

Odbor za primijenjenu genomiku
Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti.

Primjena genomike u Hrvatskoj, upitnik

(Molimo da odgovore napišete običnim tiskom u nastavku upita, izostavite pitanja koja se ne odnose na Vaše djelovanje, te da odgovor pošaljete zaključno do utorka, 02. travnja 2013.)

1. *Ime i prezime, akademski naslov, funkcija, ustanova, adresa, e-mail adresa*

Neda Slade, viša znanstvena suradnica, Institut Ruđer Bošković, Bijenička 54, Zagreb, slade@irb.hr

2. *Uža znanstvena problematika kojom se bavite (10 rečenica)*

Bavim se proučavanjem tumor supresorskog proteina p53 i njegovih srodnika. Poblize, predmet mog istraživanja je uloga mreže proteina p53/p73 stanicama i tkivima tumora. Posebice se bavim interakcijama između izoformi proteina unutar obitelji p53. Dosadašnji model istraživanja bio je sarkom mekih tkiva čovjeka, a nova istraživanja usjmerena su na istraživanje proteinskih interakcija u melanomu čovjeka. Naime, u melanomu je učestalost mutacija tumor supresorskog proteina p53 relativno niska u usporedbi s drugim vrstama tumora, a divlji tip gena je pojačano ekspimiran. Pretpostavljamo da se funkcija p53 u malignom melanomu može izmijeniti putem interakcija s drugim proteinima, i to izoformama p53 niske molekulske mase, izoformama p73, te proteinima obitelji nm23 i Gli. Cilj ovog projekta je utvrditi kompleksnost ovih interakcija i njihovu ulogu u nastanku i progresiji melanoma u ljudi te ponuditi nova rješenja u dijagnostici, prognostici i terapiji.

U suradnji s kolegama iz Austrije sudjelovali smo u otkriću novih varijanti gena p53, od kojih su neke imaju izrazito pojačanu ekspresiju u tumorskim stanicama i tkivima. Ova suradnja rezultirala je objavljivanjem rada u prestižnom časopisu *Oncogene*.

S dr. sc. Vjekoslavom Dulićem iz Instituta Génétique Moléculaire de Montpellier (IGMM) - CNRS, Laboratorija za kontrolu staničnog ciklusa putem fosforilacije, istraživali smo ulogu onkogene izoforme proteina p73 ($\Delta Np73$) u kontroli staničnog ciklusa, te njen utjecaj na stanične puteve koji su aktivirani uslijed oštećenja DNA koristeći normalne fibroblaste čovjeka, kao i one koje ekspimiraju protein E6 iz virusa HPV.

Nadalje, sudjelujem u istraživanjima uzročnika bolesti endemska (balkanska) nefropatija. Rezultati naših višegodišnjih istraživanja potvrdili su hipotezu da hranom unesena aristolohična kiselina, toksični sastojak biljke *Aristolochia clematitis*, nakon metaboličke aktivacije u bubrežnoj kori i urotelu oboljelih stvara kovalentne adukte s proteinima i DNA, te izaziva karakteristične mutacije tumor supresorskog gena p53 (ova istraživanja objavljena su u časopisima *Proc Natl Acad Sci USA*, *Int J Cancer* i *Kidney Int*).

3. *Navedite 10 vaših najznačajnijih radova*

1. Zaika A.I., **Slade N.**, Erster S., Sansome C., Joseph T.W., Pearl M., Chalas E., Moll U.M. ΔN p73, a dominant negative inhibitor of wild type p53 and TA p73, is upregulated in human tumors. **J Exp Med** (2002) 196: 765-780.
2. **Slade N.**, Zaika A.I., Erster S., Moll U.M. DeltaNp73 stabilizes TAp73 proteins but compromises their function due to inhibitory hetero-oligomer formation. **Cell Death Differ** (2004) 11: 357-360.
3. Concin N., Becker K., **Slade N.**, Erster S., Mueller-Holzner E., Ulmer H., Daxenbichler G., Zeimet A., Zeillinger R., Marth C., Moll U.M. Transdominant $\Delta TAp73$ isoforms are frequently up-regulated in ovarian cancer. Evidence for their role as epigenetic p53 inhibitors in vivo. **Cancer Res** (2004) 64: 2449-2460.

