

**Programma di primo avvio e modalità di gestione provvisoria e a regime
della Piattaforma di Genotyping di Sardegna Ricerche**

Relazione finale

Sardegna Ricerche, con la creazione della Piattaforma di Genotyping e Gene Expression Profiling ha messo a disposizione delle società insediate nel Parco Scientifico e agli altri operatori della ricerca regionale e nazionale, attrezzature avanzate, tecniche efficacissime ed innovative della ricerca biomedica.

Altro obiettivo, della realizzazione del suddetto polo di eccellenza, è quello di realizzare programmi sperimentalisti di ricerca con il supporto della sezione di bioinformatica al fine di individuare nuovi target di interesse biomedico. Tali attività riguardano prevalentemente la genotipizzazione ad alta processività mediante chip a DNA e l'espressione genica sia su tutto il genoma che finalizzata ad alcuni geni specifici. Queste procedure sperimentali utilizzeranno principalmente: la piattaforma Affymetrix, che dispone di due diversi sistemi completi integrabili fra loro, che permettono di gestire tutti i protocolli per analisi di espressione genica e di genotyping; e la 7900HT Fast Real-Time PCR System, che è in grado di rilevare quantitativamente la presenza di acidi nucleici in Real Time PCR, utilizzando la tecnologia TAQMAN, e di validare polimorfismi biallelici.

L'Azione 1.a del Progetto SIAI101 ha consentito di dotare la Piattaforma di Genotyping delle seguenti principali attrezzature scientifiche:

- Piattaforma tecnologica Affymetrix:
 - o n° 5 GeneChip Fluidics Station 450
 - o n° 3 GeneChip Hybridization Oven 640
 - o n° 2 Affymetrix GeneChip Scanner
 - o n° 1 Fast Real Time PCR System 7900
- Agilent 2100 Bioanalyzer
- Termociclatori GeneAmp PCR System 9700
- Spettrofotometro NanoDrop ND-100

La funzionalità delle attrezzature in dotazione alla Piattaforma è stata testata con la realizzazione di un "Programma per il primo avvio della Piattaforma per il Genotyping", finalizzato a

- valutare le migliori modalità di gestione dell'accesso alla Piattaforma;
- verificare operativamente eventuali problemi legati all'utilizzo sistematico delle stesse attrezzature;
- stimare su casi reali la distribuzione ed il volume di attività per un funzionamento efficiente della Piattaforma;
- perfezionare la conoscenza tecnica delle procedure e delle attrezzature da parte dello staff responsabile della gestione per raggiungere uno standard qualitativo ottimale;
- individuare, con la collaborazione dei soggetti partecipanti, le migliori procedure di analisi statistica ed informatica dei dati da implementare nella fase di piena operatività al termine della fase pilota.

Il Programma ha consentito di verificare la capacità della Piattaforma di Genotyping di soddisfare le richieste di diverse società insediate nel parco mettendo a loro disposizione la professionalità di personale altamente qualificato e strumentazioni e tecnologie d'avanguardia. Tra le suddette società figurano:

Bioflag, società fondata nel 2004 che svolge attività di ricerca focalizzata sulla identificazione e sviluppo di nuovi marcatori attraverso l'applicazione combinata di scienze quali la bioinformatica, la biologia, la chimica e la medicina. L'obiettivo di Bioflag è di diventare una primaria società di ricerca e sviluppo nella medicina molecolare e nella diagnostica. Sviluppando nuovi marcatori e saggi utili ad identificare, in fasi precoci, gli aspetti molecolari di eventi patologici che sono rilevanti per delineare meglio il quadro diagnostico o predittivo. Questa società ha utilizzato:

- la piattaforma Affymetrix (GeneChip Fluidics Station 450, GeneChip Hybridization Oven 640, Affymetrix GeneChip Scanner) per l'analisi di espressione;
- lo Spettrofotometro NanoDrop ND-100 per valutare la concentrazione dell'RNA;
- l'Agilent 2100 Bioanalyzer per valutare la qualità dell'RNA in termini di integrità che di purezza;
- centrifughe, vorticatori, micro pipette, thermomixer comfort.

