

CONTRACTOR

**Anexa IV/ la contractul de finantare
nr. 342/2011**

Se aprobă,
RECTOR
Acad. Prof. Ioanel Sinescu

Programul:	IDEI
Tipul proiectului:	Proiecte de cercetare exploratorie
Cod proiect:	PCE_2011-3-0800

PLAN DE REALIZARE A PROIECTULUI (2013-2014)

**Denumirea proiectului: Studiu asupra mecanismelor de acțiune moleculare și
celulare ale EGCG și quercetinei ca potențiali agenți chemoterapeutici în celulele leucemice umane Jurkat-T**

Structură cadru

An	Etapa	Obiective	Activități	Rezultate livrate pe etapă
2013	Unică	1. Caracterizarea quercetinei ca indicator fluorescent al activității receptorului rianodinic RyR3 în limfoblaști Jurkat	1.1. Caracterizarea semnalului de calciu indus de quercetină în prezența sau absența unor inhibitori ai RyR3	Quercetina induce în celulele leucemice Jurkat-T un semnal de calciu demonstrat prin efectele unor inhibitori specifici ai RyR (Ruthenium Red, dantrolene, Mg)
			1.2. Determinarea corelației dintre semnalul intracelular de calciu și raportul fluorescenței quercetinei F380/F440	Evidențierea efectelor quercetinei asupra liniei celulare Jurkat-T și a corelației cu semnalul de calciu: raportul fluorescenței quercetinei F380/F440 reflectă activitatea receptorului rianodinic RyR3 (noutate absolută în domeniu)

		1.3. Caracterizarea activității receptorului RyR3 ca funcție de nivelul citosolic de calciu și de concentrația de quercetină	Punerea în evidență a răspunsului receptorului RyR3 funcție de nivelul citosolic de calciu și de concentrația de Que, monitorizarea activității canalului de calciu „in vivo” în premieră internațională. Articol submis la Pfluegers Archiv
		1.4. Estimarea variațiilor cinetice ale concentrației intracelulare de Ca^{2+} după expunerea la quercetină în prezența ionoforului de calciu ionomicină Achiziții consumabile.	Variațiile cinetice ale concentrației intracelulare de Ca^{2+} după expunerea la quercetină în prezența ionomicinei estimate, interpretarea rezultatelor. Achiziții realizate
		1.5. Determinarea dependenței in situ a fracției de receptori RyR în conformație deschisă/închisă de concentrația citosolică de Ca^{2+} sau de quercetină. Achiziție soft pentru citometrul în flux	Determinarea dependenței in situ a fracției de receptori RyR în conformație deschisă/închisă de concentrația citosolică de Ca^{2+} sau Que. Manuscris. Achiziție realizată
	2. Evaluarea efectelor quercetinei asupra viabilității celulare și metabolismului mitocondrial in limfoblaști Jurkat	2.1. Evaluarea supraviețuirii celulare clonogene in urma tratamentelor cu quercetină, menadionă și rotenon. . Prezentarea rezultatelor la Conferința EBSA, Lisabona	Supraviețuirea celulară clonogenă in celule Jurkat supuse tratamentului cu diferite doze de quercetină, menadionă și rotenon determinată. Participare conferință.
		2.2. Evaluarea efectelor quercetinei, menadionei și rotenonului asupra gradului de polarizare mitocondrială și asupra nivelului mitocondrial de NADH si FMN	Determinarea gradului de polarizare mitocondrială și a nivelului mitocondrial de NADH si FMN în funcție de dozele de quercetină, menadionă sau rotenon aplicate celulelor Jurkat T. Articol științific
	3. Investigarea corelației dintre luminescența întârziată (DL) și complexul I al lanțului respirator mitocondrial	3.1. Determinarea caracteristicilor DL (cinetica, produs cuantic, componente spectrale) în celule netratate/tratate cu quercetină, menadionă și rotenon. Stagiu măsurători Catania	Caracteristicile DL în celulele tratate cu quercetină, menadionă și rotenon comparativ cu cele ale celulelor netratate determinate, interpretarea datelor experimentale
		3.2. Analiza corelației dintre luminescența întârziată și nivelul mitocondrial de NADH si FMN	Stabilirea corelației dintre luminescența întârziată și nivelul mitocondrial de NADH si FMN pe baza datelor experimentale