4. Moll U.M., **Slade N.** p53 and p73: Roles in Development and Tumor Formation. **Mol Cancer Res** (2004) 2: 371-386.
5. Grollman A.P., Shibutani S., Moriya M., Miller F., Wu L., Moll M., Suzuki N., Fernandes A., Rosenquist T., Medverec Z., Jakovina K., Brdar B., **Slade N.**, Turesky R.J., Goodenough A.K., Rieger R., Vukelić M., Jelaković B. Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan) nephropathy. **Proc Natl Acad Sci USA** (2007) 104: 12129-12134.
6. **Slade N.**, Moll U.M., Brdar B., Zorić A., Jelaković B. p53 mutations as fingerprints for aristolochic acid – an environmental carcinogen in endemic (Balkan) nephropathy. **Mutat Res/Fund Mol M** (2009) 663: 1-6.
7. Hofstetter G., Berger A., Fiegl H., **Slade N.**, Zorić A., Holzer B., Schuster E., Mobus V.J., Reimer D., Daxenbichler G., Marth C., Zeimet A.G., Concin N., Zeillinger R. Alternative splicing of p53 and p73: the novel p53 splice variant p53delta is an independent prognostic marker in ovarian cancer. **Oncogene** (2010) 29:1997-2004.
8. **Slade N.**, Horvat A. Targeting p73 - A Potential Approach in Cancer Treatment. **Curr Pharm Des** (2011) 17: 591-602.
9. Moriya M, **Slade N**, Brdar B, Medverec Z, Tomic K, Jelaković B, Wu L, Truong S, Fernandes A, Grollman AP. TP53 Mutational signature for aristolochic acid: An environmental carcinogen. **Int J Cancer** (2011) 129:1532-1536.
10. Zorić A, Horvat A, **Slade N.** Differential Effects of Diverse p53 Isoforms on TAp73 Transcriptional Activity and Apoptosis. **Carcinogenesis** (2013) 34:522-529

4. *Znanstveno-istraživački projekti koje ste vodili ili u njima surađivali.*

2007–2013 voditelj projekta MZOŠ "Uloga mreže proteina p53/p73 u sarkomima mekih tkiva čovjeka"

2006-2007 voditelj projekta MZOŠ Republike Hrvatske i Saveznog ministarstva za obrazovanje, znanost i kulturu Republike Austrije za znanstveno-tehničku suradnju Hrvatska – Austija: "p53/p73 Network in chemoresistance. The relevance of dominant - negative p73 isoforms for chemosensitivity."

2007-2008 voditelj projekta MZOŠ Republike Hrvatske i Republike Francuske, hrvatsko-francuskog Programa integriranih akcija "Cogito": "Uloga p73 u kontroli staničnog ciklusa".

2006-2009 suradnik na projektu Fogarty International Collaboration Award (FIRCA) , NIH "Ethiology of Balcan endemic nephropathy", voditelj: A.P. Grollman

2002-2006 suradnik na projektu MZOŠ "Gensko liječenje tumora korekcijom tumor-supresorskih gena", voditelj: J. Pavelić

1996-2002 suradnik na projektu MZOŠ "Gensko liječenje solidnih tumora pokretanjem mehanizma samoubojstva stanice genom za timidin kinazu herpes simpleks virusa (HSVtk)", voditelj: J. Pavelić

5. *Znanstveno-istraživački projekt koji vodite ili u njemu surađujete.*

2014-2018 voditelj istraživačkog projekta HRZZ (IP-11-2013) „New protein networks for novel therapeutic avenues in human melanoma”

