

Σύντομη Περιγραφή Συνολικής Προόδου Φυσικού Αντικειμένου από την έναρξη του έργου μέχρι τις 30/06/2015

Δ1: Συντονισμός του έργου. Προκηρύξεις και επιλογή εξωτερικών επιστημονικών συνεργατών. Ολοκλήρωση μειοδοτικού διαγωνισμού και προμήθεια μικροεξοπλισμού. Ολοκλήρωση διεθνούς μειοδοτικού διαγωνισμού και την προμήθεια αντιδραστηρίων και αναλωσίμων εργαστηρίου στο Υποέργο 2. Πραγματοποιήθηκαν επισκέψεις του μετακαλούμενου ερευνητή συνολικής διάρκειας 2,5 μηνών.

Δ2: Ολοκληρώθηκε.

Δ3: Ολοκληρώθηκε η παρασκευή εσωτερικών προτύπων, ο σχεδιασμός ανιχνευτών και η σύζευξη τους με φθορίζοντα μικροσφαιρίδια. Υπολογίστηκαν τα όρια ποσοτικοποίησης για κάθε ένα από τα προϊόντα ενίσχυσης DNA. Έγινε βελτιστοποίηση ταυτόχρονης πολλαπλής PCR για την ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση των mRNA επιλεγθέντων γονιδίων και ο σχετικός έλεγχος ποιότητας. Ξεκίνησε η εφαρμογή της μεθόδου σε καρκινικά κύτταρα προστάτη.

Δ4/5: Ολοκληρώθηκε.

Δ6: Βελτιστοποιήθηκαν οι συνθήκες προσδιορισμού της έκφρασης των μεταγράφων του γονιδίου *BCL2L12*, *DDC* και *KLK8*, με συμβατική και με ποσοτική PCR και έγινε ποσοτικοποίηση τους σε ιστούς μαστού και προστάτη.

Δ7: Πραγματοποιήθηκε *in silico* εντοπισμός των επιθυμητών miRNAs και αναπτύχθηκαν μεθοδολογίες ποσοτικοποίησής τους σε ιστούς μαστού και προστάτη.

Δ8: Πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στη βιωσιμότητα επιλεγμένων καρκινικών σειρών προστάτη και μαστού. Προσδιορίστηκαν οι αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης mRNA για συγκεκριμένα μετάγραφα γονιδίων σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα επώασης.

Δ9: Ξεκίνησε η συνδυαστική βιοστατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, η συσχέτιση των επιπέδων έκφρασης mRNA-miRNA σε ιστούς προστάτη και μαστού, καθώς και η συσχέτιση των επιπέδων έκφρασης με εκτενή δεδομένα παρακολούθησης της πορείας των ασθενών.

➤ Από τη μέχρι τώρα έρευνα προέκυψαν 6 δημοσιεύσεις (total IF=28,0) σε επιστημονικά περιοδικά με κριτές, καθώς και παρουσιάσεις σε διεθνή και ελληνικά συνέδρια.

Σύντομη Περιγραφή των Προγραμματισμένων Εργασιών για την επόμενη Περίοδο
Αναφοράς: 01/07/15 - 30/11/2015

Δ1: Συνέχιση του συντονισμού του έργου και ενεργειών που αιτούνται για την επιτυχή ολοκλήρωση του έργου.

Δ3: Θα ολοκληρωθούν τα επαναληπτικά πειράματα καθώς και η εφαρμογή της μεθόδου σε καρκινικά κύτταρα μαστού και προστάτη.

Δ6: Θα ολοκληρωθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός της έκφρασης των μεταγράφων των μελετώμενων γονιδίων σε ιστούς μαστού και προστάτη.

Δ7: Θα ολοκληρωθεί η ποσοτικοποίηση των επιλεγμένων miRNAs που στοχεύουν τα υπό μελέτη γονίδια σε δείγματα ιστών προστάτη και μαστού και θα διερευνηθεί η κλινική τους αξία σε στατιστικά σημαντικό, αριθμό δειγμάτων.

Δ8: Θα ολοκληρωθεί η μελέτη επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στα επίπεδα έκφρασης mRNA σε καρκινικές σειρές μαστού και προστάτη σε διαφορετικά χρονικά σημεία επώασης και σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Δ9: Θα ολοκληρωθεί η εκτενής βιοστατιστική ανάλυση και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

➤ Θα ολοκληρωθεί η δημοσίευση των αποτελεσμάτων σχετικά με την προγνωστική αξία των γονιδίων στον καρκίνο του μαστού και του προστάτη σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με κριτές καθώς και σε επιστημονικά συνέδρια.

