

SELEZIONE PUBBLICA, PER ESAMI, PER IL RECLUTAMENTO DI N. 1 UNITA' DI PERSONALE DI CATEGORIA D, POSIZIONE ECONOMICA D1, AREA TECNICA, TECNICO-SCIENTIFICA ED ELABORAZIONE DATI, CON CONTRATTO DI LAVORO A TEMPO DETERMINATO (12 MESI) E PIENO PER LE ESIGENZE DEL DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA (SCHOOL OF MEDICINE AND SURGERY) NELL'AMBITO DEL PROGETTO DI RICERCA "INNOVATIVE CAR THERAPY PLATFORMS" (codice 20PTA017).

Criteria valutazione prove scritte e prova orale

1) Criteri per la prima prova scritta.

La prima prova scritta dovrà servire a mettere in evidenza le competenze del candidato, facendo riferimento all'immunoterapia mediata da Chimeric Antigen Receptor (CAR): struttura generale e funzione della molecola CAR, metodi di produzione di linfociti ingegnerizzati con molecole CAR, vettori virali e non virali. I criteri di valutazione saranno: grado di conoscenza della materia, capacità di sintesi e chiarezza espositiva per un massimo di punti 30

2) Criteri per la seconda prova scritta.

La seconda prova scritta a contenuto teorico-pratico dovrà servire a mettere in evidenza le competenze del candidato, in merito alla pianificazione, design ed utilizzo di un vettore codificante un nuovo CAR per lo sviluppo di approcci terapeutici mediati da immunoterapia: la generazione di una single-chain fragment variable (scFv), il clonaggio in un vettore, caratterizzazione della sua funzionalità delle cellule trasdotte. I criteri di valutazione saranno: grado di conoscenza della materia, capacità di sintesi, capacità di disegno sperimentale e chiarezza espositiva per un massimo di punti 30

3) Criteri per la prova orale

La prova orale dovrà servire a mettere in evidenza le competenze del candidato, con riferimento alle principali tecniche applicate nell'ambito della valutazione pre-clinica di molecole CAR, dal clonaggio alla preclinica. Verranno valutati la maturità e completezza nell'esposizione per un massimo di 30 punti. Durante la prova orale verrà accertata la conoscenza della lingua inglese e delle apparecchiature e applicazioni informatiche più diffuse.

Tracce prima e seconda prova scritta

1) Tracce prima prova scritta

Tema 1

Ingegnerizzazione di cellule CAR-T: metodi non-virali per la trasduzione e la produzione delle cellule CAR-T.

Tema 2

Quali sono le peculiarità del sistema Sleeping Beauty e come funziona nell'ambito della ingegnerizzazione delle cellule CAR-T?

Tema 3

Quali sono i principali elementi che compongono il costrutto di una molecola CAR e quali sono le loro funzioni?

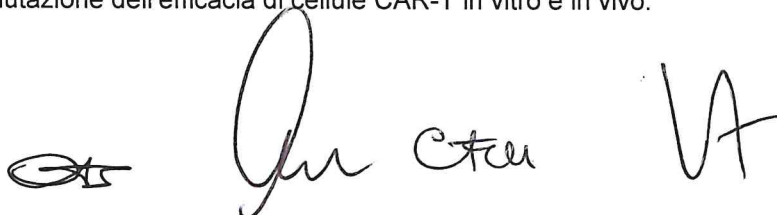
2) Tracce seconda prova scritta

Prova n. 1

Pianificazione di un esperimento di clonaggio di un vettore codificante un CAR in un sistema cellulare. Clonaggio e caratterizzazione funzionale.

Prova n. 2

Descrivere un esperimento per la valutazione dell'efficacia di cellule CAR-T in vitro e in vivo.



Prova n. 3

Espansione di cellule CAR-T in vitro: tecniche di base e principali controlli analitici per la misura della cinetica di crescita, della vitalità cellulare e della funzionalità.

