

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.



CENTRUM ONKOLOGII – INSTYTUT
IM. MARII SKŁODOWSKIEJ-CURIE
ODDZIAŁ W GLIWICACH

Posejdon, 44-120 Pyskowice – Dzierżno, ul. Nad Kanałem

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Opracowanie: Magdalena Skonieczna

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

piątek			
16:00-16:30			Powitanie i rejestracja uczestników - przerwa kawowa
16:30-18:30			SESJA 1 Biologia komórki i terapia komórkowa
			Wprowadzenie.
16:30-16:40	Rzeszowska Joanna	Politechnika Śląska	Reaktywne formy tlenu, RNA i mechanizmy regulacyjne
16:40-16:50	Hancock Ronald	Politechnika Śląska	Packing the genome
16:50-17:00	Ślęzak- Prochazka Izabella	Politechnika Śląska	Analiza potranskrypcyjnej regulacji biogenezy mikroRNA
17:00-17:10	Krzywoń Aleksandra	Politechnika Śląska	Efekt sąsiedztwa indukowany promieniowaniem ultrafioletowym
17:10-17:20	Bil Patryk	Politechnika Śląska	Study of changing ROS levels in living cells, based on time-lapse fluorescent microscopy images
17:20-17:30	Kała Sylwia	Politechnika Śląska	Stymulujący wpływ promieniowania UVA oraz różnice w poziomie reaktywnych form tlenu w ludzkich liniach komórkowych
17:30-17:40	Lisowska Katarzyna	Instytut Onkologii	Two Molecular Subgroups of Serous Ovarian Cancer with Distinct Gene Expression Profiles and Survival Revealed by Unsupervised Analysis
17:40-17:50	Gogler- Pigłowska Agnieszka	Instytut Onkologii	Trójwymiarowe ekwiwalenty naskórka in vitro jako narzędzie do poznania morfogenezy i różnicowania tkanki
17:50-18:00	Klieber Marta	Uniwersytet Opolski	Badania właściwości spektralnych wybranych oktakarboksyftalocyjaniny metali pod kątem ich potencjalnego wykorzystania w terapii fotodynamicznej PDT
18:00-18:30			Dyskusja
19:00 -			Kolacja

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Śniadanie dla uczestników korzystających z noclegu w hotelu Posejdon od 7:00

sobota

9:00-9:30

Przerwa kawowa

9:30-11:20

SESJA 2 Sygnalizacja komórkowa i regulacja ekspresji genów

9:30-9:40	Binczyk Franciszek	Politechnika Śląska	MiMSeg –automatyczna detekcji nowotworów mózgu z wykorzystaniem obrazowania zależnego od dyfuzji, magnetycznego rezonansu jądrowego
9:40-9:50	Poterąła Aleksandra	Politechnika Śląska	Rola reaktywnych form tlenu w sygnalizacji komórkowej
9:50-10:00	Hejmo Tomasz	Politechnika Śląska	Ekspresja syntaz tlenu azotu i oksydaz NADPH w napromienionych komórkach
10:10-10:20	Chadalski Marek	Instytut Onkologii	Zastosowanie systemu ekspresji indukowanej doksycykliną w badaniach nad funkcją mysiego białka LOC66598
10:20-10:30	Toma-Jonik Agnieszka	Instytut Onkologii	Technologia CRISPR/Cas9 w praktyce laboratoryjnej
10:30-10:40	Ścieglińska Dorota	Instytut Onkologii	Wprowadzenie i omówienie tematyki badawczej oraz przedstawienie zespołu badawczego
10:40-10:50	Sojka Damian	Instytut Onkologii	Wpływ zahamowania ekspresji genu HSPA2 na gospodarkę wolnorodnikową w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca
10:50-11:00	Vydra Natalia	Instytut Onkologii	Mechanism of hsf1 activation by estrogen in human mammary cells
11:00-11:10	Cortez Alexander	Instytut Onkologii	Wpływ nadekspresji białka ITGBL1 na fenotyp komórek raka jajnika
11:10-11:20	Pamuła-Piłat Jolanta	Instytut Onkologii	Wpływ występowania wybranych polimorfizmów w genach ADME na efektywność terapii FAC u pacjentek z rakiem piersi

11:20-12:00

Przerwa kawowa

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

12:00-13:40 SESJA 3 Molekularne markery nowotworowe i biotechnologia w medycynie

12:00-12:10	Sieroń Aleksander	Śląski Uniwersytet Medyczny	Wprowadzenie i omówienie tematyki badawczej oraz przedstawienie zespołu badawczego
12:10-12:20	Auguściak- Duma Aleksandra	Śląski Uniwersytet Medyczny	Ocena jakości mRNA kodujących prokolagen typu I u pacjentów z wrodzoną łamliwością kości
12:20-12:30	Gutmajster Ewa	Śląski Uniwersytet Medyczny	Metody molekularne w diagnostyce upośledzenia umysłowego
12:30-12:40	Abramowicz Agata	Instytut Onkologii	Scharakteryzowanie proteomu egzosomów uwalnianych z komórek poddanych stresowi genotoksycznemu – opracowanie metody izolacji egzosomów dla analiz technikami spektrometrii mas
12:40-12:50	Pietrowska Monika	Instytut Onkologii	Profil molekularny uwalnianych przez komórki nowotworowe egzosomów - metodologia badań
12:50-13:00	Gawin Marta	Instytut Onkologii	Badanie molekularnego profilu różnych typów raka tarczycy z wykorzystaniem metod proteomicznych
13:00-13:10	Olbryt Magdalena	Instytut Onkologii	WP760 jako potencjalny lek przeciwczerśniakowy
13:10-13:20	Golda Adam	Śląski Uniwersytet Medyczny	Zastosowanie numerycznej analizy przepływu (CFD) do modelowania przepływu krwi w dużych naczyniach u pacjenta z koarktacją aorty
13:20-13:30	Mrozek- Wilczkiewicz Anna	Uniwersytet Śląski	Wykorzystanie pochodnych tiosemikarbazonu w terapii fotodynamicznej
13:30-13:40	Rotarska- Mizera Anna	Politechnika Śląska	Różnice pomiędzy świadczeniami ambulatoryjnymi a szpitalnymi dla pacjentów poniżej 15 roku życia z rozpoznaną cukrzycą typu 1
13:40-13:50	Wandzik Ilona	Politechnika Śląska	Termoczułe hydrożele o podwyższonej hydrofilowości do hodowli kultur komórkowych 3D

13:40-15:00

Przerwa obiadowa

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

15:00-17:30

SESJA 4 Metody bioinformatyczne w medycynie

15:00-15:10	Papież Anna	Politechnika Śląska	Programowanie dynamiczne jako metoda identyfikacji efektu paczki
15:10-15:20	Rolnik Bożena	Politechnika Śląska	Zastosowanie trendów odpowiedzi na niskie i wysokie dawki promieniowania w analizie zmian strukturalnych genomu
15:20-15:30	Żyła Joanna	Politechnika Śląska	Integracja prawdopodobieństw dla analiz wyników eksperymentów wysokoprzepustowej biologii molekularnej
15:30-15:40	Drażek Grzegorz	Politechnika Śląska	Wykrywanie sygnatury molekularnej raka nabłonka technikami obrazowania spektrometrii mas (MALDI-IMS)
15:40-15:50	Krawczyk Anna	Politechnika Śląska	Metody i narzędzia deizotopingu stosowane w spektrometrii mas do badań nad nowotworami
15:50-16:00	Mrukwa Grzegorz	Politechnika Śląska	Iteracyjne zastosowanie deglomeracyjnego algorytmu iK-średnich do grupowania próbek MALDI-MSI pod kątem profilu molekularnego
16:10-16:20	Błachowicz Agnieszka	Politechnika Śląska	Detekcja regionów promotorowych genów o profilu metylacji istotnie różniącym osoby zdrowe i cierpiące na AML
16:20-16:30	Ciszek Mateusz	Instytut Onkologii	Zastosowanie sztucznych sieci neuronowych do rozpoznawania profili metabolicznych różnych obszarów zdrowego mózgu
16:30-16:40	Kardyńska Małgorzata	Politechnika Śląska	Rola rankingów parametrów w badaniu szlaków sygnałowych
16:40-16:50	Pacholczyk Marcin	Politechnika Śląska	Badanie oddziaływania pentacyklicznych dichinotiazyn z DNA z zastosowaniem dokowania molekularnego

16:50-17:10

Przerwa kawowa

17:10-17:30

Dyskusja i zakończenie

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Scharakteryzowanie proteomu egzosomów uwalnianych z komórek poddanych stresowi genotoksycznemu – opracowanie metody izolacji egzosomów dla analiz technikami spektrometrii mas

Agata Abramowicz, Piotr Widłak, Monika Pietrowska

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie, oddział w Gliwicach

Egzosomy są drobnymi pęcherzykami o średnicy 30-130 nm otoczonymi dwuwarstwą lipidową wydzielanymi przez większość komórek w warunkach *in vitro*, a także identyfikowanymi *in vivo* w płynach ustrojowych takich jak krew czy mocza. Pierwotnie uważane za wynik działania mechanizmu usuwania zbędnych cząsteczek z komórki, obecnie intensywnie badane ze względu na potencjalnie istotną rolę w komunikacji międzykomórkowej.

Głównym celem projektu jest charakterystyka proteomu egzosomów uwalnianych w warunkach *in vitro* przez komórki ustalonych linii raka głowy i szyi w odpowiedzi na promieniowanie jonizujące i cisplatynę. Modelem badawczym są ustalone linie komórkowe raka płaskonabłonkowego regionu głowy i szyi: FaDu oraz UM-SCC6 charakteryzujące się różnym poziomem wrażliwości na promieniowanie jonizujące oraz linie klonalne FaDu o zróżnicowanej wrażliwości na cisplatynę. Warunkiem koniecznym do realizacji zaplanowanych badań jest opracowanie skutecznej metody izolacji egzosomów, które ze względu na niewielkie rozmiary oraz obecność w przestrzeni zewnątrzkomórkowej także innych mikropęcherzyków są materiałem trudnym do wyodrębnienia.

W trakcie przedstawionych w tej pracy badań przetestowano dostępne w literaturze metody izolacji egzosomów mogące spełnić wysokie wymagania technik spektrometrii mas. Szczególnym celem opracowanej metody było usunięcie kontaminacji albuminą pochodzącą z pożywki hodowlanej.

Optymalnym rozwiązaniem pod względem wydajności oraz jakości otrzymanych próbek okazało się połączenie technik ultrafiltracji żelowej oraz sączenia molekularnego. W prezentowanej pracy zostaną omówione: (1) opracowana metoda izolacji, (2) techniki weryfikacji jakości próbek oraz (3) metoda ich analizy technikami spektrometrii mas.

Praca została sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki - projekt badawczy OPUS UMO-2013/11/B/NZ7/01512.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Ocena jakości mRNA kodujących prokolagen typu I u pacjentów z wrodzoną łamliwością kości

Aleksandra Auguściak-Duma, Tomasz Ludyga

Zakład Biologii Molekularnej
Katedra Biologii Molekularnej i Genetyki
Śląski Uniwersytet Medyczny
ul. Medyków 18
40-752 Katowice

Wrodzona łamliwość kości (*osteogenesis imperfecta*) to choroba uwarunkowana genetycznie, zróżnicowana zarówno pod względem fenotypowym jak i genotypowym. W większości przypadków jest chorobą autosomalnie dominującą. Kruchość i łamliwość kości spowodowana jest nieprawidłową budową lub ilością kolagenu typu I co prowadzi do złamań wskutek niewielkich urazów, a nawet codziennych aktywności ruchowych. Główną przyczyną choroby są mutacje o typie substytucji, insercji lub delecji w obrębie genów *COL1A1* i *COL1A2*, kodujących łańcuchy pro- α (I) i pro- α 2(I) polipeptydowe prokolagenu typu I, będącego głównym białkiem budulcowym m.in. skóry, kości, więzadeł.

Przeprowadzono badania mające na celu wykrycie podłoża molekularnego choroby, na poziomie dojrzałych transkryptów mRNA, u pacjentów nie wykazujących zmian patogenicznych w DNA genów *COL1A1* i *COL1A2*. Badania przeprowadzono na fibroblastach skóry pochodzących od 18 pacjentów ze zdiagnozowaną wrodzoną łamliwością kości.

