi analizo sterolov. Razvozlali bomo značilne vzorce transkripcijskih faktorjev in njihovih tarč v hepatocitih z modulirano signalizacijo RORC in jih prezrcalili v razpoložljive zbirke podatkov iz mišjih jeter z zmanjšano signalizacijo RORC in različnimi stopnjami NAFLD.

Ad3) Značilne vzorce transkripcijskih faktorjev in njihovih tarč bomo skupaj z literaturnimi podatki in podatki o zdravih posameznikih uporabili za rekonstrukcijo univerzalnega modela mreže HolesteROR, ki temelji na objektno orientiranem modeliranju⁷. Model bo povezan s SteatoNet -om in prilagojen s podatki bolnikov, da bo omogočal nadaljnje poskuse in silico.

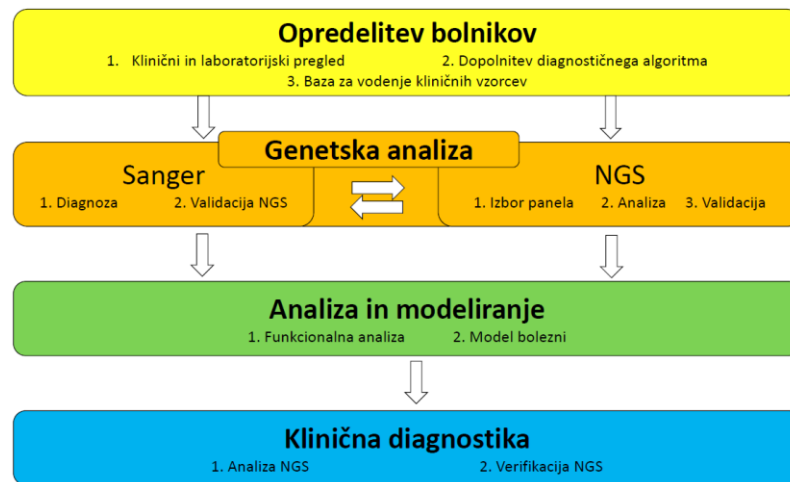
Ad4) V vzorcih jeter bomo določili sterole in globalne profile izražanja genov (z mikromrežami ali sekvenciranjem RNA) pri bolnikih s klinično določenimi stopnjami NAFLD in pri kontrolah.

Človeški nabori podatkov bodo vzporejeni s podatkovnimi zbirkami iz zgoraj opisanih hepatocitov in mišjih jeter. Predlagali bomo s HolesteROR povezane transkripcijske faktorje in / ali entitete iz metaboličnih poti kot možne tarče za modulacijo različnih stopenj NAFLD. Predlagane tarče bodo validirane s personaliziranim SteatoNet -om, ki se bo uporabljal za določitev širšega obsega NAFLD tarč za vsako fazo fibroze.



Genetsko ozadje eritrocitoz (N. Debeljak, A. Kristan, P. Hudler, T. Režen)

- **Fokus dela:** genetski vzroki družinskih eritrocitoz, klinična diagnostika
- **Sodelovanje:** Klinični oddelek za hematologijo UKCLj, Biotehniška fakulteta UL, Fakulteta za računalništvo in informatiko UL, Kemomed d.o.o.
- **Raziskave z biokemijskimi in molekularno-biološkimi tehnikami:**
 - A/ Genetska diagnostika (NGS, Sanger)
 - B/ Funkcionalna analiza
 - C/ Modeliranje bolezni
- **Dobra praksa:** projekt ARRS, projekt ŠIPK in PKP, 4 magistrske naloge, Prešernovo priznanje MF, mlada raziskovalka.



Tekoča sodelovanja

Medicinska fakulteta:

- Inštitut za patologijo (imunohistokemija),
- Inštitut za biofiziko (gostovanje celičnega laboratorija MCMB).
- Inštitut za biostatistiko in medicinsko informatiko – baze podatkov in Elixir
- Medicinski eksperimentalni center (živalski poskusi)

Onkološki inštitut (sodelovanje pri funkcionalni analizi *in vitro*)

UKC

Nevrokirurški oddelek (pridobivanje tumorskih vzorcev bolnikov),

Želje po tesnejšem sodelovanju

Medicinska fakulteta

- **Znotraj Inštituta za biokemijo** (pridobitev eksosomov iz krvi, metabolomika steroidov, vzpostavljanje skupne biobanke vzorcev pacientov in referenčnih vzorcev)
- **Katedra za družinsko medicino** (pridobitev referenčnih vzorcev krvi zdravih oseb za primerjave genetskega ozadja; sistemska medicina z vidika družinske medicine: izobraževanje zdravnikov)
- **Inštitutom za patologijo** (pridobivanje več vzorcev možganovine iz avtopsi)
- **Inštitutom za biologijo celice** (elektronska mikroskopija)
- **Inštitutom za patofiziologijo** (sodelovanje pri genski karakterizaciji vzorcev).
- **Inštitutom za mikrobiologijo in imunologijo** (preiskave mikrobioma pacientov)
- **Inštitutom za biostatistiko in medicinsko informatiko** (poglobiti sodelovanje pri bioinformatkih analizah in integraciji podatkov)

Onkološki inštitut (krvni vzorci bolnikov).

UKC:

- Pediatrična klinika – nealkoholne bolezni jeter
- Gastroenterološka klinika – nealkoholne bolezni jeter
- Klinike za pridobivanje vzorcev različnih vrst rakov in s Katedro za družinsko medicino UL MF za pridobivanje vzorcev zdravih oseb za primerjave genetskega ozadja.
-