3) Quesiti relativi alla prova orale:

Quesito n.1

- Descrivere la struttura di un vettore codificante un CAR e la sua applicazione dalla pre-clinica alla clinica.
- Tradurre il significato del seguente testo estrapolandone i concetti principali contenuti (non la traduzione letterale):
Despite the rapid development in medical science and the emergence of new medical technology, tumor therapy is still an intractable problem. Conventional therapies, such as surgery, chemotherapy, and radiotherapy, may provide short-term benefits but have annoying side effects due to their invasiveness and biotoxicity. Furthermore, multidrug resistance for chemotherapy and multiple toxicities of radiotherapy limit their curative effects. Therefore, new and effective treatments must be developed. Typical immunotherapy, including the use of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs), T cell receptor (TCR)-engineered T cells, and chimeric antigen receptor (CAR) -modified T cells, has harnessed the immune system against cancer and emerged as a promising treatment modality for human malignancies. TILs are cultured from fragments of resected tumors and have produced encouraging results in the therapy of metastatic melanoma but are limited in other solid tumors due to the difficulty in isolation and expansion in vitro. TCR T cell therapy is restricted to major histocompatibility complex (MHC)-expressing antigens. Alternatively, CAR-T cell-based immunotherapy is independent of MHC and has achieved spectacular success in treating cancers, especially B-cell hematologic malignancies. CARs are recombinant receptors containing an extracellular antigen recognition domain, a transmembrane domain, and a cytoplasmic signaling domain (such as CD3 ζ , CD28, and 4-1BB). Therefore, T cells expressing CAR can recognize a wide range of cell surface antigens, including glycolipids, carbohydrates, and proteins, and can attack malignant cells expressing these antigens through the activation of cytoplasmic costimulation.
- Che supporti informatici utilizzeresti per elaborare i dati un esperimento di espansione cellulare di cellule CAR T in termini di fold increase, vitalità e fenotipo?

Quesito n. 2

- Illustrare brevemente di che domini si compone una molecola CAR e la conseguente risposta da parte di una cellula CAR-T dopo riconoscimento della cellula bersaglio.
- Tradurre il significato del seguente testo estrapolando i concetti principali contenuti (non la traduzione letterale):
In the context of Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT), Donor Lymphocyte Infusion (DLI) has been demonstrated to elicit a measurable response, mediated through a Graft versus Leukemia (GvL) effect, in patients with chronic myelogenous leukemia (CML) and acute myeloid leukemia (AML) who relapse after allo-HSCT. The first evidence of the potency of the DLI as therapeutic tool came from the observation that T-cell infusion after HSCT in chronic myeloid leukemia (CML) patients could be used to generate an immune response against the tumor with the achievement of complete molecular remission[17]. Even though the best response rates of DLI have been observed in the context of hematological diseases, followed by lymphomas and multiple myeloma[18], DLI are rarely successful in relapsed ALL with a long-term disease free survival reported to range between 0% and 13%[19]. Several factors explain this suboptimal response: the lack of adequate T-cell mediated activity, the delayed DLI effects in patients with aggressive diseases, and the absence of costimulatory molecules on the tumor itself.
- Quali supporti informatici utilizzeresti per l'analisi post acquisizione al citofluorimetro dell'immunofenotipo di cellule CAR T?



Quesito n. 3

- Quali sono le principali differenze tra approcci virali e approcci non-virali nella ingegnerizzazione delle cellule CAR-T?
- Tradurre il significato del seguente testo estrapolando i concetti principali contenuti (non la traduzione letterale):
CAR specificity is most commonly endowed by a single chain Fragment variable (scFv) derived from phage display or from mAbs raised against cell-surface antigens, although in some cases receptor ligands have been used. It is generally assumed that a high-affinity antigen-binding domain that targets a plentiful tumor cell-surface antigen with limited expression on normal tissue is desirable; however, the precise and relative importance of affinity and target expression levels have not been defined, and very few antigens show exclusive expression on tumors. The risk-benefit ratio of any particular CAR-expressing T lymphocyte is driven largely by properties of the target, because targets with vital organ expression will induce off-tumor, on-target effects. Depending on the tissues in which the target is expressed, this could result in minimal or unacceptable toxicity. B-cell malignancies provide several attractive CAR targets because mAbs are available to target several B-cell surface antigens, and the mature B-cell compartment is considered to be relatively expendable, at least temporarily, in patients with hematologic malignancies. Thus, CARs targeting CD20, CD19, and CD22 have been developed, and many trials for pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (pre-B ALL) are under way or anticipated. CARs that target CD30 and ROR1 for lymphomas are under study as well and may also be applicable to pediatric hematologic malignancies.
- Quali supporti informatici utilizzeresti per il clonaggio di nuovi costrutti CAR T?

Milano, 11 settembre 2020

LA COMMISSIONE

Prof. BIONDI ANDREA

PRESIDENTE



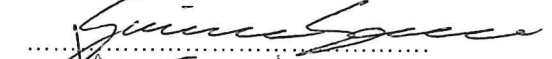
Dr. ssa MAGNANI CHIARA

COMPONENTE



Dott. GAIPA GIUSEPPE

COMPONENTE



Dr.ssa ZOBBI VIRNA FRANCA

SEGRETARIO