Σύντομη Περιγραφή Συνολικής Προόδου Φυσικού Αντικειμένου από την έναρξη του έργου μέχρι τις 31/12/2014

Δ1: Συντονισμός του έργου. Προκηρύξεις και επιλογή εξωτερικών επιστημονικών συνεργατών. Ολοκλήρωση μειοδοτικού διαγωνισμού για προμήθεια μικροεξοπλισμού, και διεθνούς διαγωνισμού για την προμήθεια αναλωσίμων στο Υποέργο 2. Πραγματοποιήθηκαν επισκέψεις του μετακαλούμενου ερευνητή συνολικής διάρκειας 2,5 μηνών.

Δ2: Ολοκληρώθηκε.

Δ3: Ολοκληρώθηκε η παρασκευή εσωτερικών προτύπων, ο σχεδιασμός ανιχνευτών και η σύζευξη τους με φθορίζοντα μικροσφαιρίδια. Βρίσκονται σε εξέλιξη τα πειράματα υβριδοποίησης των μοριακών ανιχνευτών. Συνεχίζεται η βελτιστοποίηση ταυτόχρονης πολλαπλής PCR και ξεκίνησε ο σχετικός έλεγχος ποιότητας.

Δ4/5: Έγινε συλλογή ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και προστάτη καθώς και ενημερώθηκε η βάση κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών και δεδομένων ανταπόκρισης στη θεραπεία. Έγινε απομόνωση RNA και παρασκευή cDNA. Πραγματοποιήθηκε επιτυχής ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNA των *KLK7*, *KLK8*, *KLK11*, *KLK13*, *KLK15*, *BCL2L12*, *RNASEK*, *DDC*. Συνεχίζεται η ποσοτικοποίηση σε μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων.

Δ6: Βελτιστοποιήθηκαν οι συνθήκες προσδιορισμού της έκφρασης των μεταγράφων του γονιδίου *BCL2L12* με συμβατική και με ποσοτική PCR και ξεκίνησε η ποσοτικοποίηση τους σε ιστούς μαστού και προστάτη.

Δ7: Πραγματοποιήθηκε *in silico* εντοπισμός των επιθυμητών miRNAs και αναπτύχθηκαν μεθοδολογίες ποσοτικοποίησης. Πραγματοποιήθηκε αρχικός έλεγχος ποιότητας και ανάλυση των miR-375, -218, -224, -378, -331, -141 (KLK-targeting), -145 (DDC, KLK-targeting) και -182 (*BCL2L12*-targeting) σε ιστούς προστάτη.

Δ8: Πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στη βιωσιμότητα επιλεγμένων καρκινικών σειρών προστάτη και μαστού. Προσδιορίστηκαν αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης mRNA για συγκεκριμένα γονίδια σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα επώασης.

Από τη μέχρι τώρα έρευνα προέκυψαν 4 πρωτότυπες δημοσιεύσεις σε επιστημονικά περιοδικά με κριτές, καθώς και παρουσιάσεις σε διεθνή και ελληνικά συνέδρια.

Σύντομη Περιγραφή των Προγραμματισμένων Εργασιών για την επόμενη Περίοδο
Αναφοράς: 01/01/15 - 30/06/2015

Δ1: Συνέχιση του συντονισμού του έργου. Διενέργεια μειοδοτικού διαγωνισμού για την προμήθεια εργαστηριακών αναλωσίμων τελικών πειραμάτων τα οποία δεν κατακυρώθηκαν στο διαγωνισμό του Υποέργου 2.

Δ3: Θα ολοκληρωθεί ο έλεγχος ποιότητας, με την προμήθεια αντιδραστηρίων εργαστηρίου μέσω του Υποέργου 2, της multianalyte μεθόδου και θα υπολογιστούν τα όρια ποσοτικοποίησης για κάθε ένα από τα προϊόντα ενίσχυσης DNA. Θα ξεκινήσει η εφαρμογή της μεθόδου σε καρκινικά κύτταρα προστάτη.