Z hodowanych fibroblastów izolowano całkowity mRNA. Tak uzyskany materiał poddawano dwustopniowej reakcji RT-PCR z wykorzystaniem swoistych starterów, a następnie oceniano jakościowo za pomocą elektroforezy. Sekwencje analizowano zmodyfikowaną metodą Sangera przy pomocy analizatora genetycznego. Analiza sekwencji wykazała pojedyncze zmiany na poziomie mRNA, które mogą wpływać na ekspresję kolagenu.

Ekspresję monoalleliczną dla genu *COL1A1* wykryto u 4 pacjentów. Uzyskane wyniki są niezwykle ważną informacją dla lekarza specjalisty genetyki klinicznej prowadzącego pacjenta, gdyż znajomość podłoża molekularnego klinicznego fenotypu choroby pozwoli wdrożyć odpowiednie leczenie, a w przyszłości być może, zastosować nowoczesne terapie genowe. Niewykrycie zmian, u pozostałych 13 pacjentów, w obrębie genów kolagenowych może świadczyć o prawdopodobnych mutacjach w obrębie innych genów niż kolagenowe.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Study of changing ROS levels in living cells, based on time-lapse fluorescent microscopy images

Patryk Bil, Joanna Rzeszowska-Wolny

Zakład Inżynierii Systemów, Instytut Automatyki Politechniki Śląskiej, Gliwice, Polska

Using a time-lapse fluorescent microscopy it's possible to observe changes of fluorescence intensity in living cells. With use of fluorogenic probes like CellROX Green Reagent, data about changes of amount of ROS in living cells can be obtained. From acquired through this method images, the adequate software can read numerical values of fluorescence intensity. One of the tools that allows reading numerical values of fluorescence intensity from images sequence is LineageTracker developed at the University of Warwick.

There can be many biological and technical obstacles that can disturb correct segmentation and reading of desirable values, thus there is no guarantee that every experiment will be suitable for analysis.

Obtained data can be used for statistical analysis of differences in population of cells.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

MiMSeg –automatyczna detekcji nowotworów mózgu z wykorzystaniem obrazowania zależnego od dyfuzji, magnetycznego rezonansu jądrowego

Franciszek Binczyk¹, Bram Stjelties⁴, Christian Weber³, Michael Goetz³, Klaus Meier-Hein³, Hans-Peter Meinzer⁵, Barbara Bobek-Billewicz², Rafal Tarnawski², Joanna Polanska¹

¹Data Mining Group, The Silesian University of Technology, Gliwice, Poland

²Center of Oncology - Maria Skłodowska-Curie Memorial Institute, Branch in Gliwice, Poland

³Junior Group Medical Image Computing, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

⁴Department of Radiology, University Hospital Basel, Switzerland

⁵Division Medical and Biological Informatics, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

Corresponding author: joanna.polanska@polsl.pl

W pełni zautomatyzowana detekcja zmian nowotworowych na obrazach medycznych, uzyskiwanych z wykorzystaniem techniki magnetycznego rezonansu jądrowego, jest ważnym i wciąż nie w pełni rozwiązany problemem w nowoczesnej onkologii. Na przestrzeni lat opracowano szereg algorytmów, które można sklasyfikować, na podstawie liczby wykorzystywanych sekwencji. W ramach prowadzonych badań proponuje się zastosowanie nowatorskiego algorytmu MiMSeg bazującego na analizie obrazów pozornego współczynnika dyfuzji wyznaczanych z wykorzystaniem sekwencji obrazowania zależnego od dyfuzji. Proponowany algorytm polega na połączeniu dekompozycji sygnału do matematycznego modelu mieszanin rozkładów normalnych a następnie wyznaczenie wartości charakterystycznej dla pozornego współczynnika dyfuzji z wykorzystaniem klasteryzacji k-średnich w przestrzeni definiowanej przez parametry składowych modelu mieszanin. Skuteczność algorytmu z wykorzystaniem danych klinicznych, pozyskanych w wyniku współpracy z klinicystami z Centrum Onkologii w Gliwicach. Uzyskano bardzo dobry wynik 85% zgodności z detekcją manualną wyrażony indeksem Dice'a – standardową miarą stosowaną w porównaniach segmentacji.

Badania były finansowane z grantu 02/010/BK_16/3015 (JP) oraz BKM/506/Rau1/2016/t.27 (FB). Obliczenia wykonano z wykorzystaniem infrastruktury IT GeCONiI (grant POIG 02.03.01-24-099).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Detekcja regionów promotorowych genów o profilu metylacji istotnie różniącym osoby zdrowe i cierpiące na AML

Agnieszka Blachowicz¹, Grainne Manning², Christophe Badie², Simon Bouffler², Joanna Polańska¹

¹ Politechnika Śląska, Instytut Automatyki, Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych

² Public Health England Centre for Radiation, Chemical & Environmental Hazards Radiation Effects Department

Metylacja jest procesem kontroli ekspresji genów, polegającym na modyfikacji cytozyny w 5-metylocytozynę. Zachodzi jedynie w miejscach CpG u kręgowców (miejsca, w których w łańcuchu DNA po cytozynie następuje guanina, oddzielone są jedynie resztą fosforanową). Szczególnie istotna jest metylacja fragmentów promotorowych genów. Silnie zmetylowany promotor powoduje wstrzymanie procesu transkrypcji, a co za tym idzie, ekspresji genu. W chorobach nowotworowych występuje hipermetylacja lokalnych wysp CpG w miejscach promotorowych genów supresorowych guza (antyonkogenów).

Dane wykorzystane w projekcie pochodzą od osób zdrowych oraz pacjentów cierpiących na ostrą białaczkę szpikową (AML). We wszystkich przypadkach zmierzono poziom metylacji w genomie za pomocą specjalnie do tego przeznaczonych mikromacierzy. W przypadku informacji dotyczącej metylacji DNA zastosowano odpowiednie metody statystyczne, uwzględniające nie tylko różnice w poziomach metylacji na poszczególnych sondach, ale także na sąsiedztwo sond w genomie. W celu zaklasyfikowania promotora danego genu jako różnicującego osoby zdrowe i chore pod względem poziomu metylacji, wzięto pod uwagę wszystkie sondy należące do tego promotora. Podjęcie odpowiedniej decyzji było możliwe na przykład dzięki zastosowaniu metod integracji p-wartości. Dzięki temu znaleziono grupę genów, których ekspresja ulega zmniejszeniu przy ostrej białaczce szpikowej. Umożliwiło to głębsze poznanie mechanizmów molekularnych zachodzących w komórkach przy tej chorobie.

Praca była finansowana w ramach projektu :BKM/514/RAU1/2015/t.20. Obliczenia wykonano z wykorzystaniem infrastruktury IT GeCONiI (grant POIG 02.03.01-24- 099).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Termoczule hydrożele o podwyższonej hydrofilowości do hodowli kultur komórkowych 3D

Małgorzata Burek¹, Sylwia Waśkiewicz², Ilona Wandzik¹

¹Katedra Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii, Politechnika Śląska

²Katedra Fizykochemii i Technologii Polimerów, Politechnika Śląska

Hodowle komórkowe prowadzone w technologii dwuwymiarowej nie odzwierciedlają naturalnych warunków jakie panują w organizmach żywych. Alternatywą mogą być systemy hydrożelowe do hodowli trójwymiarowych zapewniające rozwijającym się komórkom odpowiedni metabolizm czy ekspresję genów. Obecnie syntetyczne hydrożele, między innymi na bazie poli(N-izopropylakrylamidu) (PNIPAM) są proponowane do hodowli 3D i znajdują coraz szersze zastosowanie w inżynierii tkankowej, testowaniu farmaceutyków czy badaniach nad komórkami macierzystymi.

Charakterystyczną cechą termoczulych hydrożeli PNIPAM jest odwracalność procesu żelowania, który zachodzi w temperaturze powyżej 30°C, co pozwala na łatwe uwolnienie komórek po zakończonym badaniu. Ponadto hydrożele syntetyczne mogą być modyfikowane różnymi substancjami wpływającymi na rozwój komórek, na przykład związkami o właściwościach bioprotekcyjnych. Zaprezentowana zostanie synteza i właściwości mikrożeli PNIPAM zawierających kowalencyjnie związaną trehalozę.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Zastosowanie systemu ekspresji indukowanej doksycykliną w badaniach nad funkcją mysiego białka LOC66598.

Marek Chadalski¹, Anna Naumowicz^{1,2}, Wiesława Widlak¹

¹ - Centrum Onkologii –Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice;

² - Politechnika Śląska, Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, ul. Akademicka 16, 44-100 Gliwice

W poprzednich badaniach naszego zespołu wykryliśmy, że szok termiczny może indukować ekspresję mysiego genu *311000I122Rik* kodującego białko LOC66598, którego funkcja nie została jeszcze opisana. Obserwacje wykonane przy użyciu mikroskopu przyżyciowego wykazały, że komórki transfekowane plazmidem zawierającym cDNA genu *311000I122Rik* wchodzą w apoptozę. Ze względu na proapoptotyczną aktywność białka LOC66598 uzyskanie linii komórkowej ze stabilną ekspresją badanego genu nie było możliwe. W celu stworzenia modelu komórkowego do badań mechanizmu indukcji apoptozy przez białko LOC66598 zastosowaliśmy lentiwirusowy system zawierający promotor, który zapewnia ekspresję wklonowanego genu jedynie w obecności doksycykliny. W prezentacji zostaną przedstawione nasze doświadczenia z wykorzystaniem tego systemu.

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Zastosowanie sztucznych sieci neuronowych do rozpoznawania profili metabolicznych różnych obszarów zdrowego mózgu

Mateusz Ciszek, Łukasz Boguszewicz, Maria Sokół

Zakład Fizyki Medycznej, Centrum Onkologii - Instytut im. M Skłodowskiej-Curie w Gliwicach, Wybrzeże AK
15, 44-101 Gliwice

Szybki rozwój metod neuroobrazowania poszerza nasz wgląd w morfologię, biochemię i funkcje mózgu. Jedną z tych metod jest spektroskopia protonowa rezonansu magnetycznego (1H MRS) – nieinwazyjna „biopsja biochemiczna”, która jest coraz częściej stosowana w rutynowej diagnostyce klinicznej. Profil metaboliczny mózgu wyznaczają główne neurometabolity: *N*-acetyloasparaginian, *N*-acetylo-aspartylo-glutaminian, kreatyna i fosfokreatyna, cholina i jej pochodne, mio-inozytol oraz glutamina i glutaminian. Profil ten wykazuje w prawidłowym mózgowiu zróżnicowanie anatomiczne. Zróżnicowaniem anatomicznym poziomów metabolitów zajmowano się w kilku pracach, lecz wciąż brak jest opracowań wykorzystujących statystyczne metody multiwariacyjne do ich automatycznej klasyfikacji^{1,2}.

W niniejszej pracy wykorzystano dwie nieparametryczne metody do opracowania modelu umożliwiającego anatomiczne rozróżnienie obszarów zdrowego mózgu na podstawie analizy stężeń neurometabolitów. W pierwszym etapie zastosowano analizę głównych składowych (PCA) w celu wykluczenia przypadków odstających oraz do wybrania przypadków tworzących zewnętrzny zestaw testowy (T). Do klasyfikacji profili metabolicznych poszczególnych obszarów mózgowia wykorzystano sztuczne sieci neuronowe (ANN). Stężenia neurometabolitów w widmach 1H in vivo MRS zostały wyznaczone w programie LCModel.

Analizie zostało poddanych 280 sieci neuronowych, z których wybrano 28 sieci (po jednej dla każdego zagadnienia klasyfikacyjnego) – o najlepszych zdolnościach klasyfikacyjnych zewnętrznego zestawu testowego.

Otrzymane wyniki sugerują, że ANN są efektywnym narzędziem identyfikowania widm 1H MRS zarejestrowanych w zdrowym ludzkim mózgu pod kątem ich pochodzenia anatomicznego.

¹ Pouwels, P. J., Brockmann, K., Kruse, B., Wilken, B., Wick, M., Hanefeld, F., & Frahm, J. (1999). Regional age dependence of human brain metabolites from infancy to adulthood as detected by quantitative localized proton. MRS. *Pediatric research*, 46(4), 474-485.