2014-2015 suradnik na bilateralnom projektu MZOŠ i Saveznog ministarstva za obrazovanje, znanost i kulturu Republike Austrije za znanstveno-tehničku suradnju Hrvatska – Austija – „Utjecaj varijante gena p53 na transkripcijsku aktivnost p73 u stanicama tumora čovjeka“, voditelj A. Zorić

2012-2015 suradnik na projektu HRZZ (Partnerstvo u temeljnim istraživanjima) „Molekularno profiliranje i proteomika karcinoma urotela”, voditelj B. Jelaković

6. Međunarodna suradnja.

U suradnji s kolegama iz Austrije sudjelovali smo u otkriću novih varijanti gena p53, od kojih su neke (posebice p53delta) imaju izrazito pojačanu ekspresiju u tumorskim stanicama i tkivima. Ova suradnja rezultirala je objavljivanjem rada u prestižnom časopisu *Oncogene*. S dr. sc. Vjekoslavom Dulićem iz Instituta Génétique Moléculaire de Montpellier (IGMM) - CNRS, Laboratorija za kontrolu staničnog ciklusa putem fosforilacije, ostvarila sam intenzivnu suradnju kroz bilateralni projekt Cogito (2007-2009) a suradnja se i dalje nastavlja. Tijekom provedbe ovog projekta istraživali smo ulogu onkogene izoforme proteina p73 ($\Delta Np73$) u kontroli staničnog ciklusa, te njen utjecaj na stanične puteve koji su aktivirani uslijed oštećenja DNA koristeći normalne fibroblaste čovjeka, kao i one koje eksprimiraju protein E6 iz virusa HPV. Originalnost našeg istraživanja je u korištenju normalnih stanica ljudi, budući da su u njima očuvani glavni stanični procesi. Ovo je ujedno i tema doktorske disertacije novakinje Anđele Horvat čija izrada je u tijeku.

Nadalje, u suradnji s prof. Jelakovićem (Medicinski fakultet u Zagrebu i KBC Rebro) i prof. Grolmannom iz SUNY Stony Brook, SAD, sudjelujem u istraživanjima uzročnika bolesti endemska (balkanska) nefropatija. Rezultati naših višegodišnjih istraživanja potvrdili su hipotezu da hranom unesena aristolohična kiselina, toksični sastojak biljke *Aristolochia clematitis*, nakon metaboličke aktivacije u bubrežnoj kori i urotelu oboljelih stvara kovalentne adukte s proteinima i DNA, te izaziva karakteristične mutacije tumor supresorskog gena p53 (*Proc Natl Acad Sci USA*; *Int J Cancer* i *Kidney Int*). Upravo istraživanje mutacija p53 (u koje sam ja uključena) imalo je ključnu ulogu u dokazivanju uzročnika te bolesti. Ova istraživanja se nastavljaju i dalje te je za financiranje prihvaćen projekt "Molekularno profiliranje i proteomika karcinoma urotela" financiran od HRZZ ("Partnerstvo u temeljnim istraživanjima") na kojem sam suradnik.

Suradujemo i s dr. sc. Mariom Medvedovićem s University of Cincinnati Medical Center, Genomics and Microarray Laboratory na ispitivanju metilaciju genoma vezano uz ekspresiju proteina TAp73, odnosno $\Delta Np73$.

Najnovija suradnja s prof. dr. sc. Jean-Christophom Bourdonom, University of Dundee, temelji se na ispitivanju ekspresije i uloge izoformi p53 u tumorima s naglaskom na interakcije među članovima obitelji p53. Na istraživanju proteinskih interakcija u melanomu čovjeka, što je tema novoprihvaćenog istraživačkog projekta HRZZ, suradujemo s dr. sc. Daniele Bergamaschi, Blizard Institute, London.