Δ4/5: Θα ολοκληρωθεί η συλλογή ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο προστάτη και η ενημέρωση της βάσης κλινικοπαθολογικών δεδομένων. Μέσω προμήθειας αντιδραστηρίων από το Υποέργο 2 θα γίνει απομόνωση RNA, παρασκευή cDNA και ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNA των υπό μελέτη γονιδίων στο σύνολο των προαναφερθέντων δειγμάτων (>300 δείγματα).

Δ6: Θα ολοκληρωθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός της έκφρασης των μεταγράφων του γονιδίου *BCL2L12* σε ιστούς μαστού και προστάτη. Θα ξεκινήσει η βελτιστοποίηση των συνθηκών προσδιορισμού έκφρασης μεταγράφων των γονιδίων των καλλικρεϊνών και *DDC*.

Δ7: Θα συνεχιστεί η ποσοτικοποίηση επιπλέον επιλεγμένων miRNAs που στοχεύουν τα υπό μελέτη γονίδια σε δείγματα ιστών προστάτη και μαστού και θα διερευνηθεί η κλινική τους αξία σε μεγάλο, στατιστικά σημαντικό, αριθμό δειγμάτων.

Δ8: Θα συνεχιστεί η μελέτη επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στα επίπεδα έκφρασης mRNA σε καρκινικές σειρές μαστού και προστάτη σε διαφορετικά χρονικά σημεία επώασης.

Δ9: Θα ξεκινήσει η εκτενής βιοστατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, η συσχέτιση των επιπέδων έκφρασης mRNA-miRNA σε ιστούς προστάτη και μαστού, καθώς και η συσχέτιση των επιπέδων έκφρασης με εκτενή δεδομένα παρακολούθησης της πορείας των ασθενών.

➤ Θα ολοκληρωθούν τα απαιτούμενα πειράματα ώστε να σταλούν για δημοσίευση συνδυαστικά αποτελέσματα σχετικά με την προγνωστική αξία των γονιδίων στον καρκίνο του μαστού και του προστάτη σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με κριτές καθώς και σε συνέδρια.

Σύντομη Περιγραφή Συνολικής Προόδου Φυσικού Αντικειμένου από την έναρξη του έργου μέχρι τις 30/06/2014

Δ1: Συντονισμός του έργου. Προκηρύξεις και επιλογή εξωτερικών επιστημονικών συνεργατών. Μειοδοτικοί διαγωνισμοί για προμήθεια μικροεξοπλισμού και αναλωσίμων.

Δ2: Ολοκληρώθηκε.

Δ3: Ολοκληρώθηκε η παρασκευή εσωτερικών προτύπων, ο σχεδιασμός ανιχνευτών και η σύζευξη τους με φασματικώς διακριτά φθορίζοντα μικροσφαιρίδια. Ολοκληρώθηκαν τα πειράματα υβριδοποίησης και εξειδίκευσης των μοριακών ανιχνευτών. Ξεκίνησε η ανάπτυξη multianalyte μεθόδου υβριδοποίησης και η βελτιστοποίηση ταυτόχρονης πολλαπλής PCR.

Δ4/5: Έγινε συλλογή ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και προστάτη καθώς και ενημερώθηκε η βάση κλινικοπαθολογικών δεδομένων. Έγινε απομόνωση RNA και παρασκευή cDNA. Πραγματοποιήθηκε η ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNA των *KLK11*, *KLK13*, *KLK15*, *BCL2L12*, *RNASEK*, *DDC*, και συνεχίζεται η ποσοτικοποίηση των υπόλοιπων mRNAs.

Δ6: Έγινε συλλογή δειγμάτων ορού αίματος. Ολοκληρώθηκε η βελτιστοποίηση των μεθοδολογιών ανάλυσης πρωτεϊνών (Western και ELISA) και συνεχίστηκαν οι αντίστοιχοι προσδιορισμοί σε βιολογικά δείγματα καρκινοπαθών μαστού και προστάτη.

Δ7: Πραγματοποιήθηκε *in silico* εντοπισμός των επιθυμητών miRNAs και αναπτύχθηκαν μεθοδολογίες ποσοτικοποίησης. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση των miR-375, -218, -224, -378, (KLK-targeting) και -145 (DDC, KLK-targeting) σε ιστούς προστάτη. Συνεχίζεται η ποσοτικοποίηση επιπλέον miRNAs σε δείγματα ιστών μαστού και προστάτη. Ολοκληρώθηκε η βελτιστοποίηση προσδιορισμού miRNAs σε βιολογικά υγρά. Ξεκίνησε η πειραματική επαλήθευση της στόχευσης από συγκεκριμένα miRNAs.

