

Studii de Genetica Moleculara privind
Dezvoltarea embriologica, Functia, Patologia si Terapia
Tipurilor de Celule Retinale Ganglionare
Teza de Abilitare
Tudor C. Badea, M.D., M.A., Ph.D.
Cercetator Stiintific II, Universitatea Transilvania
Rezumat

In aceasta teza de abilitare prezint un sumar al cercetarii mele si progresului meu academic si profesional dupa obtinerea titlului de Doctor (Ph.D.) la Johns Hopkins University School of Medicine. De asemenea, prezint cateva dintre proiectele mele de viitor, legate de infintarea unui program de cercetare in genetica moleculara si neurostiinte la Universitatea Transilvania.

Traectoria mea academica (sectiunea B.III.1 din teza) este oarecum neobisnuita. Am obtinut licenta in medicina (M.D.) de la Universitatea de Medicina si Farmacie Iuliu Hatieganu din Cluj, dupa care am urmat un stagiu de cercetare in patologie (fellowship) la Universitatea Maryland. Apoi am schimbat orientarea catre stiinte fundamentale, urmand un program de masterat (Master of Arts) in stiinte biologice la Columbia University in New York, urmat de programul de doctorat (Ph.D.) in Biochimie si Biologie Celulara si Moleculara de la Johns Hopkins University School of Medicine. Din toamna lui 2010 am devenit Cercetator Principal (Principal Investigator) la Institutul National de Sanatate al SUA (National Institutes of Health - NIH) in Bethesda, Maryland, si am condus un grup de cercetare al Institutului National al ochiului (NEI) constand din studenti de colegiu, doctoranzi si cercetatori postdoctorali timp de 11 ani. In toamna lui 2021 m-am alaturat centrului de Cercetare si Dezvoltare al Universitatii Transilvania din Brasov, in cadrul Facultatii de Medicina, unde am initiat un grup de cercetatori dedicat geneticii moleculare si neurostiintelor.

Cercetarile mele sunt publicate in 59 de lucrari evaluate "inter pares", toate in jurnale indexate WOS/ISI, citate de 3109 ori cu un indice Hirsch de 27 (WOS, Decembrie 28 2021). Din acestea, 48 de lucrari au fost publicate dupa obtinerea titlului de doctor, incluzand publicatii in Nature, Cell, Neuron, PNAS, si alte jurnale prestigioase de mare impact. Cateva articole sunt sub recenzie, acceptate si pe cale de a fi publicate sau depositate in BioRxiv. Sunt membru in comitetul editorial la PlosOne si Frontiers in Neuroscience, am participat ca recenzent de lucrari pentru peste 20 de reviste stiintifice indexate WOS/ISI, si am participat ca recenzent de propuneri de proiect pentru multe organizatii de finantare a cercetarii in SUA si Europa. Am fost mentorul a 23 de studenti postdoctorali, doctoranzi, masteranzi si studenti in programe post-baccalaureat, si am functionat ca membru in multe comitete de recrutare, promovare sau management la NIH si pentru alte institutii academice.

In teza voi discuta pe scurt stadiul de dezvoltare si cunoastere al studiului tipurilor celulare neuronale (sectiunea B.I), si voi rezuma criteriile anatomice, fiziologice, moleculare si functionale pentru definitia tipurilor celulare, scotand in evidenta lipsa studiilor cuprinzatoare care sa combine toate aceste criterii intr-un concept unitar. In ultimii 16 ani, studiile mele au fost concentrate in majoritate pe celulele retinale ganglionare (RGC), neuronii care transmit informatia vizuala de la ochi la creier. Folosind RGC ca si exemplu ilustrez cum pot fi definite tipurile neuronale si cum pot fi studiate functia lor in sistemul vizual si dezvoltarea lor embriologica. Apoi prezint mecanismele transcriptionale care regleaza formarea tipurilor de RGC prezentand detaliat familia de factori de transcriptie Brn3/Pou4f, subiectul principal al studiilor mele in ultimii 15 ani.

In sectiunea B.II prezint contributiile mele la aceste domenii. Capitolul B.II.1 descrie studiile mele doctorale asupra tehnicilor de recombinare aleatorie rara folosite in studiul tipurilor celulare neuronale. Aceasta revizie a muncii doctorale este necesara, pentru ca cercetarile mele din perioada de postdoctorat si ca leader de grup la NEI sunt bazate metodologic si conceptual pe instrumentele si temele pe care le-am initiat in timpul doctoratului. Sectiunile B.II.2 pana la B.II.8 descriu principalele mele contributii organizate dupa subiect si/sau metodologia utilizata.