7. Najvažnija oprema Vašeg laboratorija

real time PCR Bio Rad, uređaj za snimanje i analizu slika Uvitec ALLIANCE XD-79LS-26MX

ali u Zavodu imamo na raspolaganju ABI PRISM 310 Genetic Analyzer, HR-1 High Resolution DNA melting instrument, High-Pressure Homogenizator (MSES), High

resolution microarray scanner, Microarray spotter robot, Bioanalyzer, florimetar i luminometar, Maldi TOF/TOF, ultracentrifugu Beckman, Centar za konfokalnu mikroskopiju IRB-a opremljen je konfokalnim mikroskopima Leica TCS SP2 AOBS i Leica TCS SP8 X FLIM te grafičku radnu stanicu sa softverom SVI Huygens za obradu slika

9. *Oprema koju bi valjalo nabaviti*

- na razini Vašeg laboratorija
novi qPCR uređaj, novi PCR uređaj, fluorescentni mikroskop
- na razini Vaše ustanova
FACS – uređaj za sortiranje stanica,
- centralno na razini države time da bude na raspolaganje uz razumne uvijete.
uređaj za sekvenciranje nove/treće generacije (*next generation/third generation*)

10. *Vaše mišljenje o izobrazbi iz genomike u Vašem području, sadašnje stanje i kako unaprijediti:*

- *dodiplomska*
- *poslijediplomska doktorska*
više specijaliziranih kolegija s praksom u laboratoriju
- *poslijediplomska specijalistička*
izbjegavati općenite kolegije, više smjerova, više mogućnosti izbora, puno prakse, primjene

11. *Sažeto prikazite primjenu genomike u Vašem području u nas i usporedite sa svijetom.*

U našim istraživanjima koristimo se genomikom koliko je to u našoj mogućnosti. Na žalost naša finacijska situacija ne omogućava nam širu primjenu genomike. Situacija se donekle popravila novim projektima HRZZ, međutim, oni su skromno financirani, i jako kruti u raspoređivanju novaca. Nema mogućnosti nabavke novih uređaja, osim fondova EU.

12. *Da li su u nas zadovoljavajući etički i pravni vidovi primjene genomike? Sažeto prikazite u Vašem području i navedite prijedloge.*

Za naša istraživanja neophodne su dozvole etičkog povjerenstva kliničke ustanove te matične ustanove gdje se istraživanja provode. Pacijenti potpisuju pristanak za uzimanje uzoraka tkiva i njihovu genetičku analizu. Međutim, postoji mogućnost kršenja diskrecije, posebice vezano uz identitet bolesnika. To bi trebalo preciznije pravno regulirati, te o tome, a i o ostalim pravnim aktima, informirati uključene u istraživanje putem seminara i tečajeva.

13. *Da li je u nas dovoljno razvijena informatička potpora primjeni genomike? Što predlažete?*

Potrebna bi bila snažnija informatička potpora. Postoje veliki iskoraci u razvoju bioinformatike, ali još uvijek informatička potpora nije šire dostupna. To je važno pitanje, i trebalo bi svakako osnažiti informatičku podršku na ustanovama koja bi uvelike pomogla djelatnicima dotičnih ustanova u njihovim istraživanjima. Posebice bi trebalo staviti naglasak na izobrazbu bioinformatičara s temeljnim biološkim ili medicinskim obrazovanjem.

14. *Da li su Vam dostupne sve genomičke baze podataka, ako nisu što predlažete da se poduzme.*

Genetičke baze su moža i dostupne, ali trebala bi postojati bolje informiranost o njima i o mogućnostima pojedinih baza.

15. *Kako unaprijediti suradnju u genomici u nas (primjerice ustroj genomičke informacijske mreže)?*

Trebala bi biti puno bolja povezanost i umreženost. Možda bi trebalo periodički organizirati radionice gdje bi se istraživači informirali o trenutačnom stanju. Naravno, izuzetno bi bilo korisno osnovati i genomičku informacijsku mrežu. Mala smo zajednica, i zaista je šteta da bolje ne surađujemo.

16. Dopunite upitnik prema Vašem nahođenju!