Δ8: Πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στη βιωσιμότητα των καρκινικών σειρών προστάτη και μαστού. Προσδιορίστηκαν αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης (mRNA ή/και πρωτεΐνης) για συγκεκριμένα γονίδια. Συνεχίζεται η μελέτη της στοχευμένης γονιδιακής αποσιώπησης στην ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία.

➤ Δημοσιεύτηκαν 4 εργασίες σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά και έγιναν ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια. Πραγματοποιήθηκαν 2 επισκέψεις του μετακαλούμενου ερευνητή.

Σύντομη Περιγραφή των Προγραμματισμένων Εργασιών για την επόμενη Περίοδο

Αναφοράς: 01/07/14 - 31/12/2014

Δ1: Συνέχιση του συντονισμού και της παρακολούθησης της προόδου του έργου. Ολοκλήρωση διεθνούς διαγωνισμού για την προμήθεια αναλωσίμων.

Δ3: Θα ολοκληρωθούν τα πειράματα ανάπτυξης multianalyte μεθόδου υβριδοποίησης και θα συνεχιστεί η βελτιστοποίηση της ταυτόχρονης πολλαπλής PCR. Θα ξεκινήσει ο έλεγχος ποιότητας και η ποσοτικοποίηση σε βιολογικά δείγματα μέσω της νεοαναπτυχθείσας μεθόδου.

Δ4/5: Θα συνεχιστεί η συλλογή καρκινικών και μη καρκινικών ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο προστάτη, καθώς και η ενημέρωση της βάσης κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών και δεδομένων ανταπόκρισης στη θεραπεία. Θα συνεχιστεί η απομόνωση ολικού RNA, η παρασκευή cDNA και η ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNAs των υπό μελέτη γονιδίων στα προαναφερθέντα δείγματα.

Δ6: Θα συνεχιστεί η ποσοτικοποίηση των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα υπό μελέτη γονίδια, σε βιολογικά δείγματα καρκινοπαθών μαστού και προστάτη.

Δ7: Θα συνεχιστεί η ποσοτικοποίηση των επιλεγμένων miRNAs που στοχεύουν τα υπό μελέτη γονίδια σε δείγματα ιστών προστάτη και μαστού. Θα ξεκινήσει η ποσοτικοποίηση των miRNAs σε βιολογικά υγρά. Θα συνεχιστεί η πειραματική επαλήθευση της στόχευσης των υπό μελέτη γονιδίων από συγκεκριμένα miRNAs.

Δ8: Θα ολοκληρωθεί η μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στα επίπεδα έκφρασης (mRNA ή/και πρωτεΐνης) σε καρκινικές σειρές προστάτη. Θα συνεχιστεί η μελέτη της στοχευμένης γονιδιακής αποσιώπησης στη μεταβολή της ανταπόκρισης των καρκινικών κυτταρικών σειρών στη χημειοθεραπεία.

➤ Θα ολοκληρωθεί η δημοσίευση δύο άρθρων σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με κριτές: ενός σχετικά με το ρόλο των KLKs ως πολλά υποσχόμενων πάνελ καρκινικών δεικτών, καθώς και ενός άρθρου σχετικά με την κλινική αξία του miR-378 στον καρκίνο του προστάτη. Θα υποβληθεί ένα άρθρο σχετικά με την ανάλυση της έκφρασης του γονιδίου *BCL2L12* ως νέου προγνωστικού δείκτη στον καρκίνο του μαστού. Σχεδιάζεται η υποβολή επιπλέον εργασιών σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά και συνέδρια.

Σύντομη Περιγραφή Συνολικής Προόδου Φυσικού Αντικειμένου από την έναρξη του έργου μέχρι τις 31/12/2013

Δ1: Συντονισμός του έργου. Προκηρύξεις και επιλογή εξωτερικών επιστημονικών συνεργατών. Μειοδοτικοί διαγωνισμοί για την προμήθεια μικροεξοπλισμού και αναλωσίμων εργαστηρίου.

Δ2: Ολοκληρώθηκε.

