

Realizari in cadrul INTERA-4/ Etapa I, An 2018: "Obtinerea si caracterizarea nanoparticulelor magnetice si conjugati polimerici cu invelis plicationic de PEI pentru a fi folositi ca agenti de transfectie"

- (i) Angajarea unui tanar cercetator in ICMPP
- (ii) Participarea la 2 conferinte internationale cu lucrari sub forma de poster/ prezentare orala
- (iii) Realizarea unei tehnologii
- (iv) Dintre cele mai importante realizari stiintifice mentionam:

a. Realizarea documentatiei pentru sinteza conjugatilor polimerici de tipul C60-PEI, siloxan-PEI, conjugati pe baza de sculena si ciclodextrina precum si sinteza si functionalizarea nanoparticulelor magnetice.

b. Obtinerea de plasmide pentru a fi folosite in studiile de transfectie cu conjugatii polimerici si nanoparticule magnetice: **apoAI si apoAII in pcDNA 3.1 simplu, cu DYK si cu EGFP**

Prin clonarea secventei apoAI si ApoAII in vectorii pCDNA3.1, pCDNA3.1-DYK si pCDNA3.1-EGFP. Se obtin plasmidele corespunzatoare ale caror harti sunt prezentate in fig 2.

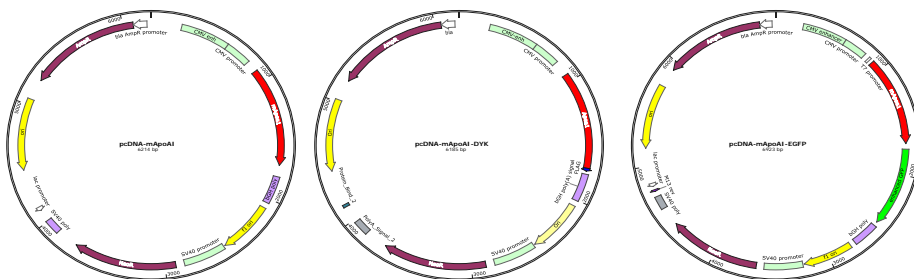


Fig.2. Hartile plasmidelor pCDNA3.1mApoAI, pCDNA3.1mApoAI-DYK si pCDNA3.1mApoAI-EGFP care contin secventele murine ale apoAI clonate in vectorul pCDNA3.1, pCDNA3.1-DYK, pCDNA3.1-EGFP

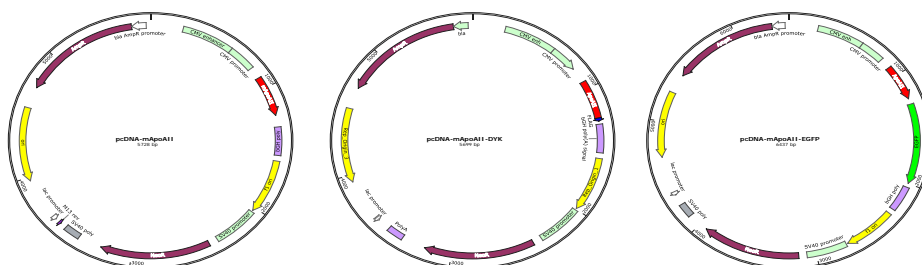


Fig.3. Hartile plasmidelor pCDNA3.1mApoAII, pCDNA3.1mApoAII-DYK si pCDNA3.1mApoAII-EGFP care contin secventele murine ale apoAII clonate in vectorul pCDNA3.1, pCDNA3.1-DYK, pCDNA3.1-EGFP

c. Realizarea unei tehnologii de laborator cu privire la sinteza si caracterizarea structurala a nanoparticulelor magnetice NMP-PEI

d. Realizarea unui protocol de laborator cu privire la caracterizarea morfologica si dimensionala a NMP-PEI, determinarea stabilitatii termice si a proprietatilor magnetice ale nanoparticulelor.

e. Formarea poliplecsilor NPM-PEI/ADN la rapoarte N/P crescatoare: 1, 10, 50, 100 si 200 caracterizarea lor prin determinarea dimensiunilor si potentialului zeta (Nanosizer, Malvern).

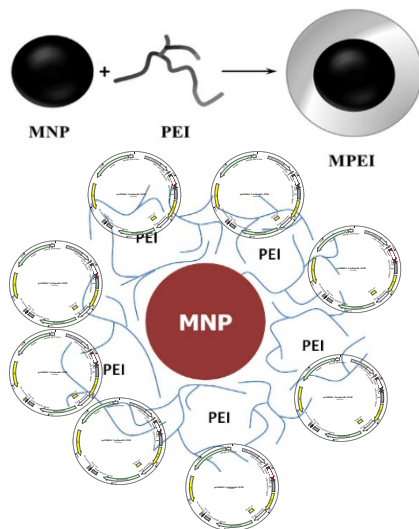


Fig. 4. Reprezentarea schematic a NPM cu PEI complexate cu plasmide

f. Testarea citotoxicitatii NMP-PEI

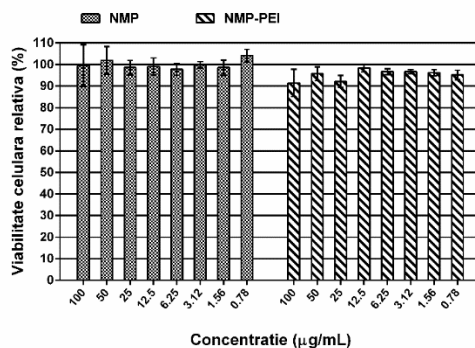


Fig. 5. Citotoxicitatea nanoparticulelor NMP si NMP-PEI testată pe celulele NHDF (fibroblaste umane dermice normale).