² Baker, E. H., Basso, G., Barker, P. B., Smith, M. A., Bonekamp, D., & Horska, A. (2008). Regional apparent metabolite concentrations in young adult brain measured by 1H MR spectroscopy at 3 Tesla. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 27(3), 489-499.

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Wpływ nadekspresji białka ITGBL1 na fenotyp komórek raka jajnika

Alexander J. Cortez, Katarzyna A. Kujawa, Patrycja A. Tudrej, Krystyna Klyszcz, Katarzyna M. Lisowska

Centrum badań Translacyjnych I Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Wstęp. W naszych wcześniejszych badaniach prowadzonych z wykorzystaniem techniki mikromacierzy DNA zidentyfikowaliśmy dwa podtypy raka surowiczego jajnika, które różniły się profilem ekspresji genów i wykazywały korelację z czasem przeżycia pacjentek [1]. Wśród genów, które wykazywały zróżnicowaną ekspresję w zależności od podtypu, był między innymi gen *ITGBL1* (Integrin, beta-like 1 gene). *ITGBL1* jest słabo scharakteryzowanym białkiem, strukturalnie spokrewnionym z integrzynami β . Wydaje się, że białko to jest związane z adhezją i ruchliwością komórek raka, może również pełnić funkcje sygnalizacyjne. Naszym celem było sprawdzenie jak *ITGBL1* wpływa na fenotyp komórek raka jajnika.

Metody. Sekwencję kodującą *ITGBL1* zamplifikowano na matrycy cDNA i sklonowano w wektorze PLNCX2. Za pomocą retrowirusowego systemu transdukcji otrzymano izogeniczne linie komórkowe raka jajnika z nadekspresją genu *ITGBL1* i kontrolne, zawierające pusty wektor. Otrzymane linie porównano za pomocą testów funkcjonalnych in vitro pod kątem adhezji, migracji oraz wrażliwości na cisplatinę lub paklitaksel.

Wyniki. Otrzymano linie komórkowe raka jajnika SKOV3 i OAW42 charakteryzujące się nadekspresją białka *ITGBL1* oraz izogeniczne linie kontrolne, zawierające pusty wektor PLNCX2. Wykazaliśmy w testach migracji że komórki *ITGBL1*(+)migrują szybciej w porównaniu do komórek kontrolnych. Testy adhezji wykazały że *ITGBL1* przyczynia się do zmniejszenia poziomu adhezji komórek raka jajnika. W teście cytotoksyczności komórki *ITGBL1*(+) traktowane cisplatiną wykazywały mniejszą wrażliwość w porównaniu do komórek kontrolnych, a traktowane paklitaksel nie wykazywały różnic.

Konkluzje. Nasze wyniki wskazują że *ITGBL1* może zwiększać zdolność do migracji i oporność na cisplatinę komórek raka jajnika oraz zmniejszać poziom adhezji. To wskazuje, że *ITGBL1* może odgrywać istotną rolę w progresji raka jajnika umożliwiając łatwiejsze rozprzestrzenianie się komórek w jamie otrzewnowej.

[1] K.M. Lisowska, et al. (2016), J. Cancer Res. Clin. Oncol. 42(6), 1239-1252. DOI 10.1007/s00432-016-2147-y.

Acknowledgments: Praca była finansowana z grantu NCN 2012/04/M/NZ2/00133 (kierownik Katarzyna Lisowska).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Wykrywanie sygnatury molekularnej raka nabłonka technikami obrazowania spektrometrii mas (MALDI-IMS)

Grzegorz Drażek¹, Grzegorz Mrukwa¹, Monika Pietrowska², Mykola Chekan², Piotr Widlak²,
Joanna Polańska¹

¹ Politechnika Śląska, Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych, Gliwice

² Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Gliwice
grzegorz.drazek@polsl.pl, grzegorz.mrukwa@polsl.pl, joanna.polanska@polsl.pl
m_pietrowska@io.gliwice.pl, chekan@io.gliwice.pl, widlak@io.gliwice.pl

Wykrywanie sygnatury molekularnej tkanki nowotworowej można zrealizować poprzez obrazowanie spektrometrii mas, które jest potężnym narzędziem. Celem pracy było wykrycie sygnatur molekularnych raka nabłonka. Pięć preparatów tkankowych pobranych od różnych pacjentów zostało przeanalizowane poprzez MALDI-IMS. Został wypracowany model postępowań dla przetwarzania wstępnego: resampling, usunięcie linii bazowej, normalizacja TIC, uliniawianie widm (z wykorzystaniem algorytmów szybkiej transformacji Fouriera), modelowane widma (techniki Gaussian Mixture Model GMM) oraz identyfikacja pików. Do celów klasteryzacji nienadzorowanej, opracowany został innowacyjny iteracyjny algorytm k-means z optymalizacją cech w każdym kroku klasteryzacji. Każdy z preparatów to około 10 tys. punktów, z których to każdy z punktów to widmo o wymiarowości 100 tys. kanałów masowych (m/z). Daje to 10÷15 GB surowych danych w formacie wewnętrznym firmy Bruker. Konieczna zatem była redukcja wymiarowości uzyskana za pomocą algorytmu GMM, który zredukował widma z 100 tys. punktów pomiarowych do 3714 pików (składowych modelu) zachowując przy tym kształt widma. Około 4% peptydów wykazywało znaczącą różnicę pomiędzy rakiem i normalnym nabłonkiem, i mogły być rozważane jako sygnatury molekularne raka.

Badania były finansowane z grantu 02/010/BK_16/3015. Obliczenia wykonano z wykorzystaniem infrastruktury IT GeCONiI (grant NCBiR POIG 02.03.01-24-099).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Badanie molekularnego profilu różnych typów raka tarczycy z wykorzystaniem metod proteomicznych

Marta Gawin¹, Monika Pietrowska¹, Mykola Chekan², Karol Jelonek¹, Aleksandra Gruca³, Piotr Widłak¹

¹Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej - Curie oddział w Gliwicach

²Zakład Patologii Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej - Curie oddział w Gliwicach

³Instytut Informatyki, Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Politechnika Śląska, Gliwice

Jednym z istotnych problemów w diagnostyce raka tarczycy jest rozróżnienie pomiędzy gruczolakiem pęcherzykowym (ang. follicular adenoma, FA), rakiem pęcherzykowym (ang. follicular thyroid cancer, FTC) oraz pęcherzykową odmianą brodawkowatego raka tarczycy (ang. papillary thyroid cancer follicular variant, PTC FV), co w niektórych przypadkach jest niemożliwe jedynie w oparciu o cechy histopatologiczne. Dodatkowe molekularne kryteria diagnostyczne odpowiednie dla materiału utrwalonego w formalinie i zatopionego w parafinie (FFPE) mogłyby być użyteczne do celów diagnostycznych, w związku z tym przeprowadzono profilowane molekularne tkanek tarczycy w celu identyfikacji profili peptydowych charakterystycznych dla różnych typów raka.

Materiałem do badań były bloczki parafinowe (FFPE) wyselekcjonowane do tych badań dzięki uprzejmości patologów z Zakładu Patologii Nowotworów COI w Gliwicach. Pochodziły one od pacjentów, u których zdiagnozowano różne rodzaje raka tarczycy: anaplastyczny rak tarczycy (ATC, n=3), rdzeniasty rak tarczycy (MTC, n=3), brodawkowaty rak tarczycy (PTC, n=6: wariant klasyczny (n=3) oraz pęcherzykowy (n=3)), pęcherzykowy rak tarczycy (FTC, n=3). Do przygotowania ekstraktów białkowych dla każdej próbki wzięto 4 kolejne skrawki o grubości 10 μ m. Ekstrakty poddano następnie oczyszczaniu i trawieniu trypsyną zgodnie z modyfikowanym protokołem MED-FASP. Badania proteomu prowadzono z wykorzystaniem strategii shotgun techniką LC-MS/MS (LC-MALDI oraz/lub Orbitrap). Analizę procesów związanych z oznaczanymi białkami oraz ich oddziaływaniami funkcjonalnymi przeprowadzono z wykorzystaniem ontologii genów kodujących zidentyfikowane białka.

Badania wstępne przeprowadzono za pomocą techniki LC-MALDI MS dla trzech próbek pochodzących od każdego typu raka. Dla każdego typu raka zidentyfikowano około 500 białek. Dwa typy: ATC oraz MTC znacząco różniły się od pozostałych typów raka w ilościowej analizie proteomicznej; różnice te potwierdziła również analiza GO. Typ ATC

charakteryzował się 213 unikalnymi terminami GO przy poziomie istotności $p < 0,01$, z kolei MTC charakteryzowało 71 unikalnych terminów GO. Bardziej szczegółowa analiza MS została przeprowadzona dla gruczolaka pęcherzykowego oraz raka pęcherzykowego i brodawkowatego tarczycy z wykorzystaniem spektrometru wysokiej rozdzielczości Orbitrap LC-MS, co pozwoliło na identyfikację około 3000 białek i znalezienie znacznie większej liczby białek różnicujących.

Wieloskładnikowa sygnatura peptydomu umożliwiła dobre rozróżnienie pomiędzy analizowanymi typami raka tarczycy i może być zastosowana do klasyfikacji różnych typów patologicznych zmian tarczycy. Niemniej jednak, potencjalne zastosowanie wyników analiz techniką LC-MS/MS w diagnostyce raka tarczycy powinno zostać dodatkowo potwierdzone analizami immunohistochemicznymi.

Przeprowadzone badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (projekt nr UMO-2013/08/S/NZ2/00868, UMO2012/07/B/NZ4/01450 oraz 2011/03/D/NZ4/03507).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Trójwymiarowe ekwiwalenty naskórka *in vitro* jako narzędzie do poznania morfogenezy i różnicowania tkanki

Agnieszka Gogler-Pigłowska, Katarzyna Klarzyńska, Dorota Ścieglińska

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, oddział w Gliwicach, Gliwice

Dwuwymiarowe hodowle komórek adherentnych *in vitro* (2D) są powszechnie stosowane w badaniach podstawowych, jednak jako układ autonomiczny w niedostateczny sposób odzwierciedlają tkankowe oddziaływania międzykomórkowe, interakcje komórek z macierzą pozakomórkową, funkcjonowanie szlaków sygnałowych oraz proces różnicowania (utrwalania tkankowo-specyficznych cech funkcjonalnych). Uporządkowana i spolaryzowana architektura tkanki jest czynnikiem nadrzędnym determinującym jej homeostazę oraz wyspecjalizowane funkcje biologiczne. Wobec powyższego z powodzeniem stosuje się hodowle trójwymiarowe (3D) *in vitro*, w których procesy morfogenezy i różnicowania przebiegają podobnie jak w tkankach *in vivo*.

Naskórek (nabłonek wielowarstwowy płaski rogowaciejący) jest tkanką ulegającą ciągłej odnowie i różnicowaniu. Poczynając od warstwy podstawnej, aż po warstwę rogową, zbudowany jest głównie z keratynocytów, będących na różnym etapie dojrzałości. Prawidłowe funkcjonowanie naskórka warunkowane jest złożonym czasoprzestrzennym zrównoważeniem procesów proliferacji i różnicowania keratynocytów oraz ich progenitorów.

W naszych badaniach skonstruowaliśmy trójwymiarowy organotypowy model naskórka, stosując spontanicznie unieśmiertelnioną linię ludzkich keratynocytów – HaCaT, hodowanych na granicy faz powietrze-pożywka, w których (z zastosowaniem lentiwirusowego transferu genów, metodą shRNA) obniżyliśmy ekspresję genu *HSPA2*. Histologiczna analiza morfologii ekwiwalentów naskórka uzyskanego z komórek z obniżonym poziomem *HSPA2* oraz komórek kontrolnych pokazała różnice w stratyfikacji pojawiające się w czasie trwania hodowli 3D; w organotypach z obniżonym poziomem *HSPA2* obserwowaliśmy wcześniejsze pojawienie się warstwy ziarnistej. Barwienie immunohistochemiczne na obecność markera proliferacji Ki67 nie pokazało zmian w liczbie komórek pozostających w cyklu komórkowym. Nasze obserwacje sugerują, że białko *HSPA2* może być czynnikiem, który w sposób bezpośredni lub pośredni reguluje proces różnicowania naskórka, utrzymując homeostazę tkanki.