Δ3: Ολοκληρώθηκε η παρασκευή εσωτερικών προτύπων και ο *in silico* σχεδιασμός ολιγονουκλεοτιδίων ανιχνευτών. Ολοκληρώθηκαν τα πειράματα σύζευξης ολιγονουκλεοτιδίων-ανιχνευτών με φασματικώς διακριτά φθορίζοντα μικροσφαιρίδια. Τα πειράματα υβριδοποίησης και η μελέτη εξειδίκευσης των μοριακών ανιχνευτών βρίσκονται υπό εξέλιξη.

Δ4/5: Έγινε συλλογή ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και προστάτη καθώς και ενημερώθηκε η βάση κλινικοπαθολογικών δεδομένων. Έγινε απομόνωση RNA και παρασκευή cDNA. Πραγματοποιήθηκε η ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNA του *KLK15*, *BCL2L12*, *RNASEK*, *DDC*, και συνεχίζεται η ποσοτικοποίηση των mRNAs των υπόλοιπων γονιδίων.

Δ6: Έγινε συλλογή δειγμάτων ορού αίματος από ασθενείς και υγιείς δότες. Ολοκληρώθηκε η βελτιστοποίηση των μεθοδολογιών ανάλυσης πρωτεϊνών (Western και ELISA) και ξεκίνησαν οι αντίστοιχοι προσδιορισμοί.

Δ7: Πραγματοποιήθηκε *in silico* εντοπισμός των miRNAs που στοχεύουν τα υπό μελέτη γονίδια και αναπτύχθηκαν μεθοδολογίες ποσοτικοποίησης τους. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση των miR-224, miR-378 (KLK-targeting) και miR-145 (DDC, KLK-targeting) σε ιστούς προστάτη. Συνεχίζεται η ποσοτικοποίηση επιπλέον miRNAs σε δείγματα ιστών μαστού και προστάτη. Ολοκληρώνεται η βελτιστοποίηση προσδιορισμού miRNAs σε βιολογικά υγρά.

Δ8: Πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στη βιωσιμότητα των καρκινικών σειρών προστάτη και μαστού. Προσδιορίστηκαν αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης για συγκεκριμένα από τα υπό μελέτη γονίδια. Ξεκίνησε η μελέτη της στοχευμένης γονιδιακής αποσιώπησης στην ανταπόκριση των καρκινικών κυττάρων στη χημειοθεραπεία.

➤ Δημοσιεύτηκαν 3 εργασίες σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά και έγιναν αντίστοιχες ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια. Πραγματοποιήθηκαν 2 επισκέψεις του μετακαλούμενου ερευνητή.

Σύντομη Περιγραφή των Προγραμματισμένων Εργασιών για την επόμενη Περίοδο

Αναφοράς: 01/01/14 - 30/06/2014

Δ1: Συνέχιση του συντονισμού, της διασφάλισης της ποιότητας και της παρακολούθησης της προόδου του έργου.

Δ3: Θα ολοκληρωθούν τα πειράματα υβριδοποίησης για τον προσδιορισμό των προϊόντων PCR με τη χρήση κατάλληλων συζευγμένων μικροσφαιριδίων. Θα ολοκληρωθεί η μελέτη εξειδίκευσης των μοριακών ανιχνευτών. Θα ξεκινήσει η ανάπτυξη πολυαναλυτικής (multianalyte) μεθόδου υβριδοποίησης και η βελτιστοποίηση συνθηκών για ταυτόχρονη πολλαπλή PCR.

Δ4/5: Θα συνεχιστεί η συλλογή καρκινικών και μη καρκινικών ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο προστάτη, καθώς και η ενημέρωση της βάσης κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών και δεδομένων ανταπόκρισης στη θεραπεία. Θα συνεχιστεί η απομόνωση ολικού RNA, η παρασκευή cDNA και η ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNAs των υπό μελέτη γονιδίων στα προαναφερθέντα δείγματα.

Δ6: Θα συνεχιστεί η ποσοτικοποίηση των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα υπό μελέτη γονίδια, σε βιολογικά δείγματα καρκινοπαθών μαστού και προστάτη.

Δ7: Θα συνεχιστεί η ποσοτικοποίηση των επιλεγμένων miRNAs που στοχεύουν τα υπό μελέτη γονίδια σε δείγματα ιστών προστάτη και μαστού. Θα ολοκληρωθεί η βελτιστοποίηση των μεθόδων ποσοτικοποίησης των miRNAs σε βιολογικά υγρά. Θα ξεκινήσει η πειραματική επαλήθευση της στόχευσης των υπό μελέτη γονιδίων από συγκεκριμένα miRNAs.

