

“IL PROGETTO DI RICERCA”

PRIMA PARTE

1) DATI SALIENTI DEL PROGETTO

1.1 Titolo

- Titolo del progetto:

CREAZIONE DI UN'INFRASTRUTTURA MULTIREGIONALE (ITALIAN REGENERATIVE MEDICINE INFRASTRUCTURE: IRMI) PER LO SVILUPPO DELLE TERAPIE AVANZATE FINALIZZATE ALLA RIGENERAZIONE D'ORGANI E TESSUTI

- Titolo del progetto in lingua inglese:

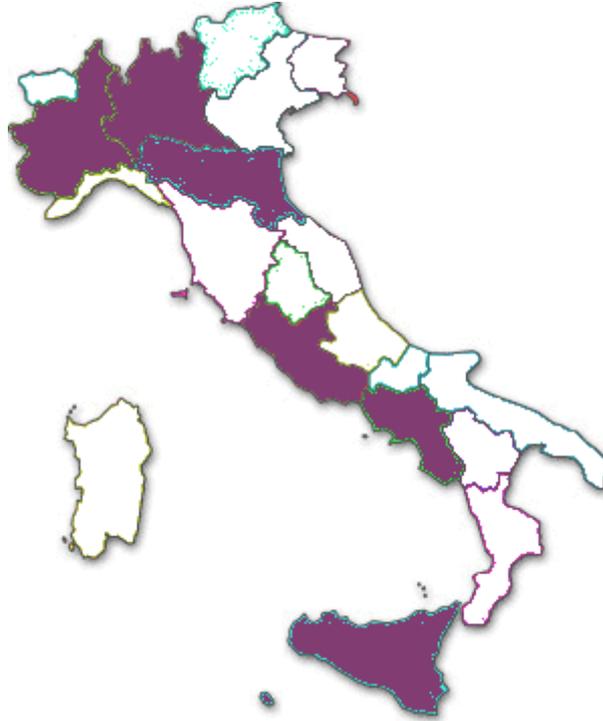
ITALIAN REGENERATIVE MEDICINE INFRASTRUCTURE (IRMI), A MULTIREGIONAL INFRASTRUCTURE FOR THE DEVELOPMENT OF ADVANCED THERAPIES AIMED AT ORGANS AND TISSUES RIGENERATION

- Soggetti Attuatori (Soggetti Partner coinvolti nel progetto)

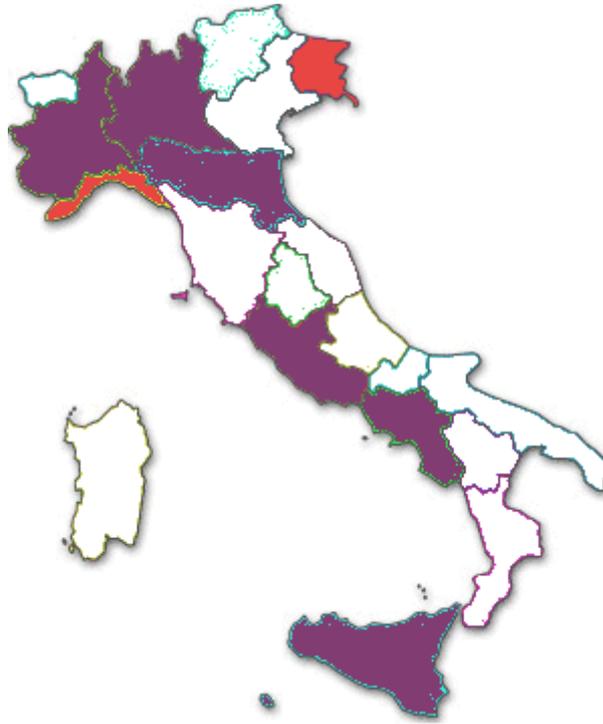
- 1) ADVANCED THERAPIES IN PHARMACEUTICAL GRADE srl, in breve AT GRADE srl, con sede in Via Petrarca 4 – Milano (CAPOFILA) (Regione Lombardia)
- 2) Associazione Temporanea di Imprese, in breve A.T.I. costituita da:
 - a. AB MEDICA Spa. con sede in Via Nerviano, 31- Lainate (Milano) (Lombardia)
 - b. AB TREMILA srl, con sede legale in Via Martini Giovanni Battista, 2 - 00198 Roma (Lazio)
 - c. GENOMNIA srl, con sede legale in Corso Magenta, 56 - 20123 Milano (Lombardia)
 - d. MANATEE Srl, con sede in via Santa Maria alla Porta 9, Milano (Lombardia)
 - e. CHIESI FARMACEUTICI Spa, con sede in Via Palermo, 26/A, Parma (Emilia Romagna)
 - f. MARIA PIA HOSPITAL del GVM care & research (in breve GVM), con sede in Corso Giuseppe Garibaldi, 11, Ravenna (Emilia Romagna)
 - g. IGEA Via Parmenide, 10 Carpi Modena Emilia Romagna
 - h. ISMETT (Sicilia) via Discesa Dei Giudici 4 – 90133 Palermo
- 3) Università degli Studi di Milano, Milano (Regione Lombardia)
- 4) Laboratorio Prometeo, Istituto Ortopedico Rizzoli (IOR), Bologna (Regione Emilia Romagna),
- 5) Università degli Studi di Bologna - (Regione Emilia Romagna)
- 6) Politecnico di Torino, Torino (Regione Piemonte)
- 7) Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia (Regione Emilia Romagna)

