

Assegnazione 5 per mille Ricerca Sanitaria Anno Fiscale 2022

Titolo progetto: Medicina di precisione

Anno riferimento 5 x mille: Inizio Progetto 31 01 2022 Fine Progetto 31 12 2023

Sintesi Progetto - Abstract:

1- Scopo del progetto è individuare e caratterizzare le anomalie genetiche di ogni bambino con ALL mediante sequenziamento di nuova generazione alla diagnosi di malattia.

Svolgimento del progetto:

Per tutti i pazienti italiani con ALL (circa 400/anno), alla diagnosi di malattia verranno eseguite:
A) analisi RNAseq dell'intero trascrittoma mediante NGS, per la rilevazione di (i) geni di fusione derivati da traslocazioni cromosomiche e da delezioni intracromosomiche; (ii) varianti somatiche a singolo nucleotide. Verrà utilizzato il kit Universal Total RNA (Tecan Genomics) per preparare la libreria per il sequenziamento. Il sequenziamento verrà eseguito mediante paired end sequencing 2x75 su Nextseq1100 (Illumina). Per rilevare le alterazioni verrà utilizzato Dragen Platform Software v3.10, con le relative applicazioni per i geni di fusione o per varianti.

B) Alterazioni del numero di copie geniche: verrà utilizzato il nuovo test digital MLPA (dMLPA) basato su NGS per ampliconi, per identificare la variazione del numero di copie in 55 geni, selezionati per il ruolo rilevante che svolgono nello sviluppo/progressione della leucemia, quali IKZF1, CDKN2A/2B, CRLF2, JAK2, PAX5, EBF1, PDGFRB, ABL1 e altri oncogeni. La preparazione della libreria richiede 100 ng di DNA e verrà sequenziata su Miseq (single end, 101 bp) o come spike-in in altre analisi NGS per ottimizzare costi e tempi. L'analisi sarà effettuata con il software dedicato Coffalyser (MRC-Holland, NL).

Risultati attesi:

Il progetto permetterà di individuare nelle cellule leucemiche dei bambini con ALL alla diagnosi di malattia anomalie genetiche non identificabili con le metodologie convenzionali, permettendo un miglioramento nella capacità di riconoscere nuovi predittori di risposta alle terapie in uso e nuovi bersagli terapeutici per nuovi protocolli clinici.

Ad esempio, i) i pazienti con fusioni geniche `ABL-classi potranno essere indirizzati al nuovo protocollo clinico che prevede utilizzo di farmaci quali inibitori di tirosin chinasi, che colpiscono con precisione le sole cellule leucemiche, con minore tossicità ed eventi avversi a medio-lungo termine; ii) l'analisi di copy number identificherà i pazienti `Ikaros-plus, con un pattern di delezioni geniche associate a prognosi avversa qualora identificate in pazienti con scarsa risposta MRD, eseguita in parallelo.

2- Obiettivo dello studio proposto è di introdurre l'utilizzo di NGS-MRD, a partire dai pazienti monitorati post-HSCT. Abbiamo selezionato una coorte di 30 bambini con ALL sottoposti a HSCT con campioni multipli in cui sia stata evidenziata in almeno uno di essi una bassa positività PCR-MRD (<0,01%), per confrontare il risultato con NGS-MRD.

Comitato Maria Letizia Verga ODV Organizzazione di Volontariato

C.F. 97015930155 – Iscritta nella sezione A) del RUNTS

Associazione riconosciuta con DGR n. 29495 del 01/01/1997

Presso la Clinica Pediatrica dell'Università di Milano-Bicocca

Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori – Via Giovanbattista Pergolesi, 33 - 20900 Monza (MB)

Tel. 039.23.33.526 www.comitatomarialetiziaverga.it e-mail: info@comitatomarialetiziaverga.org

Il trattamento dei dati personali in nostro possesso avviene secondo le disposizioni del Regolamento UE 2016/679 e altre normative applicabili. Informativa completa sul sito www.comitatomarialetiziaverga.it

Svolgimento del progetto:

Prima dell'implementazione del rilevamento NGS-MRD nella pratica clinica, è necessario affrontare diversi problemi e standardizzare l'intero flusso di lavoro, inclusa non solo la fase analitica (calibratori, controlli di qualità) ma anche quella preanalitica (ad es. preparazione del campione) e le fasi post-analitiche (es. pipeline bioinformatica, linee guida per una corretta interpretazione dei dati). Questi temi verranno affrontati in collegamento con il network europeo Euroclonality-NGS, di cui il laboratorio di Monza è partner.

Risultati attesi:

- Introduzione di NGS nella rilevazione di MRD dei pazienti italiani con ALL
- Verifica della specificità dell'analisi MRD mediante NGS rispetto a RQ-PCR nei pazienti con ALL post-HSCT.

Ci aspettiamo che NGS sia uno strumento preferibile a RQ-PCR per il rilevamento MRD, con il potenziale di superare la maggior parte dei limiti della RQ-PCR e che possa diventare il nuovo gold standard per il rilevamento della MRD in ALL

Budget 215.046,61 €

così suddiviso:

Personale di ricerca 24.529,73 €

Materiale uso destinato alla ricerca 188.516,88 €

Spese amministrative 2.000,00 €

Totale quota 5 x mille AF 2022: 215.046,61 €

Data di percezione fondi 5 x mille AF 2022: 12-10-2023

Comitato Maria Letizia Verga ODV Organizzazione di Volontariato
C.F. 97015930155 – Iscritta nella sezione A) del RUNTS
Associazione riconosciuta con DGR n. 29495 del 01/01/1997

Presso la Clinica Pediatrica dell'Università di Milano-Bicocca
Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori – Via Giovanbattista Pergolesi, 33 - 20900 Monza (MB)
Tel. 039.23.33.526 www.comitatomarialetiziaverga.it e-mail: info@comitatomarialetiziaverga.it