

1. Raziskovalna organizacija:

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

2. Ime in priimek mentorja:

Radovan Komel

3. Področje znanosti iz šifranta ARRS:

3.04 Medicina (onkologija)

4. Kontaktni e-naslov mentorja:

radovan.komel@mf.uni-lj.si

5. Kratek opis programa usposabljanja:

Proteinski biološki označevalci raka so eno od izpostavljenih področij raziskovanja v molekularni onkologiji. Pomembni so v temeljnih raziskavah nastanka in razvoja raka, kot tudi za prognostiko, diagnostiko in seveda tudi za razvoj novih metod zdravljenja. Pri tem je zelo pomembna njihova specifičnost, ki naj bi v čim večji meri omogočila razlikovanje med tumorskimi in zdravimi celicami. Z imunizacijo južnoameriške lame ter izvornima pristopoma RT-PCR in ciklične imunoafinitetne selekcije (združeno s proteomsko analizo) smo razvili učinkovito diferenčno metodo pridobivanja rekombinantnih visokospecifičnih variabilnih domen konvencionalnih protiteles (VHH), sočasno z variabilnimi domenami tako imenovanih težkoverižnih protiteles (VH, oz. nano-protitelesa). Obe vrsti protiteles sta zaradi visoke specifičnosti zanimivi za razvoj diagnostičnih testov (npr. multipleksna ELISA, proteinske mikromreže ...), 15 kDa nano-protitelesa pa, sama po sebi ali kot primerni vektorji zdravil, tudi za razvoj novih načinov zdravljenja.

Predmet našega raziskovanja so matične celice glioblastoma, visoko malignega tumorja možganov. Raziskava ima kratkoročne, srednjeročne in dolgoročne cilje. V prvi fazi bomo z imunizacijo lame s proteinskimi ekstrakti malignih celic / tkiv (gliomske matične celice - GBM, glioblastom - GBM) oz. z opredeljenimi antigeni, ki ji bodo sledili ekstrakcija limfocitne mRNA, izdelava genskih konstruktov, kloniranje in fagni prikaz, pripravili primarne fagne knjižnice rekombinantnih VH oz. VHH. Iz dela primarnih knjižnic bomo z zgoraj omenjeno diferenčno metodo (imunoafinitetna selekcija na zdravo vs. tumorsko tkivo) in proteomsko analizo (diferenčna 2D-PAGE, MS – masna spektroskopska analiza) pridobili pare »proteinski biooznačevalci : specifično protitelo«, pri čemer bomo posebno pozornost namenili površinskim celičnim označevalcem tumorskih matičnih celic. S tem bomo zajeli repertoar nad- in pod-izraženih proteinov v GMC oz. GBM. V samih primarnih knjižnicah pa bomo iskali variante kandidatnih onkoproteinov, specifične za obravnavane oblike malignosti. V tem pogledu predvidevamo tudi izdelavo in preiskavo tkim. »preproste knjižnice« protiteles, iz neimuniziranih poskusnih živali. V drugi fazi bomo genetsko informacijo za izbrana validirana protitelesa uporabili za konstrukcijo produkcijskega kvasnega umetnega kromosoma – namenjenega visokozmogljivostni sočasni produkciji več vrst izbranih protiteles, ki jih bomo uporabili za poskuse izdelave multipleksnega diagnostičnega testa po postopku ELISA oz. po možnost v obliki mikromreže. Tretja, dolgoročna perspektiva pa zajema prenos omenjene multiple genetske informacije iz kvasnega umetnega kromosoma v genom celic poskusnih živali (metoda premostitvene translokacije, ki nam je dostopna preko mednarodnega sodelovanja) – z namenom, da bi te začele proizvajati protitelesa proti lastnim malignim proteinom, označevalcem raka; ta del raziskave zajema tudi poskus izdelave proteomskega testa za hitro določitev specifičnih proteinskih označevalcev, vpletenih v individualno bolezen (v primeru neuspeha se bomo poslužili bolj splošnih protienskih označevalcev). Mladi raziskovalec / raziskovalka (MR) bo udeležen predvsem v prvi in tudi v drugi fazi raziskave, v primeru časovno ugodnega poteka pa potencialno tudi v delu tretje faze. Delo je namreč organizirano timsko in poteka tudi v sodelovanju z več tujimi ustanovami, kar odpira tudi možnosti časovno določenega enkratnega ali večkratnega raziskovalnega bivanja MR-ja pri tujem partnerju. MR bo v š.l. 2012/13 vpisal ustrezen doktorski študij (npr. Biomedicina na UL), seveda pa pričakujemo, da bodo rezultati njegovega dela objavljeni v obliki referatov na mednarodnih konferencah in člankov v dobrih mednarodnih revijah.