

Università Degli Studi "Magna Graecia" di Catanzaro
CENTRO INTERDIPARTIMENTALE SERVIZI & RICERCHE
Genomica e Patologia Molecolare

Responsabile Prof. Francesco Saverio Costanzo

Relazione sulla attività gestionale e scientifica svolta dal CIS nel corso del 2019

Presentazione

Il Centro di Servizio Interdipartimentale denominato "GENOMICA FUNZIONALE E PATOLOGIA MOLECOLARE" (di seguito CIS) è stato istituito, ai sensi dell'art. 13 dello Statuto di Ateneo, con Decreto Rettorale n° 435 del 31/05/2012. Il regolamento del CIS è stato approvato dal Consiglio di Amministrazione dell'Università Magna Graecia in data 31 ottobre 2012 e modificato in data 17 ottobre 2013.

Il Comitato Scientifico del CIS è così costituito:

- Prof. Andrea Lenzi, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi della Sapienza Roma
- Prof. Massimo Santoro, Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi "Federico II" Napoli
- Prof. Giovanni Cuda, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi "Magna Graecia" Catanzaro
- Prof. Giuseppe Viglietto, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi "Magna Graecia" Catanzaro

La consistente dotazione di apparecchiature del CIS è articolata in tre piattaforme, dirette da Responsabili di settore:

1. Piattaforma di genomica funzionale (Responsabile Dott.ssa Donatella Malanga);
2. Piattaforma di Fenotipizzazione e separazione cellulare (Responsabile Dott. Valter Agosti);
3. Piattaforma di patologia molecolare e di Anatomia Patologica (Responsabile Prof. Giuseppe Viglietto).

La dotazione strumentale del CIS è presentata come allegato A1 RS alla presente relazione, ed i servizi sono presentati come allegato A2 RS.

1. Attività gestionale

In prosieguo con l'attività iniziata nel 2018, anche per il 2019 il CIS, nella sua qualità di centro autonomo di gestione dell'Università Magna Graecia di Catanzaro ha gestito e rendicontato 7 progetti PON/POR, operando una ritenuta del 4% sui fondi di ricerca. Le somme così ottenute sono state utilizzate per un progetto per il personale amministrativo che gestisce e rendicontra fuori orario di servizio i fondi PON/POR e per la manutenzione di apparecchiature.

L'utilizzo delle apparecchiature del CIS e le attività di consulenza sono, dal 2018, formalizzate attraverso la stipula di convenzioni. Nel 2019 sono state stipulate 4 nuove convenzioni a scopo di ricerca con Docenti dell'Ateneo incardinati nei 3 Dipartimenti di Area bio-medica. Le convenzioni stipulate nel 2019 sono le seguenti:



Università Degli Studi "Magna Græcia" di Catanzaro
CENTRO INTERDIPARTIMENTALE SERVIZI & RICERCHE
Genomica e Patologia Molecolare

Responsabile Prof. Francesco Saverio Costanzo

- *"Prestazioni di ricerca nell'ambito di terapie innovative immunologiche in pazienti affetti da tumori solidi"* con il Prof. Ennio Carbone del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica per l'utilizzo della piattaforma di Fenotipizzazione e Separazione Cellulare. (13 Marzo 2019-13 Marzo 2020).
- *"Prestazioni di ricerca di Anatomia Patologica e Biologia Molecolare"* con il Prof. Amerigo Giudice del Dipartimento di Scienze della Salute per l'utilizzo della piattaforma di Patologia Molecolare e Anatomia Patologica. (11 Marzo 2019-11 marzo 2020).
- *"Prestazioni di ricerca nell'ambito dei progetti relativi alla caratterizzazione della biologia e del potenziale rigenerativo delle cellule staminali cardiache adulte in diversi modelli pre-clinici di malattie cardiovascolari"* con il Prof. Daniele Torella del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica per l'utilizzo delle piattaforme di Genomica Funzionale, Fenotipizzazione e Separazione Cellulare e di Patologia Molecolare e Anatomia Patologica. (4 Settembre 2019-4 Settembre 2020).
- *"Prestazioni di ricerca nell'ambito di Analisi di Sequenziamento di nuova generazione"* con il Prof. Antonio Gambardella del Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche per l'utilizzo della piattaforma di Genomica funzionale. (21 Novembre 2019-21 Novembre 2020).
- E' ancora attiva la convenzione *"Prestazioni di ricerca nell'ambito della caratterizzazione immuno-fenotipica della risposta immunologica ai tumori solidi ed ematologici e della malattia minima residua"* con il Prof. Pierfrancesco Tassone del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica per l'utilizzo della piattaforma di Fenotipizzazione e Separazione Cellulare. (31 Ottobre 2018-31 Ottobre 2020).

