

***RADIOSTEM***

***e***

***eBON***

Andrea Ottolenghi

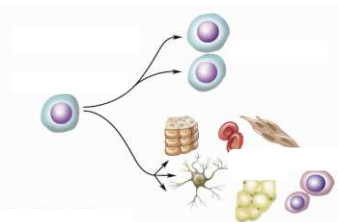
Preventivi 2013

**Consiglio di Sezione**

**Pavia, 11 luglio 2012**



# RADIOSTEM



**Meccanismi di risposta **RADIO**biologica a fotoni e a particelle cariche di cellule **STaM**inali tumorali e derivanti da tessuto sano**

**Responsabile Nazionale: M.A. Tabocchini**

**(Istituto Superiore di Sanità, INFN-Roma1, Gruppo coll. Sanità)**

**Durata del progetto: 3 anni (2012 – 2014)**

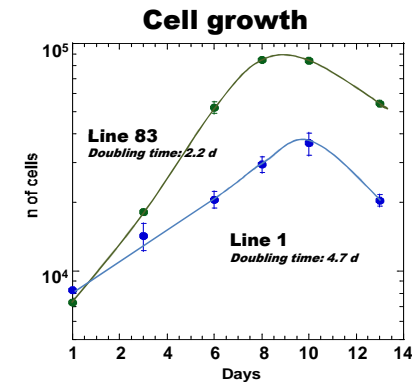
<b>Pavia</b> <i>(resp: Andrea Ottolenghi)</i>			<b>Roma 1 – Gruppo Collegato Sanità</b> <i>(resp: Antonella Tabocchini)</i>		
Daniele Alloni	Coll., UniPv	30%	Maria Balduzzi	Ric. ENEA	40%
Andrea Casasco	Prof. Ordinario, UniPv	100%	Mauro Belli	Associato senior INFN	
Marco Casasco	Ricercatore, UniPv	100%	Alessandro Campa	1 Ric. ISS	10%
Alberto Calligaro	Prof. Contratto, UniPv	100%	Cinzia De Angelis	1 Ric. ISS	30%
Loredana D'Ercole	Fisico Med, Osp S.Matteo	100%	Valentina Dini	Ric. t.d. ISS	70%
Donata Cappelletti	Assegnista UniPv	60%	Giuseppe Esposito	Ric. t.d. ISS	50%
Antonia Icaro Cornaglia	Ricercatore, UniPv	100%	Emilinao Fratini	Borsista	30%
Claudia Cutaia	Specializzando, UniMi	100%	Sveva Grande	Ric. t.d. ISS	70%
Francesco Lisciando	Fisico Med, Osp S.Matteo	100%	Laura Guidoni	Dir. Ric. ISS	70%
Luca Mariotti	Assegnista, UniPv	60%	Pelacchi Federica	Dottoranda	50%
Gabriele Babini	Dottorando, UniPv	50%	Antonella Rosi	1 Ric. ISS	70%
Jacopo Morini	Dottorando, UniPv	30%	<u>M. Antonella Tabocchini</u>	1 Ric. ISS	40%
Marco Liotta	Fisico Med, Osp Maugeri	100%	Vincenza Viti	Associato senior INFN	
Paola Tabarelli	Fisico Med, Osp Maugeri	100%	<b><u>Altri collaboratori:</u></b>		
<u>Andrea Ottolenghi</u>	Prof. Associato, UniPv	60%	Ruggero Marchiano De Maria	Dir. Ric. ISS	
Federica Riva	Ricercatore, UniPv	100%	Alessandra Palma	CoCoCo ISS	
Domenico Scannicchio	Prof. Contratto, UniPv	100%	Roberto Pallini	Prof. UniCatt Roma	
			Ilaria Pecchi	Laureanda	
			Lucia Ricci Vitiani	Ric. TD ISS	
			Mauro Biffoni	Dir Ric. ISS	

Pablo Cirrone, Giacomo Cuttone e Francesco Romano dei LNS di Catania hanno dato la disponibilità a collaborare all'esperimento per quanto riguarda la simulazione delle linee di fascio con il codice Geant4, avvalendosi della interazione con l'esperimento INFN "MC-INFN".