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Zastosowanie numerycznej analizy przepływu (CFD) do modelowania przepływu krwi w dużych naczyniach u pacjenta z koarktacją aorty

Adam Golda¹, Marek Rojczyk², Wojciech Adamczyk², Bartłomiej Melka², Dominika Bandoła², Maria Gracka², Artur Knopek², Andrzej Nowak², Ziemowit Ostrowski²

- 1) Oddział Kardiologii, Gliwickie Centrum Medyczne, Gliwice
- 2) Instytut Techniki Ciepłej, Politechnika Śląska, Gliwice

Numeryczna analiza przepływu (CFD – computational fluid dynamics) jest uznaną metodą stosowaną w inżynierii, ostatnio także zaadoptowaną w medycynie do analizy skomplikowanych przepływów krwi w obrębie układu sercowo-naczyniowego. Szeroko dostępne obrazowanie medyczne uzyskane z pomocą tomografii komputerowej lub rezonansu magnetycznego dostarcza obrazy o wysokiej jakości, które jednak nie pozwalają na dokładną analizę wpływu ewentualnych patologii sercowo-naczyniowych na charakter przepływu krwi. Uzupełnienie takich obrazów o informacje uzyskane z pomocą CFD może zdecydować o zmianie postępowania diagnostyczno-terapeutycznego np. przyczyniając się do redukcji ilości inwazyjnych pomiarów w obrębie układu krążenia. Przykładem zastosowania CFD może być modelowanie przepływu krwi w dużych naczyniach krwionośnych u pacjentów z wrodzonymi wadami serca.

Celem pracy było przeanalizowanie jednofazowego przepływu krwi dla rzeczywistego modelu piersiowego odcinka aorty i jej głównych odgałęzień u pacjenta z koarktacją aorty (wrodzonym zwężeniem piersiowego odcinka aorty zstępującej). Symulację CFD przeprowadzono przy pomocy komercyjnego oprogramowania ANSYS/Fluent. Na wlocie do geometrii zadano profil prędkości odpowiadający cyklowi pracy serca. Ciśnienie krwi na wylotach określono poprzez sprzężenie z parametrycznym modelem skupionym zbudowanym w analogii elektrycznej.

Słowa kluczowe: przepływ krwi, aorta, koarktacja aorty, układ krążenia, analogia skupiona, CFD, computational fluid dynamics.

Badania finansowane są przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu nr 2014/13/B/ST8/04225.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Metody molekularne w diagnostyce upośledzenia umysłowego

Ewa Gutmajster, Małgorzata Lisik, Aleksander L. Sieroń

Zakład Genetyki Klinicznej, Katedra Biologii Molekularnej i Genetyki, Śląski Uniwersytet Medyczny,
ul. Medyków 18,40-752 Katowice

Według współcześnie obowiązującej definicji przyjętej przez Światową Organizację Zdrowia upośledzenie umysłowe (UU) to funkcjonowanie intelektualne poniżej przeciętnej, które powstało w okresie rozwojowym i któremu towarzyszy obniżenie zdolności przystosowania się.

W obecnym rozumieniu klinicznym upośledzenie umysłowe stanowi jedynie zespół objawów, w którym poza stałą cechą - nieprawidłowym funkcjonowaniem intelektualnym, obecność innych objawów jest w dużym stopniu zmienna. UU często jest głównym lub współwystępującym objawem wielu chorób o różnej etiologii, a zwłaszcza uwarunkowanych genetycznie.

W algorytmie postępowania diagnostycznego w przypadkach UU ważne miejsce zajmuje konsultacja genetyczna, po której następuje wykonanie badań genetycznych. U około 10% dzieci z niespecyficznym UU występują delecje subtelomerowe lub inne mikroaberracje (po 5%). W przypadku podejrzenia zespołu genów przyległych kolejnym etapem diagnozy jest potwierdzenie rozpoznania klinicznego metodą FISH, natomiast w pozostałych przypadkach detekcja delecji subtelomerowych techniką MLPA. Brak potwierdzenia mikrodelecji nie wyklucza występowania danego zespołu, również wynik MLPA wymaga potwierdzenia inną metodą (np. FISH, aCGH, follow-up MLPA, sekwencjonowanie, longPCR).

W prezentacji przedstawione są przykłady zastosowania tych metod w diagnostyce UU pacjentów Górnośląskiego Centrum Zdrowia Dziecka w Katowicach, wykonywanej w ramach statutowych prac badawczych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Packing the genome

Ronald Hancock

Laval University Cancer Research Centre, Quebec, Canada
Zakład Inżynierii Systemów, Instytut Automatyki Politechniki Śląskiej, Gliwice, Polska

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Ekspresja syntaz tlenu azotu i oksydaz NADPH w napromienionych komórkach

Tomasz Hejmo¹, Poterała Aleksandra², Magdalena Skonieczna²

¹ Politechnika Śląska, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Biotechnologii Środowiskowej

² Politechnika Śląska, Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Zakład Inżynierii Systemów

Wolne rodniki tlenowe powstają w wyniku metabolizmu tlenowego zachodzącego w komórce, na przykład w czasie aktywacji błonowej oksydazy NADPH, w łańcuchu oddechowym, w szlaku cyklooksygenazy (przemiana fosfolipidów błony komórkowej) i lipooksygenazy (utlenianie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych). W warunkach stresu oksydacyjnego, wywołanego promieniowaniem jonizującym, dochodzi do nadprodukcji wolnych rodników, co prowadzi do powstawania w komórce różnego typu uszkodzeń.

Rodzina oksydaz NADPH obejmuje grupę białek transbłonowych o konserwatywnej strukturze, zdolnych do transportu elektronów z NADPH i redukcji tlenu do anionorodnika ponadtlenkowego lub nadtlenu wodoru. Syntazy tlenu azotu NOS to enzymy z klasy dioksygenaz, odpowiedzialne za syntezę tlenu azotu z L-argininy i tlenu z wytworzeniem L-cytruliny jako drugiego produktu reakcji.

Celem prowadzonych badań jest analiza poziomu ekspresji enzymów zaangażowanych w produkcję wolnych rodników w komórkach eksponowanych na promieniowanie jonizujące.

Stymulujący wpływ promieniowania UVA oraz różnice w poziomie reaktywnych form tlenu w ludzkich liniach komórkowych

Sylwia Kała, Karolina Gajda, Joanna Rzeszowska-Wolny

Zakład Inżynierii Systemów, Instytut Automatyki Politechniki Śląskiej, Gliwice, Polska

Promieniowanie UV jest to promieniowanie elektromagnetyczne o długości fali 100-400nm niewidzialne dla ludzkiego oka. Naturalnym źródłem promieniowania UV jest Słońce. Podzielone jest na trzy główne zakresy: UVA (315-400nm), UVB (280-315nm) oraz UVC (100-280nm). Większość promieniowania pochłaniana jest przez atmosferę ziemską. Promieniowanie UVC zatrzymywane jest przez warstwę ozonową, a ilość docierającego promieniowania UVB jest zależna od przejrzystości powietrza oraz pogody. Około 95% promieniowania docierającego do Ziemi to promieniowanie UVA, które jest obecne nawet w pochmurne dni. Przyjęto, że UV nie posiada wystarczającej energii do jonizacji atomów, ale może powodować inne szkodliwe efekty, dlatego jest powszechnie uważane za szkodliwe. Niektóre z badań sugerują jednak istnienie dawek promieniowania, które mogą mieć właściwości stymulujące wzrost oraz podziały komórkowe. W naszych badaniach znaleziono dawki wykazujące stymulujący wpływ na komórki linii HCT116, Me45 oraz NHDF dla promieniowania UVA i UVB. Dodatkowo w celu sprawdzenia możliwych oddziaływań przeprowadzono badania poziomu wolnych rodników: ROS, NO oraz O_2^- w ustalonych godzinach, które mogą sugerować zróżnicowany wpływ promieniowania na komórkę w zależności od dawki.

Dodatkowo w celu sprawdzenia wpływu wolnych rodników na cykl komórkowy przeprowadzono serię eksperymentów przyżyciowych, z których wynika, że poziom reaktywnych form tlenu fluktuuje w czasie, a wielkość tych fluktuacji wynika z losu komórki, tj. od tego czy komórka się podzieliła - podział symetryczny, asymetryczny, braku podziału lub śmierci komórki.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Rola rankingów parametrów w badaniu szlaków sygnałowych

Małgorzata Kardyńska, Jarosław Śmieja

Zakład Inżynierii Systemów, Instytut Automatyki Politechniki Śląskiej, Gliwice, Polska

Wraz z rozwojem nowych metod eksperymentalnych nasza wiedza na temat procesów zachodzących wewnątrz komórek jak i komunikacji między nimi nieustannie się poszerza. Niestety koszty przeprowadzania eksperymentów biologicznych są bardzo wysokie. Ze względu na złożoność szlaków sygnałowych oraz konieczność wielokrotnego powtarzania pomiarów w eksperymentach biologicznych, przeprowadzenie tego typu badań wiąże się z ogromnym nakładem finansowym. W celu obniżenia tych kosztów pomocne okazuje się modelowanie matematyczne oraz analiza wrażliwościowa opracowanych modeli, w tym tworzenie tzw. rankingów parametrów.

Rankingi parametrów są czytelnym i łatwym w interpretacji sposobem na przedstawienie wpływu poszczególnych parametrów na dynamikę systemu. Pozwalają one zidentyfikować najważniejsze parametry modelu, które powinny być wyznaczone z największą dokładnością, oraz parametry najmniej istotne, które mogą zostać oszacowane z dużym marginesem błędu i znacznie mniejszym nakładem finansowym.

Ponadto należy pamiętać, że poszczególne parametry modelu powiązane są z konkretnymi procesami zachodzącymi w szlaku sygnałowym, tak więc rankingi parametrów dają również wskazówki na temat najważniejszych procesów w szlaku sygnałowym, co może stanowić podstawę do planowania eksperymentów biologicznych i umożliwić poprawę efektywności wykorzystania środków przeznaczonych na badania eksperymentalne.

W trakcie prezentacji pokazane zostaną rankingi parametrów dla przykładowych modeli oraz sposób ich interpretacji.

Praca została sfinansowana z grantu NCN DEC-2013/11/B/ST7/01713.

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Badania właściwości spektralnych wybranych oktakarboksyftalocyjaniny metali pod kątem ich potencjalnego wykorzystania w terapii fotodynamicznej PDT

Marta Kliber-Jasik, Joanna Nackiewicz

Zakład Chemii Fizycznej i Modelowania Molekularnego, Wydział Chemii, Uniwersytet Opolski w Opolu
e-mail: Joanna.Nackiewicz@uni.opole.pl

Ftalocyjaniny to interesująca grupa związków chemicznych, które nie występują w produktach pochodzenia naturalnego, jednak wykazują strukturalne podobieństwo do występujących w przyrodzie porfiryn. Molekuła ftalocyjaniny jest układem aromatycznym, którego zasadniczą częścią jest makropierścień zawierający 18 zdelokalizowanych elektronów π [1]. Składa się on z czterech jednostek izoindolowych połączonych atomami azotu, które tworzą tzw. układ porfirazynowy [2]. Obecność czterech izoindolowych atomów azotu daje możliwość tworzenia przez ligand ftalocyjaniny wiązań chelatowych z metalami. Ponadto istnieje możliwość syntezy ftalocyjanin o różnorodnych właściwościach, na przykład poprzez przyłączenie do pierścieni benzenowych odpowiednich podstawników ekelektronoakceptorowych lub elektronodonorowych. Taka możliwość modyfikacji cząsteczki pozwala na kształtowanie parametrów fizykochemicznych tych kompleksów. Ftalocyjaniny posiadają szereg zastosowań praktycznych, z czego szczególnie interesujące jest wykorzystanie tych związków jako fotosensybilizatorów w terapii fotodynamicznej PDT [3].