8) CNR , Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia, Roma e Istituto di Genetica e Biofisica “A. Buzzati-Traverso”, Napoli (Regione Lazio e Campania)

Le regioni coinvolte sono 6: Lombardia, Piemonte, Emilia Romagna, Lazio, Campania e Sicilia (queste ultime due facenti parte delle Regioni Convergenza).



- Soggetti non proponenti, ma partner di un soggetto attuatore industriale
 - 1) BIOMAT Università di Trieste – partner di Maria Pia Hospital, (Regione Friuli – Venezia Giulia)
 - 2) Università di Genova (Laboratorio di Medicina Rigenerativa) – partner di Maria Pia Hospital, (Regione Liguria)
 - 3) Università di Torino-Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC) – partner di Maria Pia Hospital, (Regione Piemonte)
 - 4) Fondazione RiMED (Palermo) – partner di ISMETT (Regione Sicilia)



Le regioni così coinvolte sono 8: Lombardia, Piemonte, Emilia Romagna, Lazio, Campania, Sicilia, Liguria e Friuli.

- Actuators (Partners involved in the project)

5) ADVANCED THERAPIES IN PHARMACEUTICAL GRADE srl, in short AT GRADE srl, with registered office in Via Petrarca 4 - Milan (PROJECT LEADER)

2) Temporary Association of Companies, in short ATI, consisting of:

- AB MEDICA Spa. con sede in Via Nerviano, 31- Lainate (Milano) (Lombardy)
- AB TREMILA srl, con sede legale in Via Martini Giovanni Battista, 2 - 00198 Roma (Lazio)
- GENOMNIA srl, con sede legale in Corso Magenta, 56 - 20123 Milano (Lombardy)
- MANATEE Srl, con sede in via Santa Maria alla Porta 9, Milano (Lombardy)
- CHIESI FARMACEUTICI Spa, con sede in Via Palermo, 26/A, Parma (Emilia Romagna)
- MARIA PIA HOSPITAL del GVM care & research, in breve GVM, con sede in Corso Giuseppe Garibaldi, 11, Ravenna (Emilia Romagna)
- ISMETT (Sicilia)

6) Università degli Studi di Milano, Milano (Lombardy)

7) Istituto Ortopedico Rizzoli (IOR), Bologna (Region Emilia Romagna)

5) Università degli Studi di Bologna - (Region Emilia Romagna)

6) Politecnico di Torino, Torino (Piedmont)

7) Università degli Studi di Modena- (Region Emilia Romagna)

8) CNR (National Council of Research) CNR, Institute of Cell Biology and Neurobiology, Rome and Institute of Genetics and Biophysics "A. Buzzati-Traverso ", Naples

- Collaborative partners (associated with an industrial partner)

- 5) BIOMAT Università di Trieste – partner di Maria Pia Hospital, (Regione Friuli – Venezia Giulia)
- 6) Università di Genova (Laboratorio di Medicina Rigenerativa) – partner di Maria Pia Hospital, (Regione Liguria)
- 7) Università di Torino-Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC) – partner di Maria Pia Hospital, (Regione Piemonte)
- 8) Fondazione RiMED (Palermo) – partner di ISMETT (Regione Sicilia)

1.2 *Settore/Ambito*

Scienze della vita

Life sciences

1.3 *Sintesi del progetto (Abstract)*

La Medicina Rigenerativa rappresenta la soluzione terapeutica del prossimo futuro, sia perché renderà possibile curare le malattie croniche più onerose per il sistema sanitario, sia perché introdurrà nella pratica clinica nuovi trattamenti più efficaci e meno costosi.

