

Innovazione metodologica per l'identificazione spaziale ad alta definizione di acidi nucleici in-situ

KEYWORDS

- ❑ RNA
- ❑ TRASCRITTOMICA SPAZIALE
- ❑ RISOLUZIONE SPAZIALE
- ❑ SEQUENZIAMENTO ACIDI NUCLEICI
- ❑ RISOLUZIONE A SINGOLA CELLULA

AREA

- ❑ NANO-TECNOLOGIE E MATERIALI

CONTATTI

➤ TELEFONI
+39.06.49910888
+39.06.49910855

➤ EMAIL
u_brevetti@uniroma1.it

Priorità

EP23215037 del 07.12.2023

Tipologia Deposito

Brevetto per invenzione.

Co-Titolarietà

Sapienza Università di Roma 13%, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare 87%

Inventori

Elisabetta Ferretti, Elena Splendiani, Giuseppe Mancino, Nikolaus Rajewsky, Nikos Karaiskos, Marie Scott, Jan Robin Licha.

Settore industriale & commerciale di riferimento

Farmaceutico e biotecnologico. Può essere utilizzato per la profilazione molecolare di target terapeutici.

Stato di sviluppo

Il TRL dell'invenzione è 4.

Disponibile

Ricerca, Sviluppo, Sperimentazione, Collaborazione, Avviamento Impresa

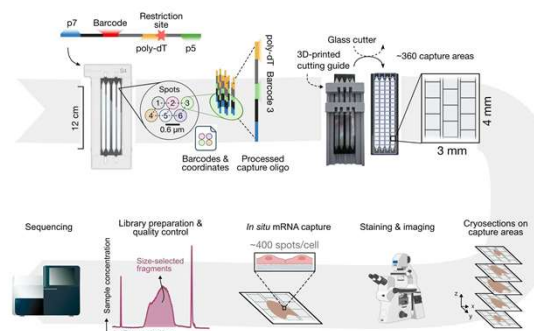


Fig.1 Open-ST è un metodo basato sul sequenziamento che cattura i trascritti di mRNA a risoluzione subcellulare attraverso i tessuti e offre una colorazione H&E integrata dalla stessa sezione di tessuto.

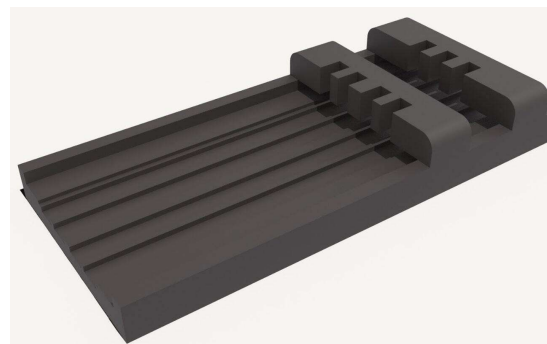


Fig.2 Rappresentazione della guida di taglio stampabile in 3D che facilita la suddivisione della flow-cell in aree di cattura regolari. Le dimensioni dell'area di cattura possono essere regolate entro i limiti delle dimensioni della flow-cell.

Abstract

La trascrittomica spaziale permette di investigare i meccanismi molecolari alla base dello sviluppo dei tessuti o della malattia. Gli attuali tools presenti in commercio risultano essere di difficile utilizzo e molto costosi. Open-ST è un metodo intuitivo, ad alta risoluzione, economico e scalabile in 3D. Open-ST permette di catturare trascritti a risoluzione subcellulare, la diversità delle popolazioni cellulari nello spazio, l'organizzazione e la localizzazione di stati cellulari e hotspot di comunicazione cellula-cellula. Inoltre la ricostruzione 3D del tessuto permette di rivelare strutture spazialmente contigue e potenziali biomarcatori.