g. Intocmirea unui raport experimental cu privire la functionalizarea scualei PEGylate cu glutaraldehidă, in vederea conjugarii cu PEI si caracterizare structurala a acestora.

h. Cuplare covalenta a unor sisteme dinamice pe bază de scualenă PEGylată si glutaraldehidă (CORE) cu PEI 25kDa

i. Caracterizarea structurală a sistemelor dinamice CORE-PEI pe bază de squalenă, PEG și PEI (Sq-PEG-GA-PEI); determinarea raportului CORE-PEI și a procentului masic de N

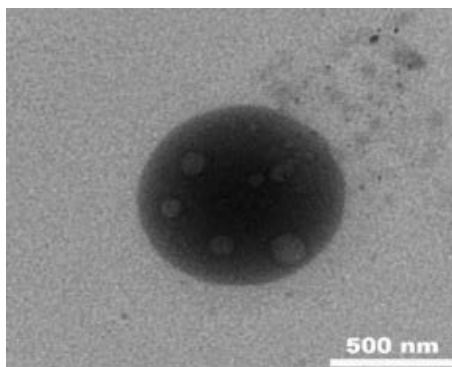


Fig. 6. Imagini TEM pentru sistemul BF_5, stânga la scală de 500 nm

j. Testarea eficienței de transfecție a sistemelor dinamice CORE-PEI

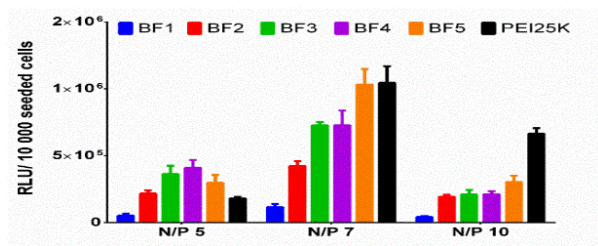


Fig.7. Eficiența de transfecție a CORE-PEI 1-5 in celule HeLa.

DISEMINARE INTERA-4 2018:

► A fost creată a **pagina web INTERA**: http://www.icbp.ro/static/en/en-networking_grants-grants-national_grants/intera.html

► Comunicari la manifestari stiintifice nationale/internationale

1. „The 12th Central and Eastern European Proteomic Conference”, Bucuresti, Romania, 24 - 26 Octombrie, 2018 Bisphenol A down-regulates apolipoprotein A1 expression and exerts pro-atherogenic effects, Violeta Georgeta Trusca, Madalina Dumitrescu, Ioana Madalina Fenyo, Irina Florina Tudorache, Anca Violeta Gafencu, (**poster**)
2. “First Balkan Conference on Medical Mycology and Mycotoxicology” Balkan Fungus 2018, 13-15.09.2018, Timișoara, Romania, Peptanariu D., Uritu C.M., Ardeleanu R., Dascalu A.I., Clima L., Moleavin Turin I., Neamtu A., Pinteala M., Strategies in designing polymers for transfection (**Comunicare Orala**)

CONCLUZII:

Obiectivul etapei I a subproiectului **INTERA-4** a fost indeplinit in totalitate:

- S-a realizat documentatia pentru sinteza conjugatilor polimerici de tipul C60-PEI, siloxan-PEI, conjugati pe baza de scualenă si ciclodextrina precum si sinteza și funcționalizarea nanoparticulelor magnetice.
- Au fost obtinute plasmide folosite in studiile de transfecție cu conjugatii polimerici si nanoparticule magnetice: apoA1 si apoAII in pcDNA 3.1 simplu, cu DYK si cu EGFP.
- S-a realizat o Tehnologie de laborator cu privire la sinteza si caracterizarea structurala a nanoparticulelor magnetice NMP-PEI
- S-a realizat un Protocol de laborator cu privire la Caracterizarea morfologica si dimensionala a NMP-PEI, determinarea stabilitatii termice si a proprietatilor magnetice ale nanoparticulelor.
- Au fost formati poliplecsi NPM-PEI/ADN la rapoarte N/P crescatoare: 1, 10, 50, 100 si 200. Pentru caracterizarea poliplecsilor obtinuti, dimensiunea si potentialul zeta al poliplecsi NPM-PEI/ADN au fost determinate utilizand aparatul Nanosizer (Malvern).
- S-a testat citotoxicitatea NMP-PEI
- S-a intocmit un Raport experimental cu privire la functionalizarea scualenei PEGilate cu glutaraldehydă, in vederea conjugarii cu PEI si caracterizare structurala a acestora.
- S-a finalizat o metoda de cuplare covalenta a unor sisteme dinamice pe baza de scualenă PEGilată, glutaraldehydă și PEI 25kDa,
- S-a intocmit un Raport de caracterizare a sistemelor dinamice BF pe baza de scualenă, PEG și PE