Prerogativa fondamentale della medicina rigenerativa è la sua multidisciplinarietà; tale caratteristica comporta che, al fine di ottimizzare rapidamente prodotti commercializzabili a forte carattere innovativo, deve essere intrapresa una efficace cooperazione coordinata tra imprese ed enti pubblici di ricerca, in grado di far convergere le diverse conoscenze e tecnologie. In altri Paesi più alla avanguardia nella Medicina Rigenerativa (come Germania, Usa e Giappone) sono già state intraprese iniziative a livello politico per lo sviluppo del tessuto industriale in questo settore. La decisione è sta la medesima, cioè lo sviluppo di infrastrutture centralizzate in grado di armonizzare necessità e competenze di pubblico e privato e di gestire tutta la filiera che dalla ricerca porta al letto del paziente.

Nonostante si stimi che, nel solo continente Europeo, il giro di affari nel settore supererà i 5 miliardi di dollari entro la fine del 2015, ad oggi, in Italia non esiste alcuna strategia Nazionale volta all'armonizzazione delle molteplici discipline che sottendono la medicina rigenerativa, né alla promozione della stessa sul territorio. L'infrastruttura proposta nell'ambito del presente progetto (IRMI) avrà l'obiettivo di rispondere alla esigenza di suddetta strategia, il cui obiettivo principale sarà quello di imporre le imprese e le conoscenze Italiane in un settore che comincia oggi la sua "golden age", e che offrirà, nei prossimi anni, eccezionali possibilità di investimento e di sviluppo.

Durante i primi 36 mesi, per i quali è richiesto l'attuale finanziamento, IRMI intende creare una rete di collaborazioni attive tra i membri dell'infrastruttura, avviando un processo di specializzazione tutta Italiana nel settore della Medicina Rigenerativa, con il fine ultimo di:

- 1) potenziare le infrastrutture di biobanking, di manipolazione cellulare e di supporto alle attività di ricerca e sviluppo industriale dei prodotti per terapia avanzata, comprensiva della ricerca clinica traslazionale;
- 2) offrire nuove opportunità di bancaggio autologo di cellule e tessuti, con l'esclusione del sangue cordonale;
- 3) attivare e realizzare un piano triennale di formazione per nuove figure professionali nelle diverse articolazioni della medicina rigenerativa,
- 4) immettere, al termine del percorso di ricerca e sviluppo, sul mercato, :

- almeno quattro tra tessuti umani decellularizzati, paste osteoinduttive termoplastiche e malleabili, tessuti ossei a taglio e dimensionamento automatizzato, membrane biologiche elettrofilate, biomatrici e polimeri biocompatibili;
 - un nuovo prodotto a manipolazione non rilevante, basato su scaffold innovativi, che sfruttino le caratteristiche e potenzialità innovative e distintive del Degrapol®, al fine dell'ottenimento di tessuti autologici capaci di favorire la ricrescita, la migrazione e la rigenerazione cellulare
 - un nuovo prodotto a manipolazione non rilevante, basato su cellule staminali mesenchimali da frazione vascolare stromale del tessuto adiposo (Lipostem) per uso clinico;
 - almeno un prodotto a manipolazione rilevante basato su colture di cellule staminali epiteliali;
 - almeno un farmaco cellulare orfano per la terapia della sclerodermia;
- 5) portare in fase II di sperimentazione clinica almeno due prodotti cellulari a manipolazione rilevante, basati sulla tecnologia Lipostem come fonte cellulare;
 - 6) portare in fase II di sperimentazione clinica almeno due prodotti cellulari a manipolazione rilevante, basato su colture di cellule staminali epiteliali;
 - 7) portare in fase II di sperimentazione clinica almeno 2 prodotti di terapia avanzata per la rigenerazione delle lesioni cutanee;

Le attività previste ai punti 4), 5), 6) e 7) saranno condotte seguendo un iter di sviluppo che prevede attività di ricerca industriale, sviluppo sperimentale, validazione dei risultati, brevettazione e produzione, anche a scopo sperimentale clinico.

- 8) fornire servizi di consulenza e di ricerca in outsourcing su tutto il territorio, al fine di supportare le nuove aziende che intendono cominciare la loro attività in questo ambito;
- 9) attività di divulgazione rivolta al pubblico, rigorosamente scientifica, dei principi e delle potenzialità della medicina rigenerativa.

Grazie all'elevato numero di gruppi che hanno aderito ad IRMI, alla competenza acquisita che assicurerà ad IRMI visibilità ed appetibilità per nuovi investitori e alla partecipazione mirata a bandi di ricerca nazionali ed internazionali, soprattutto ai finanziamenti di Horizon 2020, forte della massa critica che raccoglierà le massime competenze italiane in materia, alla fine dei primi 5 anni di attività, si prevede che l'IRMI sarà in grado di autofinanziarsi, non gravando sullo Stato ed altresì creando nuove figure professionali, nuovi posti di lavoro e promuovendo borse di studio e corsi di formazione.

