

PRIN PNRR 2022

“Developing nanopore-based third generation DNA/RNA sequencing for tissue of origin identification of cancer cells found in liquid biopsies NANOSEQ”

RESPONSABILE: PROF. G. BIFULCO

CUP: E53D23015450001

DIPARTIMENTO DI SANITÀ PUBBLICA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

Introduzione

Il progetto nasce nell'ambito della medicina di precisione con l'obiettivo di sviluppare approcci innovativi basati sulla biopsia liquida e sulle tecnologie di sequenziamento di terza generazione al fine di migliorare la diagnosi, la caratterizzazione molecolare e il monitoraggio di pazienti con patologie oncologiche e ginecologiche.

Il progetto, sviluppato in collaborazione tra Università degli Studi di Napoli Federico II, Consiglio Nazionale delle Ricerche e Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, si inserisce nell'ambito della medicina di precisione e della diagnostica molecolare avanzata. Le attività di ricerca sono state finalizzate alla caratterizzazione di biomarcatori genici ed epigenetici mediante tecnologie di sequenziamento di terza generazione applicate alla biopsia liquida, con particolare attenzione all'endometriosi e al carcinoma della vescica.

Materiali e metodi

Lo studio ha previsto la raccolta di campioni ematici e tissutali da pazienti affetti dalle suddette patologie, successivamente sottoposti ad analisi molecolari per l'estrazione e la caratterizzazione di DNA e RNA circolanti. In particolare, le Unità di Ginecologia e di Patologia Molecolare della Federico II hanno reclutato pazienti con endometriosi per le quali sono state effettuate analisi genomiche e di metilazione su biopsia liquida, attraverso l'impiego di pannelli in NGS dedicati allo studio delle alterazioni molecolari e dei profili epigenetici. Parallelamente, l'Unità CNR ha ottimizzato i protocolli di isolamento e controllo qualitativo di ccfDNA e RNA, garantendo l'affidabilità delle successive analisi di sequenziamento. L'Unità Vanvitelli ha infine coordinato il reclutamento clinico dei pazienti con carcinoma vescicale e

la caratterizzazione istopatologica dei campioni, favorendo l'integrazione tra dati clinici e molecolari.

L'intero progetto è stato condotto nel rispetto dei principi DNSH, Open Access, pari opportunità e sostenibilità, in conformità agli obiettivi del programma finanziato dall'Unione europea.

Risultati

Il progetto si è focalizzato sull'identificazione di firme genetiche ed epigenetiche associate all'endometriosi e al carcinoma della vescica, con l'obiettivo di potenziare la diagnosi precoce e la terapia attraverso approcci di biopsia liquida, l'uso di tecnologie di sequenziamento di terza generazione e lo sviluppo di nuovi biomarcatori per la medicina personalizzata e traslazionale.

Nel corso delle attività è stata realizzata una coorte clinica ben caratterizzata di pazienti affetti da entrambe le patologie e sono stati raccolti e conservati campioni biologici di elevata qualità. Parallelamente, sono state ottimizzate le procedure di estrazione e analisi di DNA e RNA circolanti, migliorando l'affidabilità dei dati ottenuti.

Sul piano analitico, il progetto ha permesso l'identificazione preliminare di alterazioni genomiche e di specifici profili di metilazione associati alle patologie studiate. Sono stati inoltre sviluppati e implementati workflow bioinformatici per l'integrazione e l'analisi congiunta dei dati genomici ed epigenetici.

Le analisi hanno evidenziato alterazioni molecolari coinvolte in pathway fondamentali, in particolare quelli legati ai meccanismi di riparazione del DNA, oltre a suggerire possibili correlazioni tra i profili di metilazione e alcune caratteristiche clinico-diagnostiche dei pazienti.

Nel complesso, i risultati ottenuti costituiscono una base solida e promettente per futuri sviluppi traslazionali, con potenziali ricadute nell'introduzione di strumenti diagnostici innovativi basati sulla biopsia liquida nella pratica clinica.

I risultati finali del progetto sono stati oggetto di pubblicazioni scientifiche, tra cui l'articolo "Advances in the diagnosis and staging of Endometriosis: imaging techniques and molecular approaches. A proof-of-concept study" al momento in sottomissione.

Riconoscimento del finanziamento

Il progetto è stato realizzato con il sostegno finanziario dell'Unione europea nell'ambito del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR) – Missione 4 "Istruzione e Ricerca", Componente 2, Investimento 1.1 – Fondo per

il Programma Nazionale di Ricerca e Progetti di Rilevante Interesse Nazionale (PRIN).