Δ8: Θα συνεχιστεί η μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στα επίπεδα έκφρασης (mRNA ή/και πρωτεΐνης) σε καρκινικές σειρές προστάτη και μαστού. Θα συνεχιστεί η μελέτη της στοχευμένης γονιδιακής αποσιώπησης στην ανταπόκριση των καρκινικών κυτταρικών σειρών μαστού και προστάτη στη χημειοθεραπεία.

➤ Θα πραγματοποιηθεί η δημοσίευση ενός άρθρου σχετικά με το ρόλο των KLKs ως φαρμακευτικών στόχων στον καρκίνο, καθώς και η υποβολή ενός άρθρου σχετικά με την ανάλυση της έκφρασης και την κλινική αξία του miR-378 στον καρκίνο του προστάτη, σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με κριτές. Σχεδιάζεται η υποβολή επιπλέον εργασιών σε διεθνή επιστημονικά συνέδρια και περιοδικά.

Σύντομη Περιγραφή Συνολικής Προόδου Φυσικού Αντικειμένου από την έναρξη του έργου μέχρι τις 30/6/13

Δ1: Συντονισμός του έργου. Προκηρύξεις και επιλογή εξωτερικών επιστημονικών συνεργατών. Μειοδοτικοί διαγωνισμοί. Συντονισμός των ερευνητικών ομάδων.

Δ2: Ολοκληρώθηκε.

Δ3: Ολοκληρώθηκε η παρασκευή εσωτερικών προτύπων και ο *in silico* σχεδιασμός ολιγονουκλεοτιδίων ανιχνευτών. Ξεκίνησαν τα πειράματα σύζευξης ολιγονουκλεοτιδίων-ανιχνευτών με φασματικώς διακριτά φθορίζοντα μικροσφαιρίδια και η ανάπτυξη μεθόδων υβριδοποίησης για τον προσδιορισμό των προϊόντων PCR.

Δ4/5: Έγινε συλλογή ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο προστάτη καθώς και η ενημέρωση της βάσης κλινικοπαθολογικών δεδομένων. Έγινε απομόνωση ολικού RNA και η παρασκευή cDNA από τα προαναφερθέντα δείγματα. Ολοκληρώθηκε η ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNA του *KLK15* και συνεχίζεται η ποσοτικοποίηση των mRNAs των υπόλοιπων γονιδίων.

Δ6: Έγινε συλλογή δειγμάτων ορού αίματος από ασθενείς με καρκίνο μαστού και προστάτη και από υγιείς δότες. Ξεκίνησε η βελτιστοποίηση μεθοδολογιών ανάλυσης πρωτεϊνών μέσω των μεθοδολογιών Western και ELISA.

Δ7: Πραγματοποιήθηκε *in silico* εντοπισμός των miRNAs που στοχεύουν τα υπό μελέτη γονίδια και αναπτύχθηκαν μεθοδολογίες ποσοτικοποίησης τους. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση και κλινική αξιολόγηση των επιπέδων έκφρασης των miR-224 (KLK-targeting) και miR-145 (DDC-targeting) σε ιστούς προστάτη. Τα αποτελέσματα του miR-224 δημοσιεύτηκαν στο διεθνές επιστημονικό περιοδικό *Clinical Chemistry* (59:1, 261–269, 2013).

Δ8: Πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων σε καρκινικές σειρές προστάτη και μαστού με τις μεθόδους MTT και Trypan Blue. Μελετήθηκαν αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης για συγκεκριμένα από τα υπό μελέτη γονίδια σε επίπεδο mRNA ή/και πρωτεΐνης μετά την επίδραση των αντικαρκινικών ουσιών.

➤ Δημοσιεύτηκε 1 εργασία σε διεθνές επιστημονικό περιοδικό και έγιναν ανακοινώσεις επιστημονικά συνέδρια. Πραγματοποιήθηκαν επισκέψεις του μετακαλούμενου ερευνητή και υπήρξε εποικοδομητική συνεργασία.

Σύντομη Περιγραφή των Προγραμματισμένων Εργασιών για την επόμενη Περίοδο
Αναφοράς: 01/07/13 - 31/12/13

Δ1: Συνέχιση του συντονισμού, της διασφάλισης της ποιότητας και της παρακολούθησης της προόδου του έργου. Θα κατατεθεί η ενδιάμεση έκθεση προόδου.