La costituzione di IRMI crea la condizione perché gli obiettivi realizzativi abbiano un diverso orizzonte temporale con alcuni di essi trasferibili in prodotti per l'industria nell'arco dei 36 mesi del progetto ed altri, i cui tempi di realizzazione sono più lunghi e verranno realizzati in prospettiva di medio-lungo termine.

1.4 Project Abstract

Regenerative medicine represents the therapeutic solution of the next future, because will make possible to treat chronic diseases, the most expensive for national healthcare systems, and because it will introduce new treatment more cheap and effective. The main prerogative of regenerative medicine is its multidisciplinary approach, this feature means that, in order to quickly optimize highly innovative marketable products, should be initiated an effective coordinated cooperation between companies and public institution of research, able to bring together different knowledge and technologies. In other countries, more advanced in regenerative medicine (like Germany, Usa and Japan) initiatives at political level are already been taken in order to promote industrial development in this sector.

The decision has been the same, namely to develop centralized infrastructure in order to harmonize necessities and competencies of public and private sector and to manage all the process that starts with research and arrive to the patient's bed.

Although it is forecasted that the turnover of this sector will exceed 5 Bn. Us Dollar in 2015, today, in Italy doesn't exist any National strategy aimed at harmonizing of the many disciplines that underlie regenerative medicine, or the promotion of the same on the territory. The proposed infrastructure under this project (IRMI) will aim to meet the requirement of the strategy, whose main objective is to impose the Italian companies and knowledge in an industry that today begins its "golden age "and that will bring, in the coming years, excellent opportunities for investment and development.

During the first 36 months, tor which the current funds are requested, the "IRMI" intends to create a network of active collaboration among the members of the consortium, launching a process of specialization "all Italian" in the field of Regenerative Medicine, with the ultimate aim of:

- 1) improving the infrastructure for: biobanking, cell manipulation and support to research activities and industrial development of products for advanced therapy, including translational clinical research;*
- 2) offering new opportunities for autologous "Banking" of cells and tissues, with the exception of cord blood;*
- 3) to activate and implement a three-year training plan for new professionals figures in the various articulations of regenerative medicine,*
- 4) to place on the market, at the end of the process of research and development:*
 - At least four between: decellularized human tissues, osteo-inductive malleable thermoplastic pastes, bone tissue with automated cut and sizing, electro-spun biological membranes, biomatrices and biocompatible polymers;*
 - A new product with not relevant manipulation, based on mesenchymal stem cells from the stromal vascular fraction of dipose tissue (Lipostem) for clinical use;*
 - At least one product with relevant manipulation based on cultures of epithelial stem cell;*
 - At least one cellular orphan drug for the treatment of scleroderma;*
- 5) to bring in phase II of clinical trial at least two cellular products with relevant manipulation, based on Lipostem technology as cellular source.*
- 6) to bring in phase II clinical trial at least two cellular products with relevant manipulation, based on cultures of epithelial stem cells;*
- 7) to bring in phase II clinical trial at least two products of advanced therapy for regeneration of cutaneous lesions;*

The activities in paragraphs 4), 5) 6) and 7) will be conducted following a process of development with industrial research, experimental development, validation of results, patenting and production, including also for clinical trials.

- 8) to provide consultancy and research services in outsourcing over the territory, in order to support new companies that want to begin their activities in this area;*

- 9) *scientific activity of dissemination to the public, of principles and the potential of regenerative medicine.*

Due to the high number of groups that have joined IRMI and to the expertise gained, that will guarantee IRMI visibility and attractiveness to new investors and participation in targeted national and international research calls, especially the funding of Horizon 2020, also on the strength of the critical mass resulting from the gathering of the highest Italian expertise in the field. At the end of the first 5 years of operation, it is expected that the IRMI will be able to finance itself, it will not be a burden on the State and also creating new professions, new jobs and promoting scholarships and training courses.

The establishment of IRMI creates the conditions that the development objectives have a different time horizon with some of them transferable products for the industry over the 36 months of the project and others, whose times of implementation and will be implemented in the medium to long term.1.5

1.5 Descrizione dell'obiettivo finale del progetto

L'obiettivo strategico fulcro dell'IRMI è quello di rendere disponibile una infrastruttura che possa facilitare lo scambio di conoscenze tra le diverse discipline che sottendono i prodotti di medicina rigenerativa. Grazie a questa strategia, lo sviluppo sul territorio di nuovi prodotti per la terapia avanzata sarà incentivata, incrementando di conseguenza la competitività internazionale del sistema industriale biotecnologico italiano per i prodotti a base di cellule e tessuti umani; tale strategia permetterà alle industrie italiane di seguire le enormi possibilità offerte dai mercati europei ed extraeuropei, garantendo quindi, anche introiti diretti, quali proventi dei brevetti e generazione di un mercato industriale di prodotti correlati. In prospettiva, l'IRMI potrà negli anni futuri creare le condizioni scientifiche ed industriali per raggiungere un reale risparmio per il SSN ed una riduzione dei costi sociali.