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

SETTORE BREVETTI E LICENSING

➤ <http://uniroma1.it/ricerca/brevetti>

CONTATTI

➤ TELEFONI
+39.06.49910888
+39.06.49910855

➤ EMAIL
u_brevetti@uniroma1.it

Descrizione Tecnica

La risoluzione spaziale ottenuta è fino a 0,6 μm grazie all'utilizzo di un area di cattura con struttura regolare generata tramite la tecnologia di sequenziamento Illumina. Il nostro strumento stampabile in 3D facilita il taglio della flow-cell in piccole aree di cattura, prevenendo al contempo a graffi superficiali. La pepsina e il tampone di ibridazione sono stati combinati in un'unica soluzione per promuovere la permeabilizzazione simultanea dei tessuti e la cattura dell'RNA. L'amplificazione della libreria in un unico passaggio previene errori di amplificazione della PCR o le perdite di campione dovute alle purificazioni tra le reazioni PCR. I dati possono essere analizzati a livello di singola cellula e integrati con i dati di colorazione istologica per una ricostruzione spaziale 3D di qualsiasi tessuto.

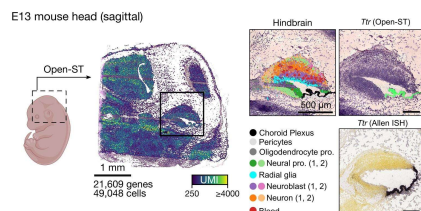


Fig.3. Utilizzo di Open-ST in un embrione di topo E13. In un singolo esperimento, è possibile ottenere 21.609 geni da 49.048 cellule (tessuto di ~ 3x4 mm).

Tecnologia & Vantaggi

Open-ST è un metodo di trascrittomico spaziale per campioni di tessuti congelati freschi che consente di captare filamenti di RNA messaggero a risoluzione subcellulare. Lo strumento stampabile in 3D facilita il taglio della flow-cell in aree di cattura distinte. I metodi per la preparazione di library di RNAs attualmente in commercio risultano essere estremamente difficoltosi da usare nella routine di laboratorio e, cosa più importante, estremamente costosi. Difatti un'analisi standard ha un costo di circa 150 € per un'area di acquisizione totale di 12 mm². Rispetto ad altre tecnologie basate sul sequenziamento, Open-ST permette di ottenere library di RNAs in maniera semplificata e ad un costo più vantaggioso. Inoltre, Open-ST produce immagini istologiche ad alta risoluzione utilizzate per la segmentazione cellulare e le integra con i dati di trascrittomico della stessa sezione.

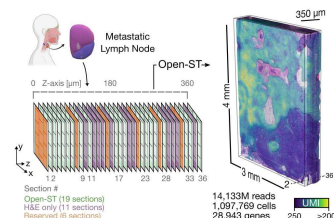


Fig. 4. Rappresentazione in scala 3D di un blocco di tessuto virtuale di un linfonodo metastatico (3x4x0,35 mm).

Applicazioni

Il metodo può essere utilizzato da aziende operanti nel campo farmaceutico e biotecnologico. Può essere utilizzato per la profilazione molecolare di target terapeutici nello spazio tissutale, cruciale per la valutazione di malattie complesse e tessuti normali, per approfondire la funzione e l'organizzazione cellulare.

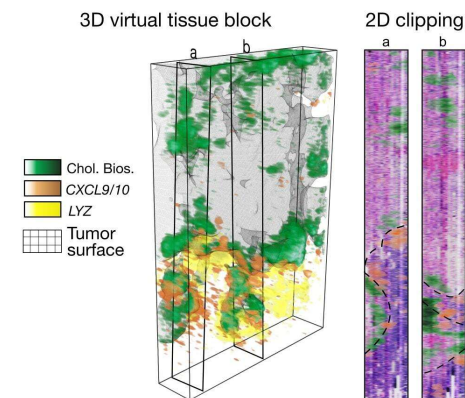


Fig.5. Con la nostra tecnologia, ad esempio, siamo riusciti a trovare un confine 3D unico tra il tumore e il linfonodo nel campione metastatico. Ciò consisteva nell'attività di biosintesi del colesterolo sul lato del tumore e sui macrofagi LYZ/CXCL9/CXCL10 sul lato peri tumorale.



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

SETTORE BREVETTI E LICENSING

➤ <http://uniroma1.it/ricerca/brevetti>