O parte semnificativa din munca mea a constat din elaborarea de noi strategii pentru manipulari genetice si/sau celulare (B.II.1) prin generarea de alele knock-in conditionale in paralel cu alele sintetice care exprima recombinaza Cre. Prin intersectia acestor linii de animale modificate genetic, anumite tipuri celulare de interes pot fi marcate si/sau manipulate. In studii mai recente am inclus si o a doua recombinaza (Dre) in manipularile noastre genetice. Majoritatea acestor manipulari genetice mi-au folosit mie si colaboratorilor mei la intelegerea modului in care factorii de transcriptie controleaza specificarea tipurilor de RGC. Am descoperit mecanisme celulare autonome, coduri combinatorice transcriptionale si interactiuni cu factori neurotrofici (B.II.2). In consecinta, am studiat potentiale mecanisme moleculare pentru specificare tipurilor RGC prin analiza tintelor transcriptionale a factorilor Brn3 in procesul de specificare al RGC, atat in grupul nostru cat si prin colaborari externe (B.II.2 si B.II.3). O directie de studiu extrem de productiva a fost analiza ipRGC (B.II.4), o clasa speciala de RGC care au sensibilitate intrinseca la lumina prin expresia fotopigmentului Opn4/Melanopsina. Folosind manipulari genetice bazate pe linii de animale pe care le-am dezvoltat, am colaborat cu colegi la Hopkins, U. of Maryland, si NIH, participand la subclasificarea ipRGCs in doua populatii, raspunzatoare, respectiv, pentru ritmul circadian si constrictia pupilara.

Cascade transcriptionale si de signaling inrudite regleaza dezvoltarea a mai multe clase de neuroni senzoriali de proiectie (incluzand RGC, celulele somatosenzoriale din ganglionul spinal si trigeminal, si neuronii ganglionilor vestibulari si auditor). De aceea, folosind alele noastre cu knock-in conditional, am putut sa facem progrese semnificative in descrierea anatomica si clasificarea acestor clase de neuroni (B.II.5).

Pentru a analiza consecintele manipularilor noastre genetice asupra electrofiziologiei RGC si a functiei vizuale la soriceii, am desfasurat un program viguros de dezvoltare de tehnici, construind aparatura si software pentru analize functionale ex vivo si in vivo (B.II.6). Acestea ne-au dat posibilitatea sa participam la caracterizarea unei intregi serii de defecte retinale congenitale, boli genetice si modele de boala.

Expertiza si educatia mea initiala a fost centrata pe mecanismele imunopatologice ale bolilor autoimune sau degenerative. In mod mai specific, mi-am initiat cariera de cercetator in SUA ca cercetator postdoctoral in patologie, studiind efectele complementului asupra semnalizarii celulare si transcriptiei in celule somatice, la Universitatea Maryland, sub indrumarea lui Horea Rus si Florin Niculescu. Aceste studii, desfasurate inaintea doctoratului (B.II.7.1) au culminat in clonarea si caracterizarea functionala a RGC-32 (redenumit mai nou Rgcc), o gena implicata in controlul ciclului celular si modificarilor fenotipice suferite de o varietate de celule somatice si imunitare. Ulterior, in timpul studiilor mele de PhD, Postdoctorale si de Investigator Principal, am continuat colaborarea cu laboratorul domnului profesor Rus, si, impreuna, am generat soarelele Knock-out de RGC-32, pe care l-am folosit pentru a demonstra implicarea RGC-32 in cateva modele pe animal pentru boli autoimune si fibroza (Sectiunea B.II.7). Sunt interesat in mod special de rolul RGC-32 in patologie, deoarece date noi din grupul nostru cat si al altora a deomonstrat rolul RGC-32 in tranzitia epitelial-mezenchimala, si reprogramarea femotipica a oligodendrocitelor si astrocitelor in urma stimulilor inflamatorii. Aceste schimbari apar in cateva boli neurologice, incluzand unele cu determinare in sistemul vizual (Glaucom, scleroza multipla sau degerenerescenta maculara legata de varsta).

Pentru viitor mi-am propus sa dezvolt un centru de cercetare in genetica moleculara si neurostinte la Universitatea Transilvania, sa progrez la pozitia de Cercetator Stiintific I sau Profesor, si sa creez un program de cercetare multidisciplinara implicand studenti la toate nivelurile. Sper sa pot realiza aceste scopuri interactionand cu registrul foarte larg de experti de Universitatea Transilvania, de la alte centre din tara, si internationale. Agenda stiintifica va fi in continuare concentrata pe RGC, dezvoltarea (pre - si postnatala) a tipurilor celulare neuronale, si studii comparative intre rozatoare si oameni. Vom folosi modelele noastre experimentale pentru a investiga mecanismele patogenetice in bolile sistemului vizual si vom explora strategiile de restabilirea vazului bazate pe interfete bio-electronice, terapii genetice, sau terapii bazate pe celule stem sau reprogramare celulara. Acest program foarte divers va fi sustinut de doctoranzi din toate domeniile conectate si va fi puternic interdisciplinar.