L'IRMI, inoltre, contribuirà alla comprensione dei meccanismi biologici e delle interazioni cellulari alla base della rigenerazione tissutale, grazie alla continua introduzione in fase di sperimentazione preclinica di prodotti per la medicina rigenerativa. Tali sperimentazioni verranno comunque condotte al fine di promuovere l'adozione delle scoperte nella prassi terapeutica.

In modo più specifico, l'IRMI favorirà la crescita scientifico-industriale nel settore producendo:

- 1) il potenziamento delle strutture di biobanking presso l'Ospedale Niguarda di Milano e LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR di Bologna, offrendo la nuova opportunità di stoccaggio sia autologo che allogeneo di cellule e tessuti, con l'esclusione del sangue cordonale. Ad oggi manca in Italia un'infrastruttura adeguata in termini di spazi e di personale in grado di manipolare, stoccare e distribuire i nuovi tessuti come ad esempio il grasso da liposuzione o il dente deciduo. Il banking deve essere eseguito in attuazione delle normative italiane ed internazionali ed autorizzato dal CNT. Il potenziamento delle strutture di 2 Banche già operative ed autorizzate dal CNT e dalle rispettive Regioni consente di realizzare il progetto entro 12 mesi.
- 2) il potenziamento e la razionalizzazione delle strutture di manipolazione cellulare. Le strutture di manipolazione cellulare (rilevante=cell factory e non rilevante=banche cellule e tessuti) richiedono un investimento più importante per il funzionamento ordinario che per la progettazione e realizzazione degli ambienti. Il conseguimento ed il mantenimento dell'approvazione GMP da parte di AIFA per la produzione sperimentale e non di prodotti per le terapie avanzate rappresentano un costo elevato ammortizzabile solamente a fronte di una produzione sufficiente di farmaci. Le attuali strutture aderenti ad IRMI approvate da AIFA sono 3 e 2 sono in fase di realizzazione ed autorizzazione. La proposta di IRMI è che le strutture siano coordinate ed operino

collaborativamente sull'esempio del PACT costituito in USA da National Lung, Heart and Blood Institute, fornendo anche tutti i servizi necessari per l'organizzazione, gestione ed analisi dei trials clinici e l'interfaccia con gli Enti regolatori, sia per i trials clinici che per l'autorizzazione all'immissione in commercio dei farmaci.

- 3) il potenziamento delle strutture di supporto alle attività di ricerca e sviluppo industriale di prodotti per terapia avanzata, comprensive della ricerca clinica traslazionale. Occorre superare la frammentazione e distanza tra accademia ed impresa: IRMI rappresenta il luogo fisico di tale incontro virtuoso. IRMI, proprio per la coesistenza nell'organizzazione di centri di ricerca accademici e di imprese raggiungerà l'obiettivo di un trasferimento tecnologico continuo per uno sviluppo tecnologicamente competitivo. Chiesi Farmaceutici, con la sua grande esperienza ed un'organizzazione finalizzata sia alla ricerca clinica sia ai rapporti con gli Enti regolatori consentirà ad IRMI di disporre di uno strumento operativo determinante.
- 4) .ricerca e sviluppo sperimentale di nuovi tessuti umani decellularizzati, paste osteoinduttive termoplastiche e malleabili, tessuti ossei a taglio e dimensionamento automatizzato, membrane biologiche elettrofilate, biomatrici e polimeri biocompatibili. I tessuti ossei termoplastici e malleabili a base di DBM, ad oggi, sono quasi esclusivamente importate dagli USA, per la ridotta produzione europea: il LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR è ad oggi l'unico produttore europeo di paste osteoinduttive, ma necessita di un forte potenziamento della sua capacità produttiva. La problematica risiede nella capacità di disporre di dispositivi medici biologicamente compatibili ed efficaci nel raggiungimento degli obiettivi indicati, a costi accettabili. IRMI ha nella sua compagine gruppi di ricerca sia accademici che industriali impegnati nella creazione di biomateriali innovativi, che verranno testati ed utilizzati in combinazione a scopo prototipale.
- 5) ricerca e sviluppo sperimentale volto alla caratterizzazione delle cellule staminali e al loro controllo di qualità , alla realizzazione di un prodotto cellulare a base di progenitori ad alta capacità differenziative derivati da iPS e di molecole attive in grado di regolare la proliferazione e il differenziamento di cellule staminali. Le principali problematiche di R&S e la descrizione delle soluzioni che si intendono studiare relativamente a tali prodotti o processi sono indicate negli OR1) GENOMNIA e CNR, nell'OR2 CNR e nell' OR3 GENOMNIA e CNR a pag. 139-141-144
- 6) ricerca e sviluppo sperimentale di un sistema di polimeri innovativi in grado di controllare la "homing e migrazione" di cellule al fine di favorire la rigenerazione di cellule e tessuti, sperimentando e finalizzando la tecnologia innovativa del Degrapol.
- 7) ricerca e sviluppo sperimentale di almeno un prodotto cellulare a base di cellule staminali mesenchimali da tessuto adiposo, ottenuto con la tecnologia Lipostem, che garantisce un'elevatissima ed unica qualità cellulare per il suo isolamento esclusivamente di tipo fisico. A livello internazionale sono disponibili altre metodiche di manipolazione del tessuto adiposo, ma tutte utilizzano metodi enzimatici od ultrasuoni, che comportano un'alterazione delle capacità rigenerative delle cellule stesse ed una loro modificazione biologica, che ha indotto una identificazione del prodotto finale da parte di FDA come "biologics". Principale problematica è la classificazione del prodotto e, quindi, l'iter regolatorio a cui deve essere sottoposto prima della commercializzazione. La soluzione proposta è la richiesta di consulenza ad AIFA ed EMA prima dell'impiego clinico.
- 8) ricerca e sviluppo sperimentale di un prodotto di terapie avanzate a base di colture autologhe di epitelio corneale, contenente cellule staminali limbari, per il trattamento dell'opacità corneale e della perdita della capacità visiva (unilaterale totale o bilaterale parziale) dovute a ustioni chimiche o termiche della superficie oculare.
- 9) ricerca e sviluppo sperimentale di cellule staminali per trials clinici sia a rilevante che a non rilevante manipolazione in patologie orfane (sclerodermia, epidermolisi bollosa) ed in malattie