Zasadniczą rolę w analizie ftalocyjanin i ich pochodnych odgrywa elektronowa spektroskopia absorpcyjna UV-Vis, ponieważ w widmach absorpcyjnych UV-Vis tych kompleksów występują dwa charakterystyczne obszary absorpcji obszar B (pasmo Soreta), zwykle w zakresie 300-400 nm, oraz obszar Q (zwykle w zakresie 550-750 nm). **W analizie ftalocyjanin duże znaczenie ma również absorpcyjna spektroskopia w podczerwieni. Obecność atomów o niezerowym spinie jądrowym (^1H , ^{15}N oraz ^{13}C) w cząsteczce ftalocyjaniny umożliwia analizę struktury cząsteczki metodą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego.** Ponadto, spektroskopia fotoluminescencji (fluorescencja i fosforescencja) jest od wielu lat stosowana w badaniach ftalocyjanin i ich kompleksów z metalami.

Literatura:

- [1] Weber A., Ertel T. S., Reinohl U., Bertagnolli H., Leuze M., Hees M. i Hanack M.: Eur. J. Inorg. Chem., 2000, 2289–2294.
- [2] Torres T.: J. Porphyrins Phthalocyanines, 2000, 4, 325–330.
- [3] Jiang Z., Shao J., Yang T., Wang J., Jia L.: J. Pharm. Biomed. Anal. 2014, 87, 98–104

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Metody i narzędzia deizotopingu stosowane w spektrometrii mas do badań nad nowotworami

Anna Krawczyk, Joanna Polańska

Politechnika Śląska, Instytut Automatyki, Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych

W celu poprawnego zidentyfikowania białek występujących w obszarach tkanki objętych nowotworem konieczna jest gruntowna analiza danych uzyskanych ze spektrometru mas za pomocą techniki MALDI-IMS. Jednym z takich etapów jest deizotopingu. Obecnie istnieje kilka narzędzi oraz algorytmów do deizotopingu, jednakże po przetestowaniu ich na danych uzyskanych za pomocą techniki MALDI-IMS okazało się, iż wyniki nie są zadowalające, a zaimplementowane algorytmy nie nadają się do danego rodzaju spektrometru mas, a uzyskane wyniki obarczone są dużym błędem.

Naszym celem jest zaproponowanie nowatorskiego algorytmu do deizotopingu będącego częścią procesu przetwarzania danych w spektrometrii mas. Dodatkowo przewiduje się możliwość stworzenia narzędzia bioinformatycznego / oprogramowania dostępnego internetowo opartego na wspomnianym algorytmie. Weryfikację poprawności stworzonego narzędzia bioinformatycznego planuje się przeprowadzić na danych pozyskanych za pomocą techniki MALDI-IMS, dzięki uprzejmości Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Gliwicach.

Badania były finansowane z grantu 02/010/BK_16/3015 (AK, JP). Obliczenia wykonano z wykorzystaniem infrastruktury IT GeCONiI (grant POIG 02.03.01-24-099).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Efekt sąsiedztwa indukowany promieniowaniem ultrafioletowym

Aleksandra Krzywoń

Politechnika Śląska, Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Zakład Inżynierii Systemów

Popromienny efekt sąsiedztwa (ang. radiation induced bystander effect, RIBE) jest zjawiskiem ujawniającym się w postaci zmian biologicznych w komórkach nieeksponowanych na promieniowanie lecz odbierających czynniki molekularne wysłane przez komórki napromieniowane. Efekt ten może ujawniać się w komórkach nieeksponowanych w postaci obniżenia przeżycia komórek klonogennych, uszkodzeń cytotogenetycznych (aberracji chromosomowych, mikrojąder), apoptozy, zmian ekspresji genów czy zmian biochemicznych, ale także może przybierać charakter ochronny wobec komórek napromieniowanych, który obserwujemy jako stymulacja proliferacji, wzrost radiooporności, obniżenie indukcji apoptozy i mikrojąder oraz obniżenie poziomu reaktywnych form tlenu. Celem moich badań jest zbadanie występowania efektu sąsiedztwa po ekspozycji na trzy pasma promieniowania UV (UVA, UVB i UVC) oraz poszukiwanie mechanizmów odpowiedzialnych za to zjawisko. Badania prowadzone są w układzie koinkubacji ludzkich fibroblastów skórnych i komórek czerniaka.

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Two Molecular Subgroups of Serous Ovarian Cancer with Distinct Gene Expression Profiles and Survival Revealed by Unsupervised Analysis

Katarzyna M. Lisowska¹, Magdalena Olbryt¹, Sebastian Student², Katarzyna A. Kujawa¹, Alexander J. Cortez¹, Krzysztof Simek², Agnieszka Dansonka-Mieszkowska³, Iwona K. Rzepecka³, Patrycja Tudrej¹, Jolanta Kupryjańczyk³

¹ Center for Translational Research and Molecular Biology of Cancer; Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, Gliwice, Poland

² Department of Automatic Control, Silesian University of Technology, Gliwice, Poland

³ Department of Pathology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

Purpose Ovarian cancer is typically diagnosed at late stages and thus, patients' prognosis is poor. Improvement in treatment outcomes depends, at least partly, on better understanding of ovarian cancer biology and finding new molecular markers and therapeutic targets.

Methods An unsupervised method of data analysis, Singular Value Decomposition (SVD) was applied to analyze microarray data from 101 ovarian cancer samples; then selected genes were validated by quantitative PCR.

Results We found that the major factor influencing gene expression in ovarian cancer was tumor histological type. The next major source of variability was traced to a set of genes mainly associated with extracellular matrix, cell motility, adhesion, and immunological response. Hierarchical clustering based on the expression of these genes revealed two clusters of ovarian cancers with different molecular profiles and distinct overall survival (OS). Patients with higher expression of these genes had shorter OS than those with lower expression. The two clusters did not derive from high- versus low-grade serous carcinomas, and were unrelated to histological (ovarian vs. fallopian) origin. Interestingly, there was considerable overlap between identified prognostic signature and a recently described invasion-associated signature related to stromal desmoplastic reaction. Several genes from this signature were validated by quantitative PCR; two of them—*DSPG3* and *LOX*—were validated both in the initial and independent sets of samples and were significantly associated with OS and disease-free survival (DFS).

Conclusions We distinguished two molecular subgroups of serous ovarian cancers characterized by distinct OS. Among differentially expressed genes some may potentially be used as prognostic markers. In our opinion, unsupervised methods of microarray data analysis are more effective than supervised methods in identifying intrinsic, biologically sound sources of variability. Moreover, as histological type of the tumor is the greatest source of variability in ovarian cancer and may interfere with analyses of other features, it seems reasonable to use histologically homogeneous groups of tumors in microarray experiments [1].

[1] K.M. Lisowska, et al. (2016), J. Cancer Res. Clin. Oncol. 42(6), 1239-1252. DOI 10.1007/s00432-016-2147-y.

Acknowledgments: This study was supported from National Science Center grant 2012/04/M/NZ2/00133 to K.M.L.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Wykorzystanie pochodnych tiosemikarbazonu w terapii fotodynamicznej

Anna Mrozek-Wilczkiewicz^{a,b}, Katarzyna Malarz^c, Marzena Rams-Baron^{a,b}, Maciej Serda^c,
Franz-Peter Montforts^d, Alicja Ratuszna^{a,b}, Jarosław Polański^c, Robert Musioł^c

^aUniwersytet Śląski, Instytut Fizyki im. Augusta Chełkowskiego, ul. Uniwersytecka 4, Katowice 40-007, Polska

^bUniwersytet Śląski, Śląskie Międzyuczelniane Centrum Edukacji i Badań, ul.75 Pułku Piechoty 1A, Chorzów
41-500, Polska

^cUniwersytet Śląski, Instytut Chemii, ul. Szkolna 9, Katowice 40-006, Polska

^dUniwersytet w Bremen, Instytut Chemii Organicznej, Leobener Strasse NW2C, D-28359 Bremen, Germany

Wykorzystanie pochodnych tiosemikarbazonu (TSC) w terapii fotodynamicznej (PDT) jest innowacyjną metodą opartą na założeniach terapii kombinowanej. Zastosowanie aktywnych w hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych TSC jako wspomagaczy fotouczulaczy, w znaczącym stopniu podnosi skuteczność terapii PDT. Mechanizm działania poszczególnych składowych terapii łączonej w dużej mierze opiera się na generowaniu reaktywnych form tlenu. Pochodne TSC zyskują zdolność do uczestnictwa w reakcjach rodnikowych po związaniu atomu żelaza. Warunkuje to udział w reakcji Fentona i Habera-Weissa, w których zostaje wygenerowany rodnik hydroksylowy. Mechanizm działania fotouczulaczy jest natomiast związany z produkcją tlenu singletowego. Aktywacja cząsteczki o właściwościach fotouczulających zachodzi po zaabsorbowaniu światła z zakresu widzialnego, a następnie reakcji z tlenem molekularnym. Połączenie działania pochodnych tiosemikarbazonu z działaniem naświetlanego fotouczulacza powoduje wzmożenie produkcji reaktywnych form tlenu w sposób synergistyczny. Taki stan przyczynia się do wywołania w komórce stresu oksydacyjnego prowadzącego do zahamowania jej proliferacji.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Iteracyjne zastosowanie deglomeracyjnego algorytmu iK-średnich do grupowania próbek MALDI-MSI pod kątem profilu molekularnego

Grzegorz Mrukwa¹, Grzegorz Drażek¹, Monika Pietrowska², Mykola Chekan², Piotr Widlak²,
Joanna Polańska^{1*}

¹ Politechnika Śląska, Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych, Gliwice

² Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Gliwice

{grzegorz.mrukwa, grzegorz.drazek, joanna.polanska}@polsl.pl

{m_pietrowska, chekan, widlak}@io.gliwice.pl

Analiza danych zebranych podczas spektroskopowych badań próbek biologicznych jest złożonym problemem, zarówno ze względu na rozmiar uzyskanych danych, jak i ich postać. Brak jest specjalistycznego oprogramowania umożliwiającego auto-matyczną identyfikację fragmentów tkanek charakteryzujących się różnymi profilami molekularnymi, jak również wspomagającego dogłębną analizę porównawczą profili molekularnych wybranych obszarów. Większość dostępnych rozwiązań stosuje przekształcenia uniemożliwiające bezpośrednią identyfikację peptydów wchodzących w skład sygnatury molekularnej analizowanych obszarów. Celem projektu jest opracowanie schematu przetwarzania danych spektrometrycznego obrazowania molekularnego tkanek (oraz narzędzi bioinformatycznych wspomagających ten proces) pozwalającego na identyfikację sygnatury molekularnej struktur tkankowych obserwowanych w analizowanych preparatach. Stworzony został schemat wstępnego przetwarzania i modelowania danych, który powoduje znaczącą redukcję rozmiaru danych (np. z 8GB do ~200MB na próbkę, w zależności od próbki), jak i wymiarowości problemu. W kolejnym kroku przeprowadzane jest inteligentne grupowanie widm przy użyciu zmodyfikowanego algorytmu k-średnich z elastyczną (zależną od danych i regionu) selekcją cech informatywnych w każdym kroku rekursywnej klasteryzacji. Schemat wykorzystany został do grupowania widm zmierzonych w 15 preparatach tkankowych (ogółem 201 964 widm o rozdzielczości od 30 000 do 60 000 kanałów masowych, 95 GB danych) pobranych od 15 pacjentów z rozpoznaniem jednym z 5 typów raka tarczycy (MTC, ATC, PTC CV, PTC FV, FTC). Zidentyfikowane sygnatury molekularne typów raka tarczycy poddano walidacji na zbiorze trzech preparatów od trzech niezależnych pacjentów onkologicznych.

Badania były finansowane z grantu BK-227/RAU1/2015/10. Obliczenia wykonano z wykorzystaniem infrastruktury IT GeCONiI (grant NCBiR POIG 02.03.01-24-099).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

WP760 jako potencjalny lek przeciwczeraniakowy

Magdalena Olbryt¹, Anna Habryka^{1,2}, Aleksandra Rusin¹, Sebastian Student³, Patrycja Tudrej¹, Aleksander Sochanik¹, Waldemar Priebe⁴

- 1 Centrum badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii- Instytut im. M. Skłodowskiej- Curie, Oddział w Gliwicach, Polska
2. Department of Pharmacology, University of Cambridge, Cambridge, Wielka Brytania
3. Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Politechnika Śląska, Gliwice, Polska
4. Laboratory of Chemistry and Biology, MD Anderson Cancer Center, Houston, USA

Czerziak skóry w stadium zaawansowanym jest niewyleczalny. W ostatnich latach do praktyki lekarskiej weszło wprawdzie kilka nowych leków, jednakże ich ograniczona skuteczność oraz problem oporności sprawiają, że nowe leki są jak najbardziej potrzebne.