Δ3: Θα ολοκληρωθούν τα πειράματα σύζευξης ολιγονουκλεοτιδίων-ανιχνευτών (probes) με φασματικώς διακριτά φθορίζοντα μικροσφαιρίδια. Θα συνεχιστούν τα πειράματα υβριδοποίησης για τον προσδιορισμό των προϊόντων PCR στόχων και των αντίστοιχων εσωτερικών προτύπων, με τη χρήση κατάλληλων συζευγμένων μικροσφαιριδίων, παράλληλα με τη μελέτη εξειδίκευσης των μοριακών ανιχνευτών.

Δ4/5: Θα συνεχιστεί η συλλογή καρκινικών και μη καρκινικών ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο προστάτη, καθώς και η ενημέρωση της βάσης κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών και δεδομένων ανταπόκρισης στη θεραπεία. Θα συνεχιστεί η απομόνωση ολικού RNA, η παρασκευή cDNA και η ποσοτικοποίηση των επιπέδων mRNAs των υπό μελέτη γονιδίων στα προαναφερθέντα δείγματα.

Δ6: Θα ολοκληρωθεί η βελτιστοποίηση μεθοδολογιών ανάλυσης πρωτεϊνών Western και ELISA. Θα ξεκινήσει η ποσοτικοποίηση των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα υπό μελέτη γονίδια, σε βιολογικά δείγματα καρκινοπαθών μαστού και προστάτη.

Δ7: Θα συνεχιστεί η ποσοτικοποίηση των επιλεγμένων miRNAs που στοχεύουν τα υπό μελέτη γονίδια σε δείγματα ιστών προστάτη και μαστού. Θα ξεκινήσει η βελτιστοποίηση των μεθόδων ποσοτικοποίησης των miRNAs σε βιολογικά υγρά.

Δ8: Θα συνεχιστεί η μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων στα επίπεδα έκφρασης (mRNA ή/και πρωτεΐνης) σε καρκινικές σειρές προστάτη και μαστού. Θα ξεκινήσει η μελέτη της στοχευμένης γονιδιακής αποσιώπησης στην ανταπόκριση των καρκινικών κυτταρικών σειρών μαστού και προστάτη στη χημειοθεραπεία.

➤ Θα πραγματοποιηθεί η ολοκλήρωση δύο νέων δημοσιεύσεων, σχετικά με την κλινική αξιολόγηση του miR-145 και του γονιδίου *KLK15* στον καρκίνο του προστάτη, σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με κριτές. Επίσης, σχεδιάζεται η συγγραφή και η αποστολή εργασιών σε διεθνή επιστημονικά συνέδρια.

Σύντομη Περιγραφή Συνολικής Προόδου Φυσικού Αντικειμένου μέχρι 31/12/12 (έως 2000 ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ με τα κενά)

Παρατίθεται συνοπτικά η πρόοδος του φυσικού αντικειμένου ανά δράση υλοποίησης:

Δ1: Συντονισμός, διασφάλιση της ποιότητας και παρακολούθηση της προόδου του έργου, πραγματοποίηση μελετών αγοράς για τη διενέργεια μειοδοτικών διαγωνισμών για την προμήθεια εργαστηριακού μικροεξοπλισμού και αναλωσίμων εργαστηρίου. Πραγματοποιήθηκαν προκηρύξεις και έγινε επιλογή εξωτερικών επιστημονικών συνεργατών σύμφωνα με το τεχνικό δελτίο.

Δ2: Πραγματοποιήθηκε σχεδιασμός και σύνθεση των ειδικών εκκινητών-ιχνηθετών για τις κλασικές mRNA ισομορφές των υπό μελέτη γονιδίων. Πραγματοποιήθηκε βελτιστοποίηση των χαρακτηριστικών της μεθόδου ποσοτικοποίησης της πλειονότητας των mRNA των υπό μελέτη γονιδίων και των γονιδίων αναφοράς.

Δ3: Ξεκίνησε η παρασκευή συνθετικών εσωτερικών προτύπων καθώς και ο *in silico* σχεδιασμός ολιγονουκλεοτιδίων ανιχνευτών για τα υπό μελέτη γονίδια.

Δ4/5: Έγινε συλλογή ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και προστάτη καθώς και η κατασκευή εκτενούς βάσης κλινικοπαθολογικών δεδομένων. Ξεκίνησε η απομόνωση, ο καθαρισμός ολικού RNA και η παρασκευή cDNA από τα δείγματα ιστών.