croniche ad elevata incidenza, attualmente curabili, ma non guaribili. La gran parte dei trials clinici su terapie avanzate sono attualmente in corso in USA, Australia e Giappone. In Europa solo pochi trials sono attualmente in corso.

- 10) nuove figure professionali per il biobanking, la manipolazione di cellule e tessuti, la ricerca e sviluppo di biomateriali, l'applicazione delle tecnologie convergenti, la gestione di trials clinici ed aspetti regolatori delle terapie avanzate. IRMI si propone anche di formare nuove figure professionali per l'assistenza dei pazienti in terapia con prodotti e procedure finalizzate alla rigenerazione dei tessuti. Ad oggi in Italia esistono figure professionali con formazione generica, ma non specifica per le terapie avanzate.

L'IRMI si propone di promuovere, dopo l'iter di ricerca e sviluppo sperimentale, la traslazione alla clinica di due tipologie di prodotti di medicina rigenerativa: prodotti a manipolazione non rilevante e a manipolazione rilevante. I prodotti a manipolazione non rilevante hanno un iter più facilitato per il loro impiego in terapia rispetto a quelli a manipolazione rilevante. Grazie a queste due differenti tipologie di prodotti, l'IRMI intende attivare, prevalentemente al termine del progetto, un programma di immissione continua sul mercato di nuovi derivati per le terapie avanzate; infatti, i prodotti a manipolazione non rilevante potranno essere introdotti in commercio durante il terzo anno del progetto, dando il tempo ai prodotti a manipolazione rilevante di terminare l'acquisizione di tutte le certificazioni necessarie per il loro impiego terapeutico.

The strategic goal of IRMI is to create an infrastructure that will facilitate the exchange of knowledge between the different disciplines that underlie regenerative medicine products. Thank to this strategy, will be encouraged the development of new products on the territory for the advanced therapy; consequently increasing the international competitiveness of Italian Biotechnology sector for products derived from human tissues and cells.

This strategy will allow Italian companies to follow the enormous possibilities offered by European and other markets, thus ensuring even direct income, such as income from patents and from the creation of an industrial market of related products. Looking ahead, the IRMI can create, in future years, the conditions for scientific and industrial applications in order to achieve real savings for the Italian Health Service (SSN) and a reduction in social costs.In addition to it the IRMI, will contribute to the comprehension of biological mechanism and of cell interaction underlying tissue re generation, tank to the continous introduction of regenerative medicine products in pre clinical trial. Such tests will still be conducted in order to promote the adoption of discoveries in therapeutic practice.