WP760 to pochodna doksorubicyny zsyntetyzowana w MD Anderson Cancer Center przez grupę prof. W. Priebego. Związek ten został wyselekcjonowany jako specyficzny inhibitor wzrostu komórek czerniaka. Nasze badania na panelu 9 linii czerniaka ludzkiego potwierdziły silne właściwości cytotoksyczne względem tych komórek. Średnia wartość IC₅₀ to 18nM. Skuteczność związku jest modulowana przez różne warunki hodowli np. hodowle 3D (sferoidy) są mniej wrażliwe. Również nieodtlenowanie hodowli (hipoksja, 1 % tlenu) zmniejsza skuteczność działania WP760 na niektóre linie. Badania funkcjonalne wykazały, że WP760 hamuje cykl komórkowy oraz indukuje apoptozę w sposób zależny od linii komórkowej. Mechanizm działania WP760 nie jest do końca poznany, natomiast nasze badania molekularne (PCR array oraz Western blotting) ujawniły, że związek ten powoduje inhibicję transkrypcji, aktywację ścieżki p53 oraz zahamowanie ekspresji IGF1R.

Podsumowując, silna cytotoksyczność względem komórek czerniaka spowodowana między innymi aktywacją ścieżki p53 stawia WP760 w grupie potencjalnych leków w terapii zaawansowanego czerniaka skóry.

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Badanie oddziaływania pentacyklicznych dichinotiazyn z DNA z zastosowaniem dokowania molekularnego

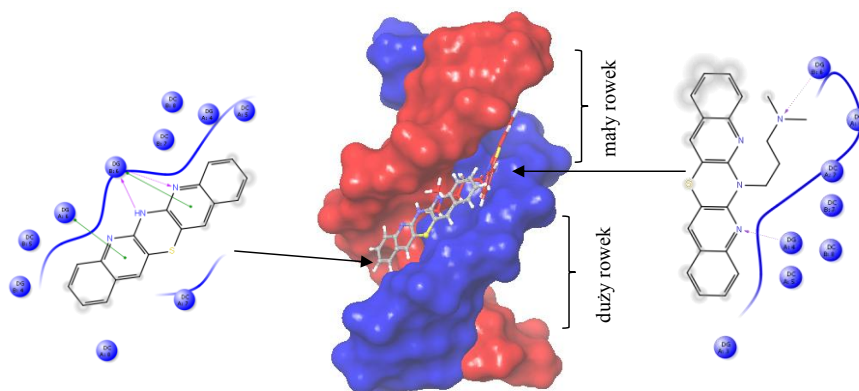
Jolanta Sochacka¹, Marcin Pacholczyk², Małgorzata Jeleń³, Beata Morak-Młodawska³,
Krystian Pluta³

¹Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Zakład Chemii Ogólnej i
Nieorganicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny

²Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Instytut Automatyki, Politechnika Śląska

³Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Katedra Chemii Organicznej,
Śląski Uniwersytet Medyczny

Pochodne fenotiazyny zaliczane są do leków neuroleptycznych wykazujących działanie przeciwpsychotyczne i uspokajające. Wykazują one również działanie przeciwhistaminowe, przeciwwymiotne, przeciwmalaryczne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze oraz immunosupresyjne. Modyfikacja struktury fenotiazyny przez wprowadzenie atomu azotu do pierścienia benzenowego, a także wzbogacenie o kolejne pierścienie i utworzenie układów nawet heksacyklicznych może prowadzić do uzyskania pochodnych o różnej aktywności biologicznej. Badania *in vitro* przeprowadzone na liniach komórkowych 9 typów ludzkiego nowotworu wykazały, że pentacykliczne 6-podstawione dichinotiazyny były aktywne w stosunku do co najmniej jednej linii komórek nowotworowych [1]. Głównym punktem uchwytu działania leków stosowanych w chemioterapii nowotworów są kwasy nukleinowe, dlatego w pracy pojęto próbę oceny oddziaływania z DNA wybranych struktur dichinotiazyny wykazujących znaczące właściwości przeciwnowotworowe. W badaniach zastosowano metodę dokowania molekularnego z wykorzystaniem programu komputerowego Glide SP (Schrodinger Suite 2015-4) oraz Maestro 10.4. [2, 3]. Struktury kryształu dwuniciowych oligonukleotydów (pdb id: 4kwx, d(TCGGCGCCGA)₂ i pdb id: 2b0k, d(CGCGAATTCGCG)₂) importowano z Banku Struktur Białkowych (<http://www.rcsb.org/pdb>). Za pomocą dokowania molekularnego zamierzano określić elementy struktury badanych ligandów odpowiedzialne za wiązanie z DNA oraz ustalić jakiego rodzaju oddziaływania są istotne w procesie tworzenia kompleksu ligand–DNA.



Ryc. 1. Sposób oddziaływania wybranych struktur dichinotiazyn z DNA (pdb id: 4kwx, d(TCGGCGCCGA)₂)

Wykazano, że sposób oddziaływania dichinotiazyn z DNA zależy od sekwencji par zasad w podwójnej helisie. W oligonukleotydach bogatych w pary zasad GC ligandy mogą wiązać się od strony małego rowka i częściowo interkalować pomiędzy te pary. Ponadto atomy azotu w strukturze ligandów zarówno w pierścieniu, jak i w podstawniku biorą udział w tworzeniu wiązań wodorowych z grupami funkcyjnymi zasad. Powstające wiązania wodorowe, a także oddziaływania π - π stabilizują kompleks ligand-DNA.

Literatura

- 1 K. Pluta, M. Jeleń, B. Morak-Młodawska, M. Zimecki, J. Artym, M. Kocięba, *Pharmacol. Reports* 62 (2010) 319–332.
- 2 Friesner, R.A. et al., "Extra Precision Glide: Docking and Scoring Incorporating a Model of Hydrophobic Enclosure for Protein-Ligand Complexes," *J. Med. Chem.*, 2006, 49, 6177–6196
- 3 Schrödinger Release 2015-4: Maestro, version 10.4, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2015.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Wpływ występowania wybranych polimorfizmów w genach ADME na efektywność terapii FAC u pacjentek z rakiem piersi

Jolanta Pamuła-Piłat, Karolina Tęcza, Joanna Łanuszewska, Iwona Domińczyk, Lucyna Ponge, Ewa Grzybowska

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice

Rak piersi jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet. Podstawowy schemat leczenia raka piersi oparty jest na zastosowaniu trzech leków (5-fluorouracylu, doksorybicyny i cyklofosfamidu) tzw. schemat FAC. Wystąpienie niepożądanych efektów chemioterapii raka piersi może być uwarunkowane modyfikacjami w genach białek uczestniczących w biotransformacji i transporcie leków (procesy ADME- absorpcji, dystrybucji, metabolizmu i usuwania leków). Celem pracy było określenie związku występowania polimorfizmów w typie SNPs w genach ADME z efektywnością terapii i jej toksycznością u chorych z rakiem piersi. Identyfikacja zmian typu SNPs w genach, potencjalnie może być pomocna w selekcji pacjentów, którzy odniosą korzyść ze stosowanej terapii lub pacjentów zagrożonych wysoką toksycznością leczenia.

Słowa kluczowe: SNPs, geny ADME, farmakogenetyka

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Programowanie dynamiczne jako metoda identyfikacji efektu paczki

Papież A.¹, Marczyk M.¹, Polańska A.², Polańska J.¹

¹Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych, Instytut Automatyki, Politechnika Śląska w Gliwicach

²Zakład Grafiki, Wizji i Symulacji Komputerowych, Instytut Informatyki, Politechnika Śląska w Gliwicach

Współczesne eksperymenty biologii molekularnej są źródłem ogromnej ilości danych pozyskiwanych technikami wysokoprzepustowymi. Pomimo uważnego projektowania eksperymentu, często nieuniknionym zjawiskiem jest występowanie "efektu paczki" – zmienności w danych pochodzącej od czynników technicznych, nie zaś badanego problemu biologicznego. Wstępne przetwarzanie danych tego typu wymaga doboru odpowiednich metod identyfikacji oraz korekcji ze względu na efekt paczki, aby nie dopuścić do utraty informacji. W tej pracy przedstawiono nowy algorytm identyfikacji efektu paczki przy użyciu programowania dynamicznego dla danych pochodzących z eksperymentów mikromacierzowych. Wyniki wskazują na efektywne odtworzenie podziału w eksperymentach o znanym efekcie paczki, jak również wzrost informacji dotyczącej badanych procesów przy analizie danych o niezarejestrowanym efekcie paczki.

Badania były finansowane z grantu BKM/514/RAU1/2015/t.19. Obliczenia wykonano z wykorzystaniem infrastruktury IT GeCONiI (grant POIG 02.03.01-24-099).

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Profil molekularny uwalnianych przez komórki nowotworowe egzosomów - metodologia badań

Piğłowski W.¹, Walaszczyk A.¹, Funk S.², Gawin M.¹, Whiteside T.², Pietrowska M.¹

¹ Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej - Curie, oddział w Gliwicach

² University of Pittsburgh Cancer Institute, Pittsburgh

Rozwój nowotworu jest złożonym procesem, w którym układ immunologiczny zaczyna odgrywać rolę w chwili pojawienia się pierwszych komórek nowotworowych. Niestety w przypadku nowotworów zostały wykształcone liczne mechanizmy powodujące obniżenie efektywności układu odpornościowego wynikające między innymi z szybkiego rozrostu guza, zaniku prezentowanych antygenów na komórce nowotworowej lub częstej zmiany prezentowanego antygeny. Jedną z funkcji, którą przypisuje się egzosomom jest właśnie hamowanie odpowiedzi immunologicznej w reakcji na rozwijający się nowotwór. Dodatkowo, egzosomy pochodzące m.in. z komórek czerniaka inicjują przekształcanie się komórek układu immunologicznego w komórki hamujące odpowiedź immunologiczną. Egzosomy mogą nie tylko ułatwiać ucieczkę nowotworu spod nadzoru immunologicznego, ale również promować jego rozwój przez przenoszenie cząsteczek sygnałowych między komórkami modulując mikrośrodowisko guza.

W warunkach fizjologicznych egzosomy są wydzielane przez wszystkie komórki, a komórki nowotworowe uwalniają więcej egzosomów niż komórki nienowotworowe. Hodowane komórki nowotworowe, w tym komórki czerniaka, masowo uwalniają egzosomy do pożywek hodowlanych. Wykazano, że profil egzosomów uwalnianych przez komórki czerniaka różni się od egzosomów wydzielanych przez normalne komórki. Ponadto, w badaniu profili izolowanych egzosomów i komórek nowotworowych, z których pochodzą wykryto, że posiadają podobne wzory ekspresji i poziom antygenów specyficznych dla nowotworów. Obserwacja ta świadczy, że profil białkowy może wiernie odtworzyć profil komórki macierzystej. Egzosomy produkowane przez komórki nowotworowe, które zawierają antygeny związane z nowotworem (TAA) po uwolnieniu do płynów ustrojowych reprezentują obecność nowotworu/guza. Wykazano, że egzosomy obecne w układzie krążenia obwodowego pacjentów z czerniakiem zawierają białka charakterystyczne dla komórek tego nowotworu takie jak: MAGE3/6 (mRNA i białko), FasL, MHC I MHC II, CD63 i LAMP1. Prezentowane badania dotyczą oceny białkowego profilu egzosomów uwalnianych przez komórki czerniaka. W osoczu/surowicy krwi pacjentów z rozpoznaniem czerniaka znajdują się zarówno egzosomy uwalniane przez komórki prawidłowe jak i komórki nowotworowe. Ze względu na wielkość cząsteczek oraz ilość uzyskiwanego materiału techniki spektrometrii

mas wydają się być idealnym narzędziem do analizy jakościowej i ilościowej egzosomów. Wykorzystując możliwości wyizolowania egzosomów pochodzących z komórek nowotworowych z płynów ustrojowych pacjentów z wykorzystaniem mini-chromatografii wykluczania (mini-SEC) chcielibyśmy zbadać białkowy profil egzosomów pochodzących z komórek nowotworowych/czerniaka.