Δ6: Έγινε συλλογή δειγμάτων ορού από ασθενείς με καρκίνο μαστού και προστάτη. Ξεκίνησε η παραγωγή και ο έλεγχος κατάλληλων πολυκλωνικών αντισωμάτων έναντι των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα υπό μελέτη γονίδια.

Δ7: Πραγματοποιήθηκε *in silico* εντοπισμός των miRNAs που στοχεύουν ορισμένα από τα υπό μελέτη γονίδια. Πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη μεθόδου ποσοτικοποίησης μέσω πολυαδενυλίωσης-PCR σε πραγματικό χρόνο και ποσοτικοποίηση του miR-224 σε ιστούς προστάτη.

Δ8: Πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια καρκινικών κυτταρικών σειρών προστάτη και μαστού και μια αρχική μελέτη της επίδρασης συγκεκριμένων αντικαρκινικών φαρμάκων σε αυτές με τις μεθόδους MTT-Trypan Blue.

➤ Τα πρώτα αποτελέσματα ανακοινώθηκαν σε επιστημονικά συνέδρια. Πραγματοποιήθηκαν επισκέψεις (συνολικά 27 ημερών) του μετακαλούμενου ερευνητή Prof E.P. Diamandis και υπήρξε εποικοδομητική συνεργασία.

Σύντομη Περιγραφή των Προγραμματισμένων Εργασιών για την επόμενη Περίοδο

Αναφοράς: 1/1/13 - 30/6/13 (έως 2000 ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ με τα κενά)

Δ1: Συνέχιση του συντονισμού, της διασφάλισης της ποιότητας και της παρακολούθησης της προόδου του έργου.

Δ2: Θα ολοκληρωθεί η βελτιστοποίηση της ποσοτικής PCR για το σύνολο των γονιδίων. Θα πραγματοποιηθούν πειράματα έλεγχου ποιότητας και θα ολοκληρωθεί η δράση με την κατάθεση του πρωτοκόλλου βελτιστοποίησης-αναφοράς σχετικά με τον ποιοτικό έλεγχο (παραδοτέο Δ2).

Δ3: Θα ολοκληρωθεί η παρασκευή συνθετικών εσωτερικών προτύπων και ο *in silico* σχεδιασμός ολιγονουκλεοτιδίων ανιχνευτών και θα ξεκινήσουν τα πειράματα σύζευξης ολιγονουκλεοτιδίων-ανιχνευτών (probes) με φασματικώς διακριτά φθορίζοντα μικροσφαιρίδια.

Δ4/5: Θα συνεχιστεί η συλλογή καρκινικών και μη καρκινικών ιστών από ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο μαστού και ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο προστάτη καθώς και η ενημέρωση της βάσης κλινικοπαθολογικών δεδομένων. Θα συνεχιστεί η απομόνωση ολικού RNA και η παρασκευή cDNA από καρκινικά και μη καρκινικά δείγματα ιστών ασθενών με καρκίνο μαστού και προστάτη και θα γίνει ποσοτικοποίηση των mRNAs.

Δ6: Θα συνεχιστεί η συλλογή δειγμάτων ορού αίματος από ασθενείς με καρκίνο μαστού και προστάτη και από υγιείς δότες και θα ξεκινήσει η βελτιστοποίηση μεθοδολογιών ανάλυσης πρωτεϊνών με ανοσοστύπωση Western για την ανίχνευση των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα υπό μελέτη γονίδια, σε βιολογικά δείγματα καρκινοπαθών μαστού και προστάτη.

Δ7: Θα συνεχιστεί ο *in silico* εντοπισμός των miRNAs που στοχεύουν τα υπό μελέτη γονίδια. Θα συνεχιστεί η ανάπτυξη μεθόδων ποσοτικοποίησης σε δείγματα ιστών προστάτη και μαστού για τα miRNAs που θα εντοπιστούν.

Δ8: θα συνεχιστεί η μελέτη της επίδρασης αντικαρκινικών φαρμάκων σε καρκινικές σειρές προστάτη και μαστού με τις μεθόδους MTT και Trypan Blue.

➤ Σχεδιάζεται η συγγραφή και η δημοσίευση αποτελεσμάτων που θα προκύψουν σε διεθνές επιστημονικό περιοδικό με κριτές.