More specifically, the IRMI will support the growth in the scientific-industrial sector producing:

- 1) *the strengthening of existing biobanking structures at the Niguarda Hospital and at the LABORATORY PROMETEO BCTM IOR in Bologna, offering new opportunities for storage of both autologous and allogeneic cells and tissues, with the exception of cord blood. As of today, Italy lacks an appropriate infrastructure in terms of space and personnel able to manipulate, store and distribute the new tissues such as fat from liposuction or deciduous tooth; The banking must be executed according to Italian and international laws and authorized by the CNT. The strengthening of existing two banks already in operation and approved by the CNT and the respective regions allows to implement the project within 12 months.*
- 2) *the strengthening and rationalization of cell manipulation structures; The structures for cell manipulation (relevant= cell factory and not relevant= cell and tissue banks) require an investment more important for the normal operation than for the design and construction of structures. The achievement and the maintenance of GMP by AIFA for experimental production not of products advanced therapies represent a high cost depreciable only against a sufficient*

production of drugs. The current structures belonging to IRMI approved by AIFA are 3 and 2 are under construction and in authorization phase. The IRMI proposal is that the structures are coordinated and operate collaboratively; following the example of the PACT created in the USA by National Lung, Heart and Blood Institute, also providing all the necessary services for the organization, management and analysis of clinical trials and the 'interface with authorities, both for clinical trials and for the marketing authorization of drugs.

- 3) *the strengthening of support structures for research and industrial development of advanced therapy products, including translational clinical research; It is needed to overcome the fragmentation and distance between academia and business: IRMI represents the physical location of that virtuous meeting. IRMI, due to the coexistence in the organization of academic research centers and companies will reach the target of a continuous technology transfer for a development technologically competitive. ChiesiFarmaceutici, with his vast experience and an organization aimed at both clinical research and relations with authorities will allow IRMI to have a decisive operational tool*
- 4) *research and development of new decellularized human tissues, osteo-inductive malleable thermoplastic pastes, bone tissue with automated cut and sizing, electro-spun biological membranes, biomatrices and biocompatible polymers. Bone tissues thermoplastic and malleable based on DBM, as of today are almost exclusively imported from the USA, due to the reduced production in Europe: the PROMETHEUS LAB BCTM IOR is currently the only European manufacturer of osteoinductive paste , but requires a substantial expansion of its capacity The problem lies in the ability to dispose of medical devices biologically compatible and effective in achieving the stated goals, at an acceptable cost. IRMI has in his team research groups both academic and industria, engaged in the creation of innovative biomaterials, which will be tested and used in combination in prototype.*
- 5) *experimental research and development aimed at the characterization of stem cells and their quality control, the implementation of a cellular product based on progenitors with high differentiation capabilities derived from iPS and active molecules able to regulate the proliferation and differentiation of stem cells. The main issues of R & D and descriptions of the solutions that we intend to study in respect of such products or processes are indicated in OR1) GENOMNIA and CNR, CNR and nell'OR2 in 'OR3 GENOMNIA and CNR on page 140-142-145*
- 6) *research and experimental development of an innovative system of polymers capable of controlling the "homing and migration" of cells in order to encourage the regeneration of cells and tissues, experimenting and finalizing the innovative technology of Degrapol*
- 7) *Research and development of at least one cellular product based on mesenchymal stem cells from adipose tissue , obtained with technology Lipostem, that guarantees high and unique cellular quality thanks to its isolation exclusively physical. At the international level there are other methods of manipulation of adipose tissue, but all are using enzymatic or ultrasound methods, entailing an alteration of the regenerative capacity of the cells and their biological modification, which led to an identification of the final product by FDA as "biologics". Main problem is the classification of the product and therefore, the regulatory process that must be submitted before release. The proposed solution is a request for advice to AIFA and EMA prior to clinical use.*
- 8) *research and experimental development of a product of advanced therapies based on autologous cultures of corneal epithelium, containing limbal stem cells, for the treatment of corneal opacity and the loss of visual capacity (total unilateral or bilateral partial) due to chemical or thermal burns of ocular surface.*

- 9) *Research and experimental development of stem cells for clinical trials, (with relevant manipulation as well as with not relevant manipulation), in orphan diseases (scleroderma, epidermolysis bullosa) and in chronic diseases with high incidence, currently treatable but not curable. The vast majority of clinical trials on advanced therapies are currently underway in the Usa, Australia and Japan. In Europe, only a few trials are currently underway.*
- 10) *new professionals figures for biobanking, the manipulation of cells and tissues, the research and development of biomaterials, the application of converging technologies, the management of clinical trials and regulatory aspects of advanced therapies. IRMI also aims to train new professionals for the care of patients treated with products and procedures aimed at tissue regeneration. Today in Italy there are professionals with general training, but not specific for Advanced Therapies.*

The IRMI aims to promote, after the process of research and experimental development, the translation to the clinic of two types of products for regenerative medicine: products with manipulation not relevant and with relevant manipulation. The products with manipulation not relevant have a process more facilitated for their use in therapy compared to those with manipulation relevant. Thanks to these two different types of products, the IRMI intend to activate, mainly at the end of the project, a program of continuous introduction on the market of new derivatives for advanced therapies. In fact, products with manipulation not relevant will be introduced on the market during the third year of the project, allowing products with relevant manipulation to have enough time to terminate the acquisition of all necessary certifications for their therapeutic use.