Molekularny profil białkowy egzosomów pochodzących z komórek czerniaka jest podobny do profilu komórek z których pochodzi, a więc może służyć jako odpowiednik "płynnej biopsji" i pozwalać na nieinwazyjne monitorowanie obecności guza, jego progresji/regresji w trakcie leczenia oraz rokowania u chorych z rozpoznaniem czerniaka.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Rola reaktywnych form tlenu w sygnalizacji komórkowej

Poteręła Aleksandra¹, Tomasz Hejmo², Magdalena Skonieczna¹, Joanna Rzeszowska-Wolny¹

¹ Politechnika Śląska, Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Zakład Inżynierii Systemów

² Politechnika Śląska, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Biotechnologii Środowiskowej

Reaktywne formy tlenu zaangażowane są w regulację wielu procesów obejmujących sygnalizację, reakcje odpornościowe, proliferację, różnicowanie komórek oraz apoptozę, odgrywając istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu komórki. Reaktywne formy tlenu i azotu obejmują, oprócz rodników tlenowych (takich jak, anionorodnik ponadtlenkowy, nadtlenek wodoru, rodnik hydroksylowy, peroksyłowy i alkoksyłowy oraz tlenek azotu), cząsteczki o właściwościach utleniających oraz takie, które mogą być łatwo przekształcone w wolne rodniki: ozon, tlen singletowy, nadtlenek wodoru, anion azotanowy i kwas podchlorawy. Reaktywne rodniki tlenowe mogą indukować fosforylację i aktywację wielu białek sygnałowych: czynników transkrypcyjnych, kinaz serynowych, cytokin, czynników wzrostu czy kinaz tyrozynowych. Podwyższony poziom ROS może powodować zastępowanie określonych czynników transkrypcyjnych innymi. Do czynników transkrypcyjnych wrażliwych na stężenie reaktywnych form tlenu należą NF- κ B, p53, HIF-1, PEBP2 i HSF.

Nadprodukcja reaktywnych form tlenu i azotu w warunkach stresu oksydacyjnego, wywołanego na przykład promieniowaniem, powoduje uszkodzenia oksydacyjne DNA i innych elementów komórki, prowadząc do apoptozy lub mutacji.

Podwyższony poziom reaktywnych form tlenu odgrywa rolę w patogenezie chorób takich jak nowotwory, choroba Parkinsona, Alzheimer, cukrzyca czy miażdżyca.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Zastosowanie trendów odpowiedzi na niskie i wysokie dawki promieniowania w analizie zmian strukturalnych genomu

Bożena Rolnik¹, Najla Al-Harbi², Sara Bin Judia², Salma Majid², Ghazi Alsbeih², Joanna Polańska¹

¹Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych, Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Politechnika Śląska

²Faisal Specialist Hospital & Research Centre, Riyadh 11211, Kingdom of Saudi Arabia

Radiowrażliwość jest definiowana jako względna podatność komórek, tkanek, czy organizmów na szkodliwe działanie promieniowania jonizującego. Pod wpływem zaabsorbowania dawki promieniowania w komórkach dochodzi do powstawania uszkodzeń materiału genetycznego, a także wolnych rodników wywołujących oksydacyjne uszkodzenia struktur. Wynikiem powstających uszkodzeń jest uruchamianie mechanizmów naprawczych, których działanie może w pewnych przypadkach prowadzić do powstawania zmian strukturalnych w genomie. Zmiany związane z powieleniem bądź delecją fragmentów materiału genetycznego nazywane są Copy Number Variations. W komórkach o zwiększonej wrażliwości na promieniowanie jonizujące można spodziewać się większej liczby powstających uszkodzeń, a tym samym zmian strukturalnych. Celem projektu jest opracowanie metod i narzędzi służących do oceny radiowrażliwości linii komórkowych w oparciu o dane pochodzące z technik cytogenetyki molekularnej. Głównym efektem płynącym z rozwinięcia pracy będzie możliwość wyselekcjonowania markerów genetycznych umożliwiających zaklasyfikowanie pacjentów do grupy o zwiększonej bądź normalnej wrażliwości na promieniowanie. W trakcie realizacji projektu zaproponowano procedurę wykorzystującą przybliżenie obserwowanego rozkładu sygnału sond mikromacierzy rozkładem mieszaniny Gaussowskiej. Z wykorzystaniem testów statystycznych dokonano selekcji miejsc w genomie, gdzie zmiany krotności występowania sekwencji nie mogą być tłumaczone naturalną zmiennością i są klasyfikowane odpowiednio jako amplifikacje bądź delecje. Dokonana klasyfikacja posłużyła do otrzymania trendów odpowiedzi na wybrane dawki promieniowania dla linii komórkowej o zwiększonej oraz normalnej odpowiedzi na promieniowanie.

Acknowledgements: Praca była finansowana w ramach grantu Politechniki Śląskiej BK/213/Rau1/2016/t.10 (JP,BR) i projektu Harmonia 2013/08/M/ST/00924 (JP,GA). Obliczenia zostały wykonane z wykorzystaniem infrastruktury GeCONiI (POIG.02.03.01-24-099/13).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Różnice pomiędzy świadczeniami ambulatoryjnymi a szpitalnymi dla pacjentów poniżej 15 roku życia z rozpoznaną cukrzycą typu 1

Anna Rotarska-Mizera¹, Magdalena Wolak², Przemysława Jarosz-Chobot³, Joanna Polańska¹

¹ Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych, Instytut Automatyki, Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Politechnika Śląska, Gliwice;

² Oddział Katowice, Narodowy Fundusz Zdrowia, Katowice;

³ Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice;

Cukrzyca to choroba metaboliczna, która jest jednym z najczęściej występujących schorzeń w dzisiejszych czasach. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) liczba osób chorych na cukrzycę rośnie rokrocznie. Wśród osób w wieku 20-79 lat na cukrzycę typu 2 chorowało w 2010 roku 285 milionów osób (6,6% populacji), natomiast szacuje się, że w 2040 roku liczba ta wzrośnie do 642 milionów (10,4%). W Polsce cukrzyca zajmuje drugie miejsce pod względem obciążenia ekonomicznego społeczeństwa. Źle prowadzona cukrzyca może przyczynić się do wzrostu kosztów opieki nad pacjentem. Koszty bezpośrednie dotyczą procesu leczenia, w tym wydatków na świadczenia zdrowotne oraz leki. Natomiast pośrednie odnoszą się do spadku produktywności pacjenta, co wpływa niekorzystnie na gospodarkę kraju.

Materiał do prowadzonych badań stanowią dane zgromadzone przez Śląski Oddział Narodowego Funduszu Zdrowia, które dotyczą osób z rozpoznaną cukrzycą lub innymi zaburzeniami gospodarki węglowodanowej w latach 2008-2013. Zawierają one 82 612 155 rekordów dotyczących udzielonych im świadczeń zdrowotnych i przepisanych leków dla 516 813 pacjentów. Celem niniejszej pracy jest porównanie ze sobą świadczeń ambulatoryjnych i szpitalnych u dzieci poniżej 15 roku życia z rozpoznaną cukrzycą typu 1. Grupy świadczeń ambulatoryjnych i szpitalnych są ze sobą komplementarne. Zaobserwowano silne korelacje pomiędzy latami kalendarzowymi a zmianą liczby danych świadczeń. Na przestrzeni analizowanych 6 lat zaobserwowano wzrost procentu liczby świadczeń ambulatoryjnych, przy spadku hospitalizacji. W grupie kosztów również zauważono spadek mediany wartości świadczenia w analizowanym okresie.

Acknowledgements: Praca była finansowana w ramach grantu Politechniki Śląskiej BK/213/Rau1/2016/t.10 (JP,ARM). Obliczenia zostały wykonane z wykorzystaniem infrastruktury GeCONiI (POIG.02.03.01-24-099/1).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Wprowadzenie i omówienie tematyki badawczej oraz przedstawienie zespołu badawczego

Reaktywne formy tlenu, RNA i mechanizmy regulacyjne

Joanna Rzeszowska

Politechnika Śląska, Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Zakład Inżynierii Systemów
Politechnika śląska, Centrum Biotechnologii, ul. Krzywoustego 8, 44-100 Gliwice, Poland

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Wpływ zahamowania ekspresji genu *HSPA2* na gospodarkę wolnorodnikową w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca

Damian Sojka, Damian Matysiński, Agnieszka Gogler-Pigłowska, Dorota Ściegłińska

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej – Curie, Oddział w Gliwicach

Białko HSPA2 (*heat shock protein 2*) należy do rodziny białek szoku cieplnego HSPA (HSP70). HSPA to białka opiekuńcze, które pełnią funkcje opiekuńcze uczestnicząc m.in. w procesie fałdowania innych białek oraz cytoprotekcyjne chroniąc komórki przed negatywnymi skutkami stresu. U człowieka wysoki poziom białka HSPA2 występuje w różnicujących się komórkach spermatogenicznych oraz w wyspecjalizowanych populacjach komórek somatycznych. HSPA2 wykryto także w wielu typach nowotworowych linii komórkowych oraz w różnych typach złośliwych guzów pierwotnych. Funkcje HSPA2 są bardzo słabo poznane. Nieliczne dane wskazują, że w komórkach nowotworowych HSPA2 może być zaangażowane w regulację procesów takich jak, m.in. migracja, starzenie komórkowe, proliferacja.

W naszych wcześniejszych badaniach wykazaliśmy, że wysoki poziom HSPA2 charakteryzuje liczne linie komórkowe wywodzące się z niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC- *Non-small-cell lung carcinoma*). Zaobserwowaliśmy również, że ekspresja genu HSPA2 jest pobudzana w warunkach stresu oksydacyjnego. Poszukując funkcji HSPA2 w komórkach NSCLC otrzymaliśmy linie komórkowe, w których ekspresję genu HSPA2 stabilnie obniżyliśmy przy pomocy technologii interferencyjnego RNA. Przy pomocy cytometrii przepływowej, stosując znaczniki fluorescencyjne przeznaczone do określania poziomu wolnych rodników oraz potencjału błony mitochondrialnej wykazaliśmy, że HSPA2 poprzez wpływ na mitochondria może regulować poziom wolnych rodników w komórkach linii NCI-H520 i NCI-H23. Komórki z obniżonym poziomem HSPA2 cechowało obniżenie potencjału błony mitochondrialnej przy jednoczesnym wzroście poziomu wolnych rodników w komórce. Zmianom tym nie towarzyszyło obniżenie żywotności komórek.

Podsumowując, nasze wyniki sugerują, że białko HSPA2 w komórkach NSCLC może mieć znaczący wpływ na gospodarkę wolnorodnikową, jednak potwierdzenie tej tezy wymaga dalszych badań.