Bioflag ha provveduto personalmente all'acquisto dei reagenti, dei chip e dei materiali di consumo come provette e puntali.

Ai ricercatori della società Bioflag sono state trasferite tutte le conoscenze tecniche e teoriche relative al processamento e alla successiva analisi di espressione. La suddetta società ha inoltre ricevuto una continua assistenza tecnica per tutta la durata degli esperimenti (circa 30 giorni).

Pharma-Gen, consorzio con attività esterna costituito da tre PMI operanti in Sardegna in settori ad alta tecnologia: Neureka srl, Axis Strategic Vision srl, PriGen srl. Pharma-Gen si propone di svolgere attività di ricerca applicata e sviluppo nei settori della genomica e della farmacogenetica e di realizzare servizi ad elevato valore aggiunto e di potenziare il valore produttivo sia nel settore biotecnologico che in quello delle applicazioni di rilievo diagnostico e terapeutico.

Per la realizzazione dei suddetti obiettivi, nello specifico per studi di discriminazione allelica Pharmagen si è rivolta alla piattaforma di Genotyping per l'utilizzo dello strumento 7900 HT Fast real timePCR mediante le tecniche di discriminazione allelica basate sulla tecnologia TAQMAN.

La società ha provveduto personalmente all'acquisto dei reagenti, dei chip e dei materiali di consumo.

Shardna Spa, fondata nel 2000, prima società italiana di ricerca nel settore della genomica nata dall'incontro tra pubblico e privato e conduce le sue ricerche in una particolare area della Sardegna, l'Ogliastra, abitata da popolazioni che sono state isolate per secoli. L'obiettivo principale di Shardna è l'identificazione delle varianti geniche associate a malattie complesse e la caratterizzazione strutturale e funzionale delle proteine al fine di promuovere lo sviluppo di trattamenti terapeutici, diagnostici e farmacologici per la cura e la prevenzione.

Shardna ha utilizzato la piattaforma per le sue ricerche nel campo della genetica e ha usufruito in particolare della piattaforma Affymetrix per studi di genotipizzazione umana su un ampio numero di campioni di DNA.

Le attrezzature sono state utilizzate nel seguente ordine:

- Spettrofotometro NanoDrop ND-100 per valutare la concentrazione e la qualità del DNA estratto e amplificato;
- Termociclatori Gene 9700 Gold per reazioni enzimatiche e di amplificazione del DNA;
- GeneChip Hybridization Oven 640 per ibridizzare i chip alla temperatura ottimale;
- GeneChip Fluidic Station 450 per effettuare i lavaggi dei chip ibridizzati;
- GeneChip Scanner per la scansione dei chip e la gestione dei dati.

Sono inoltre state usate piccole attrezzature come centrifughe, vorticatori, micropipette necessarie per lo svolgimento dell'esperimento. La società suddetta ha provveduto all'acquisto di tutti i materiali di consumo come gli enzimi, le soluzioni e gli stessi chip.

In conclusione, la Piattaforma di Genotyping si è dimostrata in grado:

- di fornire agli utenti del Parco tecnologico e al sistema (non solo regionale) della ricerca e dell'innovazione servizi di genotipizzazione, sequenziamento e di profili di espressione genica ad alta processività;
- di diventare una risorsa per la comunità scientifica e imprenditoriale locale, garantendo l'accesso a tecnologie ad alta processività fondamentali per progetti di ricerca biomedica particolare avanzata;
- di fungere da elemento di attrazione per l'insediamento nel Parco tecnologico di nuove iniziative di ricerca, in particolare di imprese *high tech* che possano contribuire a elevare il livello scientifico e tecnologico delle attività di ricerca sviluppate all'interno del Parco tecnologico e nell'area di riferimento del progetto SIAI101.