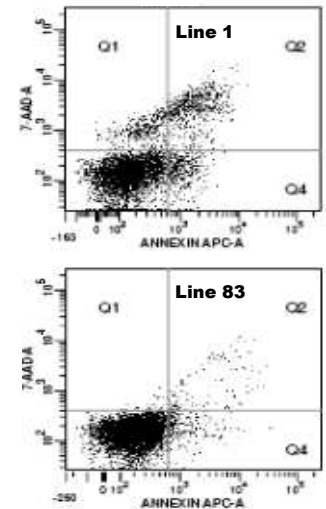
# Primi 6 mesi di attività

Data	Descrizione	Completamento
30-06-2012	ISS Caratterizzazione di due linee di cellule staminali tumorali in relazione alle caratteristiche di crescita e analisi dei pattern spettrali NMR,	100%
31-12-2012	ISS Studio di effetti a livello molecolare e cellulare dell'irradiazione gamma in una linea di cellule staminali.	
31-12-2012	ISS Sviluppo di un modello di interazione radiazione-sistema biologico che tenga conto della diversa radiosensibilità cellulare e della diversa qualità della radiazione.	
31-12-2012	PV Studi preliminari per la messa a punto del protocollo per la coltura di cellule staminali neuronali	
31-12-2012	PV Simulazioni Monte Carlo del danno al DNA per diverse energie di ioni carbonio	

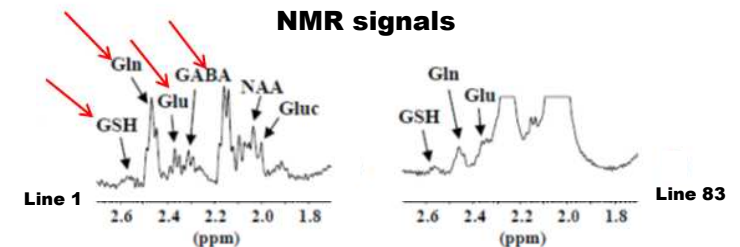
100%



## Apoptosis



## NMR signals



### Obiettivi generali PV:

1. Caratterizzazione della radiosensibilità dei tessuti sani coinvolti nell'irraggiamento del glioblastoma multiforme. I tessuti sani comprendono le cellule staminali neuronali e differenziate (astrociti, glia, neuroni)

### Obiettivi specifici (12 mesi)

1. Studi preliminari per la messa a punto del protocollo per la coltura di cellule staminali neuronali in diverse condizioni sperimentali: piastre, multi-well o fiasche in vitro.
2. Simulazioni Monte Carlo del danno al DNA per diverse energie di ioni carbonio (scenario radioterapeutico)
3. Studi preliminari mediante tecniche di immunostochimica e PCR sul differenziamento di cellule staminali neuronali in vitro. (12/24 mesi)

**ISS & Pv: nessuna criticità**

## **RADIOSTEM - Roma1-Sanità**

### **Attività II anno (2013):**

- **Completamento delle misure con raggi gamma**
- **Esperimenti con fasci di particelle cariche presso i LNS**
  - ✓ **richiesti 2 turni con protoni e 2 turni con ioni carbonio ( $E < 60 \text{ MeV/u}$ )**
- **Sviluppo di un modello di interazione radiazione-sistema biologico, in particolare riguardo al ruolo della diversa radiosensibilità cellulare sulla base dei dati raccolti**
- **Set up sperimentale per l'irradiazione di cellule staminali tumorali con fasci di protoni e ioni carbonio presso facility di Adroterapia (CNAO e/o GSI/HIT; energia  $> 60 \text{ MeV/u}$ ) ed esperimenti test preliminari**

## **RADIOSTEM - Pavia**

### **Attività II anno (2013):**

- **Studi sul rilascio di molecole pro-infiammatorie da parte di cellule staminali in funzione della dose**
- **Simulazioni Monte Carlo del danno al DNA: studio preliminare sulla dipendenza della formazione di radicali e time-course in funzione della qualità della radiazione**