Allo scopo di migliorare le conoscenze tecniche sulle apparecchiature del CIS sono stati tenuti, da parte delle ditte fornitrici, un corso di aggiornamento sulla piattaforma di genomica funzionale (sul PGMDx System WorkflowTRN custom site) e un corso di aggiornamento sulla piattaforma di fenotipizzazione e separazione funzionale (BD FACSAria).

Come previsto dall'art. 44 del Regolamento di Ateneo per l'amministrazione, la finanza e la contabilità è stata effettuata la ricognizione dei beni inventariati e si è dato l'avvio alle procedure di scarico per quelli obsoleti.

2. Attività di ricerca e di servizio

Nell'ambito delle sue attività istituzionali il CIS può anche contribuire economicamente alla realizzazione di progetti di ricerca a seguito di valutazione del Comitato Scientifico. Nell'anno 2019 sono pervenute le seguenti richieste:

Prof. G. Viglietto per il completamento di un progetto sui tumori del colon-retto mediante sequenziamento di nuova generazione (NGS) con la piattaforma ION Torrent. La richiesta è stata approvata dal Comitato Scientifico il 22 Marzo 2019 per un contributo di 7000 euro.

Prof. C. Palmieri per l'analisi della espansione clonale e della diversità del repertorio T-cellulare intra-tumorale con utilizzo della piattaforma ION Torrent. La richiesta è stata approvata dal Comitato Scientifico il 13 Luglio 2019 per un contributo di 9000 euro.



Università Degli Studi "Magna Graecia" di Catanzaro
CENTRO INTERDIPARTIMENTALE SERVIZI & RICERCHE
Genomica e Patologia Molecolare

Responsabile Prof. Francesco Saverio Costanzo

Anche nel corso del 2019 la strumentazione acquisita con il progetto BIOMEDPARK@UMG ha contribuito alla realizzazione delle progettualità di diversi gruppi dell'Università Magna Graecia con la pubblicazione dei dati ottenuti su riviste scientifiche internazionali di alta rilevanza. Le pubblicazioni in cui compare il CIS come affiliazione o come grant supporter sono riportate nell'allegato A3 RS.

Catanzaro, 13.02.2020

Responsabile del CIS

ALLEGATO A1

Piattaforma di Genomica Funzionale

Piattaforme di sequenziamento: i) Illumina e Life Technologies supportate entrambe da una piattaforma di BioInformatica applicata alla Bio-Medicina. La piattaforma Illumina è attrezzata con 2 sequenziatori HiSeq2500 e MiSeq e un lettore di Array HiScan; la piattaforma Life Technologies comprende i sequenziatore PGM-Personal Genome Machine, PGMdx-Personal Genome Machine e ION Proton nonché attrezzature di supporto (IonChef, VerityDx) e un server per analisi dei dati di sequenziamento ION-Reporter™. La Piattaforma di genomica comprende anche una strumentazione accessoria e necessaria al sequenziamento quali la Tape Station 2200, Qubit Fluorimeter, termociclatori (QuantStudio 12K Flex, Biorad C1000 System) e spettrofotometri (MultiScan GO).

Piattaforma di Fenotipizzazione e Separazione cellulare

Citofluorimetri analitici: BD LSRFortessa™ X20 con 3 laser e 14 fluorescenze; BD Accuri™ con 2 laser e 4 fluorescenze.

Citofluorimetri analitici e preparativi:

BD FACSAria™ III con 3 laser, 8 fluorescenze e 4 vie di sorting.

Il sistema Cellsearch System per identificare ed enumerare cellule rare da fluidi biologici; il sistema DepArray per identificare, quantificare e recuperare singole cellule.

Piattaforma di Anatomia Patologica

Attrezzature dedicate al campionamento dei reperti macroscopici e microscopici, all'esecuzione automatizzata delle tecniche istologiche di routine e di un sistema di patologia digitale. Le attrezzature tecnologiche della piattaforma comprendono: sistema integrato di processazione tissutale; sistema automatizzato di ibridazione e colorazione per immunoistochimica e FISH; scanner per patologia digitale; microdissettore laser; carotatore per assemblaggio Tissue Micro Array (TMA).

Cluster di calcolo

Il cluster di calcolo ad alte prestazioni associato alle piattaforme comprende 4 server High Performance Computing, 8 processori, 16 Threads con memoria RAM totale di 768 GB, 3 Server di supporto con 2 processori e 12 Threads, con memoria RAM totale di 192 GB e una capacità di storage complessiva di 192TB.