An	Etapa	Obiective	Activități	Rezultate livrate pe etapă
2014	Unică	1. Evaluarea efectelor EGCG asupra viabilității celulare și metabolismului mitocondrial în limfoblaști Jurkat	1.1. Evaluarea apoptozei și a supraviețuirii celulare clonogene ca funcție de doză de EGCG	Supraviețuirea clonogenă a celulelor Jurkat T estimată în funcție de doză de EGCG
			1.2. Evaluarea efectelor EGCG asupra gradului de polarizare mitocondrială și asupra nivelului mitocondrial de NADH, FMN și superoxid	Determinarea gradului de polarizare mitocondrială și a nivelului mitocondrial de NADH, FMN și superoxid funcție de dozele de EGCG
		2. Evaluarea capacității quercetinei și EGCG de a induce eliberarea de calciu în limfoblaști Jurkat	2.1. Caracterizarea reglării in situ a receptorului RyR3 de către Ca^{2+} și quercetină; determinarea parametrilor de legare a situsurilor specifice în conformație deschisă/închisă a canalului	Parametrii de legare a situsurilor specifice în conformație deschisă/închisă a canalului RyR3 calculați
			2.2. Estimarea concentrației citosolice de quercetină și a fluxului de eliberare de calciu în celule intacte expuse la quercetină	Concentrația citosolică de Que și fluxul de eliberare de calciu în celule intacte expuse la quercetină estimate. Manuscris elaborat, articol
			2.3. Caracterizarea semnalului de calciu indus de EGCG sau menadionă în prezența sau absența unor inhibitori ai RyR3	Efectele unor inhibitori specifici ai RyR3 asupra semnalului de calciu indus de EGCG sau menadionă evidențiate. Interpretarea rezultatelor
			2.4. Estimarea variațiilor cinetice ale concentrației intracelulare de Ca^{2+} după expunerea la EGCG sau menadionă în prezența ionoforului de calciu ionomicina Achiziții consumabile	Variațiile cinetice ale concentrației intracelulare de Ca^{2+} după expunerea la EGCG sau menadionă în prezența ionomicinei estimate, interpretarea rezultatelor. Achiziții realizate

			2.5. Estimarea variațiilor cinetice ale concentrației intracelulare de Ca^{2+} după expunerea la quercetină, EGCG sau menadionă în prezența chelatorului de calciu BAPTA/AM	Variațiile cinetice ale concentrației intracelulare de Ca^{2+} după expunerea la quercetină, EGCG sau menadionă în prezența chelatorului de calciu BAPTA/AM estimate
	3. Caracterizarea corelației dintre luminescența întârziată și metabolismul mitocondrial. Realizarea achizițiilor de consumabile și completarea cu al treilea laser pentru citometrul în flux	3.1. Determinarea caracteristicilor DL (cinetica, produs cuantic, componente spectrale) în celule tratate cu EGCG. Participare conferințe (ex. IUPAB), comunicări	Caracteristicile DL în celulele tratate cu EGCG comparativ cu cele ale celulelor netratate determinate, interpretarea datelor experimentale. Comunicări conferințe	
3.2. Determinarea dependenței /independenței luminescenței întârziate de potențialul membranar mitocondrial și de nivelul de superoxid mitocondrial. Deplasări măsurători, documentare (Catania, Frankfurt etc.)		Interpretarea rezultatelor măsurătorilor de luminescență întârziată privind potențialul membranar mitocondrial și nivelul de superoxid mitocondrial. Deplasări efectuate		
3.3. Caracterizarea corelației dintre luminescența întârziată și nivelul mitocondrial de NADH și FMN stabilită după o serie largă de tratamente cu quercetină, menadionă, rotenon și EGCG. Achiziție laser pentru citometru		Corelația dintre luminescența întârziată și nivelul mitocondrial de NADH și FMN după o serie largă de tratamente cu quercetină, menadionă, rotenon și EGCG stabilită. Achiziție realizată. Articol științific		

Director de proiect,

Prof. Dr. Constanta Ganea

Director economic/ Contabil șef,

Ec. Mihaela Calin

Ne asumăm răspunderea pentru corectitudinea datelor prezentate.