# **RADIOSTEM - Roma1-Sanità**

## **Attività Il anno (2013):**

### **PREVENTIVO LOCALE DI SPESA (In K€)**

#### **CONSUMO**

1. Prodotti per il mantenimento delle colture di cellule staminali tumorali (tereni di coltura e fattori di crescita: bFGF, EGF, Apotransferrina, Insulina, Progesterone, Putrescina, etc...)	<b>8.50</b>
2. Plastiche con coating speciali per colture cellulari staminali tumorali	<b>4.00</b>
3. Anticorpi policlonali e monoclonali per analisi del danno al DNA in citometria a flusso e/o immunofluorescenza	<b>6.00</b>
4. Kit per apoptosi, MTT test, etc...	<b>5.00</b>
5. Vetreria speciale NMR (tubi portacampioni calibrati per microprobe)	<b>4.00</b>
6. Solventi deuterati e sostanze standard per NMR	<b>4.50</b>
7. Rivelatori Gaf cromici e CR39	<b>3.00</b>
<b><u>TOTALE CONSUMO</u></b>	<b>35.0</b>

#### **MISSIONI INTERNO**

4 missioni per 3 persone ai LNS per turni di irradiazione (24h ciascuno) con fasci di protoni e ioni carbonio	<b>10.00</b>
<b><u>TOTALE MISSIONI INTERNO</u></b>	<b>10.00</b>

#### **MISSIONI ESTERO**

1 missione in Germania per 2 persone presso facility di Adroterapia (GSI, Darmstadt o HIT, Hidelberg)	<b>3.00</b>
<b><u>TOTALE MISSIONI ESTERO</u></b>	<b>3.00</b>

**TOTALE Gr.coll.Sanità** **48.00**

# **RADIOSTEM - Pavia**

## **Attività Il anno (2013):**

## **PREVENTIVO LOCALE DI SPESA (In K€)**

### **CONSUMO**

- |                                                                                                                                                                               |             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1. NHPC Lonza contenente: vial of NHPC 1 × 10 <sup>6</sup> viable cells/mL in freezing medium) ; Medium; Neural Supplement; FGF and EGF                                       | <b>5.00</b> |
| 2. Plastiche per colture cellulari staminali neuronali e terreni di coltura per il mantenimento delle cellule neuronali staminali (fiasche, petri, pipette monouso, provette) | <b>8.00</b> |
| 3. Plastiche e terreni di coltura per il mantenimento di linee cellulari non neuronali di riferimento.                                                                        | <b>4.00</b> |
| 4. Buffer per corsa di gel e trasferimento delle proteine; Buffer per reazioni di amplificazione.                                                                             | <b>2.00</b> |
| 5. Anticorpi per reazioni immunocitochimiche ed immunoistochimiche                                                                                                            | <b>7.00</b> |
| 6. KIT ELISA, KIT enzimatici, KIT di immuno rivelazione citochimica, Kit di estrazione DNA e RNA                                                                              | <b>8.00</b> |

### **TOTALE CONSUMO**

**34.00**

### **MISSIONI INTERNO**

- |                                                                                                               |             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 4 missioni per 1 persona ai LNS per turni di irradiazione (24h ciascuno) con fasci di protoni e ioni carbonio | <b>3.00</b> |
| Attività comuni di laboratorio presso l'ISS                                                                   | <b>2.50</b> |

### **TOTALE MISSIONI INTERNO**

**5.50**

### **MISSIONI ESTERO**

- |                                                                                                       |             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1 missione in Germania per 1 persona presso facility di Adroterapia (GSI, Darmstadt o HIT, Hidelberg) | <b>1.00</b> |
| Settimane uomo al GSF di Monaco (tot. 2 settimane) per sviluppo codice PARTRAC                        | <b>2.00</b> |