Badania są finansowane przez NCN, DEC-2013/09/B/NZ5/01815.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Wprowadzenie i omówienie tematyki badawczej oraz przedstawienie zespołu badawczego

Aleksander Sieroń

Zakład Biologii Molekularnej
Katedra Biologii Molekularnej i Genetyki
Śląski Uniwersytet Medyczny
ul. Medyków 18
40-752 Katowice

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Wprowadzenie i omówienie tematyki badawczej oraz przedstawienie zespołu badawczego

Dorota Ścieglińska

Z Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15; 44-101 Gliwice; tel.32 278 9637

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Analiza potranskrypcyjnej regulacji biogenezy mikroRNA

Izabella Ślęzak-Prochazka, Karolina Gajda, Joanna Rzeszowska-Wolny

Zakład Inżynierii Systemów, Instytut Automatyki, Politechnika Śląska, Gliwice

MikroRNA (miRNA) to małe (~22nt), niekodujące, jednoniciowe cząsteczki RNA, które hamują ekspresję genów poprzez represję translacji lub destabilizację transkryptów docelowych. MiRNAs są transkrybowane jako długie pierwotne transkrypty (pri-miRNA), które ulegają obróbce przez kompleks Drosha-DGCR8 do prekursorowego miRNA (pre-miRNA), które jest eksportowane do cytoplazmy i ulega dalszej obróbce przez endonukleazę Dicer do dojrzałego miRNA. Biogeneza miRNA może być regulowana na kilku etapach: na poziomie powstawania pri-miRNA podczas transkrypcji, potranskrypcyjnej obróbki miRNA, czyli dojrzewania miRNA oraz stabilności miRNA. Celem naszych badań jest identyfikacja miRNA, których biogeneza podlega potranskrypcyjnej regulacji. Oznaką tej regulacji miRNA jest niezgodność poziomów pri-miRNA i dojrzałego miRNA. W pilotażowych badaniach określiliśmy poziom pri-miRNA i dojrzałego miRNA w prawidłowych limfocytach B oraz chłoniakach B-komórkowych przy użyciu mikromacierzy. Te badania pokazały, że z ponad połowy pri-miRNA nie jest produkowane dojrzałe miRNA. Te wyniki sugerują, iż większość pierwotnych transkryptów jest ekspresjonowana, ale nie podlega obróbce do dojrzałych miRNA w limfocytach B czy chłoniakach B-komórkowych, co sugeruje dużo większy zakres kontroli biogenezy miRNA niż sądzono do tej pory.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Technologia CRISPR/Cas9 w praktyce laboratoryjnej

Agnieszka Toma-Jonik, Natalia Vydra, Wiesława Widłak

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15; 44-101 Gliwice; tel.32 278 9637

Technologia CRISPR/Cas9 wykorzystuje naturalne zjawisko występujące u bakterii i archeonów, będące odpowiednikiem odporności nabytej u wyższych organizmów. Polega ono na zdolności bakterii do obrony przed obcym, plazmidowym lub fagowym materiałem genetycznym. Sekwencje CRISPR (ang. *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) to segmenty prokariotycznego DNA zawierające krótkie powtórzenia sekwencji bazowych. Powtórzenia te są podzielone tzw. *spacer* DNA, będącym pozostałością po infekcji DNA fagowym lub plazmidowym.

Integralnym elementem systemu jest bakteryjna endonukleaza Cas9 (CRISPR-associated) oraz tzw. gRNA (guide RNA), który kieruje nukleazę do komplementarnej sekwencji w genomie. Cas9 generuje podwójne pęknięcia w docelowym DNA. Są one naprawiane przez endogenne komórkowe systemy naprawy DNA (głównie NHEJ – non-homology end joining) wprowadzające do genomu niewielkie insercje/delecje, co prowadzi do zmiany ramki odczytu, a w konsekwencji do wyłączenia funkcji danego genu.

Oprócz wyłączenia funkcji genów obecnie dostępne na rynku produkty do biologii molekularnej wykorzystujące CRISPR/Cas9 umożliwiają również wprowadzanie do genomu konkretnych sekwencji, generowanie nadekspresji określonych genów, znakowanie DNA, a nawet wykorzystanie nukleazy Cas9 do immunoprecypitacji chromatyny.

W prezentacji zostaną przedstawione nasze doświadczenia z wykorzystaniem technologii CRISPR/Cas9 mające na celu wyłączenie funkcji genu *HSF1* w komórkach ludzkiego raka piersi MCF7 oraz usunięcie sekwencji regulatorowej w intronie mysiego genu *Pmaip1* w linii Heca10.

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki nr grantu 2014/13/B/NZ7/02341 oraz 2014/13/B/NZ3/04650.

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Mechanism of hsf1 activation by estrogen in human mammary cells

Natalia Vydra, Agnieszka Toma-Jonik, Joanna Korfanty, Anna Naumowicz, Wiesława Widłak

Center for Translational Research and Molecular Biology of Cancer, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Biology, Gliwice Branch, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101, Gliwice, Poland

Heat Shock Transcription Factor 1 (HSF1) is mainly considered as factor regulating cell response to acute stress. There is a growing evidence that HSF1 could be also activated due to altered kinase signaling frequently observed in cancer cells. In such cases HSF1 supports a lethal phenotype of cancer. It is well documented that a high level of HSF1 is associated with increased mortality of estrogen receptor (ER)-positive breast cancer patients and endometrial cancer patients.

We aimed to study whether HSF1 is important for estrogen (E2) signaling in human estrogen-responsive cell lines. We found that estrogen treatment led to increased HSF1 phosphorylation on S326 (which is the final activation step) in mammary epithelial MCF10a and breast adenocarcinoma MCF7 cells. In spite of increased HSF1 phosphorylation and binding to its target DNA sequences, the expression of HSPs was only slightly modulated. To find out signaling mechanisms leading to HSF1 phosphorylation under E2 treatment (which was not correlated with estrogen receptors expression), we used Human Phospho-Kinase Arrays. We found some connections between signaling activated by E2 and heat shock. Both treatments induced the phosphorylation of ERK1/2, JNK1/2/3, and CREB kinases. Using specific inhibitors for EGFR (AG1478), ERK1/2 (U0126), PI3K (3-methyladenine), and mTOR (rapamycin) we found that EGFR-PI3K-mTOR pathway may be involved in HSF1 phosphorylation under estrogen treatment. A functional role of HSF1 activity under E2 treatment has to be elucidated in further experiments.

This work was supported by grant no 2014/13/B/NZ7/02341 from the Polish National Science Centre.

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Integracja prawdopodobieństw dla analiz wyników eksperymentów wysokoprzepustowej biologii molekularnej

Joanna Żyła¹, Christophe Badie², Ghazi Alsbeih³, Joanna Polańska¹

¹Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych, Instytut Automatyki, Politechnika Śląska w Gliwicach

²Centre for Radiation, Chemical & Environmental Hazards, Public Health England, Chilton, Didcot,
Oxfordshire, OX11 0RQ, United Kingdom

³Radiation Biology Section, Biomedical Physics Dept., King Faisal Specialist Hospital & Research Centre,
Riyadh 11211, Kingdom Saudi Arabia

Wraz z rozwojem wysokoprzepustowych technik biologii molekularnej rozwinięto szereg metod analizy danych, które wyszukują polimorfizmy, geny i białka różnicujące. Równocześnie powstało wiele repozytoriów, w których przechowywane są wyniki tych eksperymentów. Wieloplatformowy kształt problemu jak i duże kolekcje danych wprowadziły metody integracji do analiz wysokoprzepustowych danych biologii molekularnej. Integracja danych rozumiana jest w dwojaki sposób, z jednej strony opisuje ona sposób prezentacji wyników, z drugiej skupia się na integracji wyników z kilku eksperymentów np. w postaci p-wartości. W ramach pracy zostaną przedstawione metody integracji zależnych i niezależnych prawdopodobieństw, które wspomogają analizę danych dla detekcji polimorfizmu pojedynczego nukleotydu. Metody integracji niezależnych prawdopodobieństw wykorzystane są do łączenia wyników z dwóch różnych próbek badawczych, które cechuje zróżnicowane pokrewieństwo. Metody integracji zależnej wykorzystano do połączenia informacji dla dwóch różnych genów, występujących w tej samej kaskadzie sygnałowej. Jako wynik przedstawione zostaną wyniki w postaci analiz wzbogaceni zbiorów genowych dla otrzymanych dwóch typów integracji prawdopodobieństw.

Badania były finansowane z grantu 02/010/BK_16/3015 (JZ, JP) oraz NSTIP-KACST BIO1429-20 (ORA#2120 003) (GA). Obliczenia wykonano z wykorzystaniem infrastruktury IT GeCONiI (grant POIG 02.03.01-24-099).

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.

Uprzejmie prosimy o wypełnienie danych do wystawienia faktury i przekazanie ich drogą elektroniczną lub osobiście w trakcie konferencji, organizatorom:

dr Jackowi Rogolińskiemu

rogolinski@io.gliwice.pl

dr Magdalenie Skoniecznej

magdalena.skonieczna@polsl.pl

Dane do faktury za uczestnictwo w konferencji:

Śląskie Spotkania Naukowe 3-4 czerwca 2016

Hotel Posejdon, Dzierżno k/Pyskowic

Pełna Nazwa Instytucji			
Miasto		Kod pocztowy	
Ulica/Aleja/Plac		Nr	
NIP			
Imię i Nazwisko Uczestnika			
Wartość poniesionej opłaty			

Śląskie Spotkania Naukowe

Dzierżno, 3-4 czerwca 2016 r.



CENTRUM ONKOLOGII – INSTYTUT
IM. MARIII SKŁODOWSKIEJ-CURIE
ODDZIAŁ W GLIWICACH



ITS
Installation training service

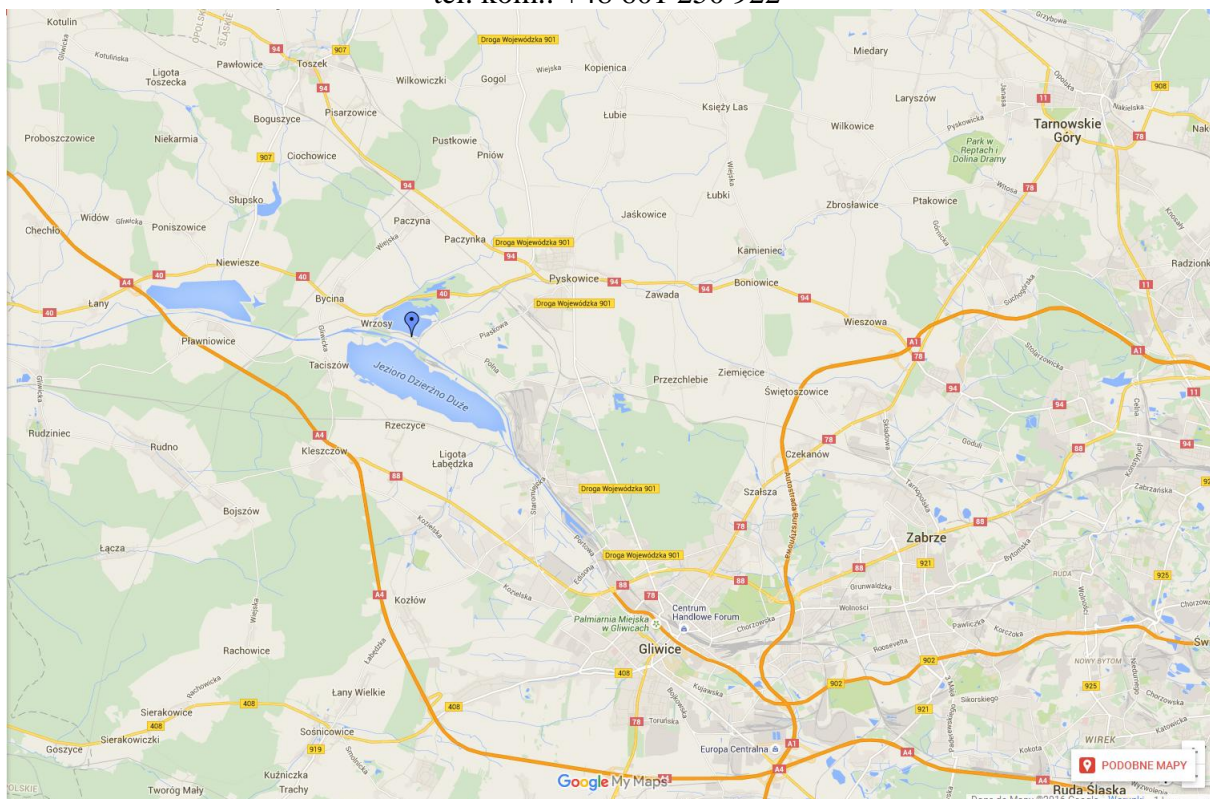
PHU Posejdon - Marcin Cichowski
44-120 Pyskowice – Dzierżno
ul. Nad Kanalem

phuposejdon@poczta.onet.pl

tel. / fax.: +48 32 233 20 09

tel. kom.: +48 609 833 588

tel. kom.: +48 601 250 922



<http://maps.google.pl/maps/ms?ie=UTF8&hl=pl&msa=0&msid=104331098717736318212.000470dcd327316a03a2c&ll=50.385565,18.556509&spn=0.021645,0.055747&z=15>



Śląskie Spotkania Naukowe | 3 czerwca 2016