

Príloha č. 2 Zmluvy o poskytnutí prostriedkov mechanizmu

OPIS PROJEKTU

Opis projektu pre účel výzvy s kódom 09I03-03-V04 „Štipendia pre excelentných výskumníkov a výskumníčky R2-R4“.

I. Všeobecné informácie o projekte	
Názov projektu:	Pochopenie úlohy alternatívneho spájania pri rezistencii na cisplatinu.
Akronym projektu:	CISplice
Kód projektu:	09I03-03-V04-00430
Názov programu:	Plán obnovy a odolnosti SR
Komponent:	9. Efektívnejšie riadenie a posilnenie financovania výskumu, vývoja a inovácií Plánu obnovy a odolnosti Slovenskej republiky
Investícia:	3. Excelentná veda
Schéma pomoci	Neuplatňuje sa
Anotácia projektu	<i>Cisplatina patrí medzi vysoko účinné širokospektrálne chemoterapeutiká. Získaná rezistencia je hlavnou príčinou zlyhania terapie u pôvodne citlivých nádorov semenníkov tvorených zárodočnými bunkami (TGCTs). Aberantný alternatívny zostrih (AZ) molekuly pre-mRNA je sprievodným javom pri vývoji nádorov, progresii, metastázovaní a pravdepodobne zohrávajú úlohu aj pri vzniku rezistencie. Napriek pokroku technológii RNA-sekvenovania, zostáva úloha AZ vo vývoji chemorezistencie naďalej nedostatočne preskúmaná. Cieľom projektu je identifikácia biomarkerov (varianty AZ), ktoré sú schopné predikovať citlivosť na cisplatinu u TGCTs a pochopiť úlohu AZ vo vývoji rezistencie. Pomocou sekvenovania transkriptómu a in silico analýzy dát budú definované AZ charakteristik rezistentného fenotypu a taktiež bude študovaný aj vplyv AZ na expresiu génov a proteínových izoform. Na stanovenie vplyvu AZ na prežívanie buniek po terapii, budú využité inhibitory zostrihu a gene silencing regulátorov zostrihu.</i>
II. Harmonogram projektu	
Začiatok realizácie Projektu (MM/RRRR)	09/2024
Ukončenie vecnej realizácie Projektu (MM/RRRR)	06/2026
III. Pracovné balíky projektu	
Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	1. Kultivácia buniek a liečba cisplatinou
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M1
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M20
Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	2. Analýza aberantných ASE
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M4
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M8
Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	3. Overovanie aberantných ASE
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M8
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M11

Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	4. Overenie vplyvu aberácií pri spájaní na reguláciu expresie génov										
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M11										
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M15										
Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	5. Overenie vplyvu aberácií pri spájaní na expresiu izoforiem proteínov										
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M14										
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M17										
Poradové číslo a názov pracovného balíka (PB)	6. Hodnotenie úlohy pre-mRNA splicingu v citlivosti na cisplatinu										
Začiatok realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M16										
Koniec realizácie PB (mesiac projektu – Mx)	M22										
IV. Cieľ projektu a výstupy projektu											
Cieľ projektu	<p>Vďaka rýchlemu pokroku v technológiách sekvenovania RNA sa identifikoval rastúci počet biomarkerov a znakov génovej expresie súvisiacich s prognózou pacientov s rakovinou. Väčšina analýz transkriptómu však ignorovala rozmanitosť transkriptov vytvorených z jedného génu alternatívnym zostrihom (AS) pre-mRNA. Aberantný AS je bežnou udalosťou pri vývoji rakoviny, progresii, metastázovaní a prispieva k rezistencii na chemoterapiu. Poznanie citlivosti daného nádoru na liečivo pre konkrétnu látku by mohlo významne ovplyvniť terapeutické rozhodovanie a plánovanie liečby. Spomedzi rôznych chemoterapeutík je cisplatinu jedným z najúčinnjších širokospektrálnych protinádorových liekov. Rezistencia na cisplatinu, buď vnútorná, alebo získaná pri dlhodobej expozícii lieku, je hlavným dôvodom zlyhania liečby pri vnútorne citlivých nádoroch zárodočných buniek semenníkov (TGCT). In silico analýza verejne dostupných transkriptomických údajov ukázala, že preskok exónu a zadržanie intronu sú najčastejšie AS udalosti v nádorových bunkách po chemoterapii poškodzujúcej DNA. Retencia intrónov, ktorá sa pôvodne považovala za neproduktívnu, prispieva k plasticite transkriptómu (niekoľko izoforiem proteínov) a regulácii génovej expresie pomocou rozpadu sprostredkovaného nezmyslom (NMD) počas bunkovej adaptácie. Napriek nedávnym pokrokom v detekcii aberantných AS zostáva príspevok AS k rezistencii na cisplatinu nedostatočne pochopený. Doteraz je k dispozícii len veľmi málo štúdií, ktoré opisujú úlohu AS preprogramovania v bunkách rezistentných na cisplatinu odvodených od TGCT. CISsplice je zameraný na pochopenie úlohy pre-mRNA splicingu v rezistencii na cisplatinu porovnaním AS udalostí v bunkových línách citlivých na cisplatinu a ich rezistentných subklónoch. Na riešenie tohto všeobecného cieľa navrhujem nasledujúce výskumné ciele:</p> <p>Cieľ 1. Určenie charakteristík AS fenotypu rezistentného na cisplatinu Cieľ 2. Vyhodnotenie vplyvu aberantného spájania na expresiu génov Cieľ 3. Zhodnotenie úlohy pre-mRNA zostrihu pri citlivosti na cisplatinu Určenie AS charakteristiky fenotypu rezistentného na cisplatinu by mohlo pomôcť predpovedať chemoreakciu u TGCT a prispôbiť klinický manažment pacientov s rakovinou.</p>										
Výstupy projektu	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Číslo výstupu</th> <th>Výstup</th> <th>Číslo pracovného balíka</th> <th>Typ</th> <th>Prístup a šírenie</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>	Číslo výstupu	Výstup	Číslo pracovného balíka	Typ	Prístup a šírenie					
Číslo výstupu	Výstup	Číslo pracovného balíka	Typ	Prístup a šírenie							

	D1	Profily RNA-seq	WP2	Odvzdávanie databáz	P
	D2	Správa o stave	WP2	Správa	N
	D3	Zoznam vybraných génov	WP2	Zoznam	N
	D4	Priebežná správa	WP3	Správa	N
	D5	Správa o stave	WP4	Správa	N
	D6	Recenzný článok	WP4	Publikácia	P
	D7	Správa o stave	WP5	Správa	N
	D8	Zborník konferencie	z WP5	Posterová prezentácia	P
	D9	Zborník konferencie	z WP6	Ústna prezentácia	P
	D10	Pôvodný vedecký článok	WP6	Publikácia	P
	D11	Záverečná správa	WP6	Správa	N
	D12	Návrh výskumného projektu	WP6	Projekt	N
Milníky projektu	Číslo milníka	Milník	Číslo pracovného balíka	Metóda overovania	
	M1	RNAseq profily	WP2	Predloženie databázy a správa o stave	
	M2	Experimentálne overené ASE	WP3	Priebežná správa	
	M3	Vplyv ASE na expresiu génov	WP4	Správa o stave	
	M4	Vplyv ASE na expresiu izoforiem proteínov	WP5	Správa o stave	
	M5	Vplyv AS na citlivosť na cisplatinu	WP6	Záverečná správa	
V. Informácie o výskumníkovi/výskumníčke					
Identifikácia výskumníka/výskumníčky	Lucia Borszéková Pulzová				
Typ podpory/fáza kariéry	A) Štipendium výskumníka R2				
Vedná oblasť	Prírodné a lekárske vedy				
VI. Rozpočet projektu					
Celková výška oprávnených výdavkov	135 947,90 €				
Výška prostriedkov mechanizmu bez DPH	128 847,58 €				
Výška prostriedkov mechanizmu – na DPH	7 100,32 €				
Prostriedky mechanizmu na mzdové náklady výskumníka	Prostriedky mechanizmu na výskum bez DPH	Prostriedky mechanizmu na výskumný tím	Prostriedky mechanizmu na nepriame náklady bez DPH		
93 346,00 €	23 833,33 €	0,00 €	11 668,25 €		