U

ALLEGATO A2

1. SERVIZIO DI GENOMICA FUNZIONALE

Codice	Descrizione sintetica della prestazione offerta
GFD-01	Estrazione di DNA da sangue, tessuti, fluidi biologici singole cellule
GFD-02	Estrazione di RNA da sangue, tessuti, fluidi biologici, singole cellule
GFD-03	Controllo di qualità (QC)
GFD-04	Preparazione librerie da gDNA
GFD-05	Preparazione di librerie da gDNA su regioni specifiche ("pannelli custom").
GFD-06	Preparazione di librerie da gDNA su regioni specifiche ("pannelli commercialmente disponibili").
GFD-07	Preparazione di librerie da esoma
GFD-08	Preparazione di librerie da ampliconi
GFR-01	Sequenziamento DNA
GFR-02	Preparazione librerie total RNA
GFR-03	Preparazione librerie miRNA
GFR-04	Preparazione librerie lncRNA
GFR-05	Preparazione librerie da pannelli custom o commercialmente disponibili per analisi di trascritti di fusione
GFA-01	Sequenziamento RNA
GFA-02	Preparazione del cDNA
GFA-03	In vitro Transcription (IVT)
GFA-04	Preparazione del cRNA
GFA-05	Ibridazione e scanner del Chip
GFA-06	Human Genotyping Arrays
GFA-07	Non-Human Genotyping Arrays
GFB-01	Custom Genotyping
GFB-02	Analisi primaria
GFB-03	Analisi secondaria
GFB-03	Analisi terziaria

Ciascun servizio include la descrizione dei risultati delle analisi, delle procedure e la fornitura d'immagini ai fini di eventuali pubblicazioni scientifiche.

El

2. SERVIZIO DI CITOFLUORIMETRIA E CELL SORTING

Codice	Descrizione sintetica della prestazione offerta
CF-01	<p>Immunofenotipizzazione di 1 singolo antigene</p> <ul style="list-style-type: none"> ◦ Set up, e prima ora di acquisizione ◦ ore successive
CF-02	<p>Immunofenotipizzazione multiparametrica (2-3 fluorocromi)</p> <ul style="list-style-type: none"> ◦ Set up, compensazione e prima ora di acquisizione ◦ ore successive
CF-03	<p>Immunofenotipizzazione multiparametrica (4-5 fluorocromi)</p> <ul style="list-style-type: none"> ◦ Set up, compensazione e prima ora di acquisizione ◦ ore successive
CF-04	<p>Immunofenotipizzazioni multiparametriche complesse</p>
CF-05	<p>Analisi dell' apoptosi Annexin V/PI o 7-AAD</p> <ul style="list-style-type: none"> ◦ Set up, compensazione e prima ora di acquisizione ◦ ore successive
CF-06	<p>Analisi del ciclo cellulare a con PI/7AAD</p> <ul style="list-style-type: none"> ◦ Set up, e prima ora di acquisizione ◦ ore successive
CF-07	<p>Analisi del ciclo cellulare biparametrica con BrdU/7AAD</p> <ul style="list-style-type: none"> ◦ Set up, compensazione e prima ora di acquisizione ◦ ore successive
CF-08	<p>Sorting "single color" (cellule isolate in base alla presenza di GFP o di 1 antigene di superficie) NOTA: si deve concordare il buffer di risospensione delle cellule in fase di consulenza preliminare.</p> <ul style="list-style-type: none"> ◦ set-up, accudrop test, acquisizione dati, prima ora e verifica post sorting ◦ ore successive

CF

CF-09	<p>Sorting multiparametrico (cellule isolate in base alla presenza di 2-3 antigeni di superficie)</p> <p>NOTA: si deve concordare il buffer di risospensione delle cellule in fase di consulenza preliminare.</p> <ul style="list-style-type: none"> ◦ set-up, compensazione, accudrop test, acquisizione dati, prima ora sorting ed analisi post-sorting ◦ ore successive
CF-10	Sorting multiparametrico complesso
CF-11	Servizio di consulenza per disegni sperimentali complessi, progetti di ricerca, analisi dettagliate di dati mediante software specifici e generazione di immagini "publication grade"
CI-01	Isolamento e caratterizzazione di Cellule tumorali circolanti
CI-02	Isolamento e caratterizzazione di cellule endoteliali circolanti
CI-03	Identificazione recupero di cellule rare da cellule vive o da campioni fissati mediante marcatura in fluorescenza
CO-1	

Ciascun servizio include: supporto per le procedure di staining, acquisizione dei campioni e prima descrizione dei risultati. Non include: analisi dettagliate con software specifici e generazione di immagini "publication grade".