### **TOTALE MISSIONI ESTERO**

**3.00**

### **INVENTARIO**

- |                                                                                                                    |             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Termociclatore (PCR): Termalcycler a 48 posti Quanta Biotech SI 48 (con transilluminatore e cella elettroforetica) | <b>5.50</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|

### **TOTALE INVENTARIO**

**5.50**

### **MANUTENZIONE**

- |                                                                                                                            |             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Verifiche particellari sulla cappa a flusso laminare della sezione INFN e manutenzione apparecchiature varie (sempre INFN) | <b>1.50</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|

### **TOTALE MANUTENZIONE**

**1.50**

**TOTALE Pavia**

**49.50**

# eBON

- originariamente un progetto biennale (solo sezione di Trieste) – Responsabile nazionale Edoardo Milotti
- ora richiesta di estensione di un anno, con allargamento del gruppo a Pavia (gruppo di A. Ottolenghi)
- scopo dell'estensione: collaborare su una migliore implementazione del modello di TNF già sviluppato in eBON, per includere anche il circuito dell'NF-kB (legato al TNF e già oggetto di studio sperimentale e teorico del gruppo di Pavia)
- l'estensione serve anche ad andare incontro alle richieste di aggregazione che vengono dalla CSN5: l'anno prossimo vorremmo fare una richiesta nuova con maggiore integrazione tra i gruppi

## Obiettivi originari di eBON:

- Approfondire lo studio delle dinamiche del microambiente tumorale anche in relazione agli effetti della terapia con chemioterapici (da confrontare con gli effetti della terapia con radiazioni e di terapie combinate radiazioni/chemioterapici).
- In particolare, legato alla richiesta di estensione, risulta fondamentale poter effettuare una estesa campagna di simulazioni con popolazioni di cellule disperse e con sferoidi tumorali soggetti a trattamento con radiazioni o con chemioterapici mediante trattamento combinato.
- Questo permetterebbe un importante passo in avanti nel comprendere l'insorgenza dei fenomeni di resistenza ai trattamenti di micromasse tumorali.



## Razionale e obiettivi specifici del gruppo di Pavia

- Gli studi effettuati, da parte del gruppo di Trieste, in merito all'implementazione di un modello del TNF [R. Chignola et al. (2011)] rappresentano una solida e interessante base di partenza per un ampliamento del circuito molecolare finora considerato.
- Considerata la robustezza del modello finora implementato, una naturale estensione del modello è legata alla sua stretta connessione con la risposta infiammatoria, in cui il fattore di trascrizione NF- $\kappa$ B gioca un ruolo fondamentale.
- Il contributo che il gruppo di Pavia potrà dare in questa estensione sarà pertanto legato all'integrazione delle sue conoscenze finora acquisite, teoriche e sperimentali, con quanto sviluppato da Trieste per l'implementazione e futuro sviluppo di un modello integrato di questi due circuiti molecolari fortemente coinvolti nelle varie forme di terapia adottata.

# Grants ottenuti presso centri HPC

2010

- ISCRA Grant type C (CINECA)
- CASPUR Standard Grant 2010

2011

- CASPUR Standard Grant 2011
- CASPUR GPU Grant 2010

2012

- CASPUR Standard Grant 2012

parteciperemo ai calls per altri grants nel 2013

## eBON: pubblicazioni con referee 2010 – inizio 2012

- R. Chignola and E. Milotti: "Bridging the gap between the micro- and the macro-world of tumors", *AIP Advances* 2 (2012) 011204
- R. Chignola, V. Vyshemirsky, M. Farina, A. Del Fabbro, E. Milotti: "Modular model of TNF alpha cytotoxicity", *Bioinformatics* 27 (2011), 1754-1757
- R. Chignola, A. Del Fabbro, M. Farina, E. Milotti. Computational challenges of tumor spheroid modeling. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, in press
- E. Milotti and R. Chignola. Emergent properties of tumor microenvironment in a real-life model of multicell tumor spheroids. *PLoS ONE* 5 (2010) e13942
- R. Chignola and E. Milotti. Tumor microenvironment in a real-life model of tumor spheroids. Proceedings of the "4th International Advanced Research Workshop on In Silico Oncology and Cancer Investigation", Athens, Sept. 8-9 2010, pp.32-34
- E. Milotti and R. Chignola. Physical and computational issues in a simulation of multicellular tumor spheroids. Proceedings of the "4th International Advanced Research Workshop on In Silico Oncology and Cancer Investigation", Athens, Sept. 8-9 2010, pp. 35-38.
- R. Chignola, A. Del Fabbro, E. Milotti. Dynamics of intracellular  $Ca^{2+}$  oscillations in the presence of multisite  $Ca^{2+}$ -binding proteins, *Physica A* **389** (2010) 3172