UP

3. SERVIZIO DI PATOLOGIA MOLECOLARE/ ANATOMIA PATOLOGICA

Codice	Descrizione sintetica della prestazione offerta
PA-01	Allestimento campioni citologici (aspirativa ed esfoliativa)
PA-02	Allestimento citoinclusi
PA-03	Immunocitochimica
PA-04	Laser Capture Microscopy
PA-05	Allestimento campioni istologici
PA-06	Inclusioni in OCT/paraffina
PA-07	Colorazioni con ematossilina/eosina
PA-08	Colorazioni speciali
PA-09	Immunoistochimica
PA-10	FISH
PA-11	Allestimento Tissue microArray
PA-12	Patologia digitale
CO-01	Valutazioni anatomo-patologiche per diagnostica cito-istologica su tessuto umano e/o animale
CO-02	Valutazioni anatomo-patologiche per diagnostica cito-istologica su Tissue Micro Array (TMA)
CO-03	Valutazioni e analisi di FISH
CO-04	Valutazioni e analisi di alterazioni molecolari

U

- *Iron and Ferritin Modulate MHC Class I Expression and NK Cell Recognition.* Sottile R, Federico G, Garofalo C, Tallerico R, Faniello MC, Quaresima B, Cristiani CM, Di Sanzo M, Cuda G, Ventura V, Wagner AK, Contrò G, Perrotti N, Gulletta E, Ferrone S, Kärre K, Costanzo FS, Carlomagno F, Carbone E. *Front Immunol* 2019 Feb 26;10:224. doi:10.3389/fimmu.2019.00224. eCollection 2019.
- *Accumulation of Circulating CCR7+ Natural Killer Cells Marks Melanoma Evolution and Reveals a CCL19-Dependent Metastatic Pathway.* Cristiani CM, Turdo A, Ventura V, Apuzzo T, Capone M, Madonna G, Mallardo D, Garofalo C, Giovannone ED, Grimaldi AM, Tallerico R, Marcenaro E, Pesce S, Del Zotto G, Agosti V, Costanzo FS, Gulletta E, Rizzo A, Moretta A, Karre K, Ascierto PA, Todaro M, Carbone E. *Cancer Immunol Res.* 2019 May;7(5):841-852. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0651.
- *MicroRNA let-7g acts as tumor suppressor and predictive biomarker for chemoresistance in human epithelial ovarian cancer.* Biamonte F, Santamaria G, Sacco A, Perrone FM, Di Cello A, Battaglia AM, Salatino A, Di Vito A, Aversa I, Venturella R, Zullo F, Costanzo F. *Sci Rep.* 2019 Apr 5;9(1):5668. doi: 10.1038/s41598-019-42221-x.
- *H-Ferritin Affects Cisplatin-Induced Cytotoxicity in Ovarian Cancer Cells through the Modulation of ROS.* Salatino A, Aversa I, Battaglia AM, Sacco A, Di Vito A, Santamaria G, Chirillo R, Veltri P, Tradigo G, Di Cello A, Venturella R, Biamonte F, Costanzo F. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Oct 31;2019:3461251. doi: 10.1155/2019/3461251. eCollection 2019.
- *Role of c-Kit in Myocardial Regeneration and Aging.* Marino F, Scalise M, Cianflone E, Mancuso T, Aquila I, Agosti V, Torella M, Paolino D, Mollace V, Nadal-Ginard B, Torella D. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019 Jun 19;10:371. doi:10.3389/fendo.2019.00371. eCollection 2019. Review. PubMed PMID: 31275242; PubMed Central PMCID: PMC6593054.
- *c-kit Haploinsufficiency impairs adult cardiac stem cell growth, myogenicity and myocardial regeneration.* Aquila I, Cianflone E, Scalise M, Marino F, Mancuso T, Filardo A, Smith AJ, Cappetta D, De Angelis A, Urbanek K, Isidori AM, Torella M, Agosti V, Viglietto G, Nadal-Ginard B, Ellison-Hughes GM, Torella D. *Cell Death Dis.* 2019 Jun 4;10(6):436. doi: 10.1038/s41419-019-1655-5. PubMed PMID: 31164633; PubMed Central PMCID: PMC6547756.
- *Histone proteomics reveals novel post-translational modifications in breast cancer.* Perri AM, Agosti V, Olivo E, Concolino A, Angelis M, Tammè L, Fiumara CV, Cuda G, Scumaci D. *Aging (Albany NY).* 2019 Dec 8;11(23):11722-11755. doi: 10.18632/aging.102577. Epub 2019 Dec 8. PubMed PMID: 31816600; PubMed Central PMCID: PMC6932915.
- *Identification of mesothelial cells in intraoperative blood salvage.* Santise G, Maselli D, Malanga D, Di Vito A, Mandarino N, Boccadamo G, Zeppa P, Amorosi A, Viglietto G, Rizzuto A, Mignogna C. *Am J Transl Res.* 2019 Mar 15;11(3):1771-1779. eCollection 2019.