## Articoli in preparazione

- E. Milotti, V. Vyshemirsky, M. Segal, and R. Chignola: "Mathematical model of tumor spheroid growth".

## Preprints

- E. Milotti and R. Chignola: "Bridging the gap between the micro- and the macro-world of tumors" (arXiv:q-bio/1201.2798).
- R. Chignola, A. Del Fabbro, M. Farina, E. Milotti: "Computational challenges of tumor spheroid modeling"
- E. Milotti and R. Chignola: "Emergent Properties of Tumor Microenvironment in a Real-life Model of Multicell Tumor Spheroids"

## Ricercatori partecipanti all'esperimento

### TRIESTE

<b>Roberto Chignola (RU – UniVR))</b>	<b>100%</b>
<b>Federico Dogo (dottorando – UniTS)</b>	<b>100%</b>
<b>Edoardo Milotti (PA – UniTS)</b>	<b>50%</b>
<b>Sabrina Stella (ass. ric. – UniTS)</b>	<b>100%</b>

### PAVIA

<b>Andrea Ottolenghi (PA UniPv)</b>	<b>40%</b>
<b>Luca Mariotti (Ass. ricerca UniPv):</b>	<b>40%</b>
<b>Donata Cappelletti (Ass. ricerca UniPv)</b>	<b>40%</b>
<b>Gabriele Babini (dottorando UniPv)</b>	<b>50%</b>
<b>Jacopo Morini (dottorando UniPv)</b>	<b>30%</b>

**Totale sezioni Trieste+Pavia: Numero ricercatori: 9**  
**FTE: 5.5**

## **Milestones con responsabilità della sezione di Pavia:**

- **(6 mesi) definizione dei main player del processo infiammatorio da affiancare al modello TNF già implementato**
- **(12 mesi) misure delle dinamiche temporali dell'NF-kB e delle altre molecole da inserire nel modello su cellule AG01522 in seguito a vari stimoli esterni: cambi del terreno, cambio terreno + irraggiamento, range di concentrazioni TNF-a compatibili con quanto già fatto.**
- **(12 mesi) completamento dello studio di fattibilità di un modello integrato "apoptosi vs infiammazione" a partire dai dati sperimentali raccolti.**

## eBON: richieste finanziarie 2013

### Richieste finanziarie Trieste

MI	8 keuro	missioni a Verona, Pavia, Bologna (CINECA), Roma (CASPUR)
ME	3 keuro	contatti con il collaboratore V. Vyshemirsky (Univ. Strathclyde) e con il gruppo di G. Stamatakos (Atene)
Cons	1 keuro	materiale di consumo per calcolo
SW	1 keuro	licenze software
<b>Totale</b>	<b>13 keuro</b>	

### Richieste finanziarie Pavia

MI	2 keuro	Attività di collaborazione a Trieste e Verona
ME	3 keuro	Attività di collaborazione a Oxford, UK (Oxford University, Prof. P. O'Neill e coll.) e Munich, Germany (Helmholtz Center, Dr. K. Unger e coll.)
<b>Totale</b>	<b>5 keuro</b>	

**NOTA: nella parte pavese sono previste anche alcune misure pilota in laboratorio. Data la situazione economica generale dell'ente, i costi per tali misure saranno mantenuti al minimo e comunque non a carico dell'INFN**