I prodotti ed i servizi che verranno sottoposti ad iter di ricerca industriale, sviluppo sperimentale, validazione dei risultati, eventuale brevettazione e produzione dall'IRMI nei 36 mesi del progetto sono:

1) PRODOTTI (CELLULE E/O TESSUTI) A MANIPOLAZIONE NON RILEVANTE:

- **TESSUTI DECELLULARIZZATI (DERMA, CARTILAGINE, TESSUTO ADIPOSO E NERVI):** tramite tecniche di decellularizzazione si ottengono degli scaffold privi della componente cellulare che conservano interamente tutte le caratteristiche della matrice extracellulare, ma perdono la loro potenziale immunogenicità. Quando trapiantati, favoriscono la rigenerazione endogena del tessuto lesionato, fornendo un supporto che viene ripopolato dalle cellule del ricevente.
- **PASTE OSTEOINDUTTIVE:** esistono diverse tipologie di paste osteo-induttive, che vengono prodotte miscelando osso corticale demineralizzato con sostanze diverse, ottenendo prodotti biologicamente attivi, ampiamente utilizzati in ortopedia e in chirurgia ortodontica. Oltre all'osso demineralizzato che espone le BMP è possibile aggiungere idrossiapatite, collagene, chips liofilizzate e polimeri biocompatibili in grado di formare un gel a temperatura corporea (37°C). Possono essere utilizzate negli interventi di rigenerazione ossea in cui è necessario avere un prodotto riempitivo malleabile.
- **TESSUTI OSSEI A TAGLIO E DIMENSIONAMENTO AUTOMATICO:** Grazie a questa tecnologia sarà in breve possibile produrre derivati ossei che richiedono una precisione di sagomatura che eccede le naturali possibilità umane. In particolare, verranno sviluppati: cage intervertebrali ossee, piccoli spaziatori che vengono utilizzati in chirurgia vertebrale nella tecnica di fusione intervertebrale e lamine di osso corticale introdotte in commercio per essere utilizzate nella tecnica di chirurgia odontoiatrica, nota con il nome di *box-technique*. Il LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR sarebbe la prima Banca del Tessuto al mondo a commercializzare questo prodotto.
- **LIPOSTEM:** prodotto derivato dal tessuto adiposo, che viene realizzato utilizzando un device monouso partendo dal tessuto adiposo lipoaspirato. Il prodotto è in forma semiliquida e contiene cellule staminali mesenchimali legate ad adipociti; è particolarmente indicato per la rigenerazione di tessuti molli. Il processo di produzione è immediato quindi può essere utilizzato intra-operatoriamente e se occorre può essere congelato conservando le sue

proprietà rigenerative. Verrà impiegato in trial clinici laddove sia necessario ripristinare la funzionalità di un organo, o di un tessuto, promuovendo la rigenerazione endogena.

- **SCAFFOLDS DA ELETTROFILATURA:** tramite tecniche di elettrofilatura di materiali biocompatibili e biodegradabili e loro funzionalizzazione per via chimica, fisica o farmacologica è possibile produrre dispositivi personalizzati per dimensione e topografia e disegnati per specifiche condizioni patologiche, atti a regolare l'attività biologica di cellule esogene ed endogene, e ripristinare l'omeostasi tissutale dopo lesione. Gli scaffolds da elettrofilatura possono essere impiegati da soli o coniugati a cellule o prodotti quali LIPOSTEM, anche nella protezione e riparazione di organi e strutture particolarmente complesse sia sul piano topografico che delle caratteristiche biologiche del tessuto, quali il nervoso e il cardiaco.
- **DegraPol®.** Il DegraPol® è un poliestere-uretano, costituito da due blocchi di polimeri, che impartiscono al prodotto finito proprietà fisico-meccaniche molto differenti. È costituito da polidrossibutirato-diol (Segmento Hard) e da policaprolattolo-diglicole-diol (Segmento Soft). Entrambi sono polimeri biodegradabili e i loro prodotti di degradazione non sono tossici. Utilizzando diversi rapporti di segmento hard e soft è possibile modulare le proprietà meccaniche del prodotto finale. Queste caratteristiche fanno di Degrapol il materiale adatto a diventare l'impalcatura per applicazioni di ingegneria dei tessuti.

The products and services that will be subject to the process of industrial research, experimental development, validation of results, possible patenting and production from IRMI within 36 months of the project are:

1) PRODUCTS (CELL AND / OR TISSUE) WITH NOT RELEVANT MANIPULATION:

- **DECELLULARIZED TISSUE (DERMA, CARTILAGE, ADIPOSE TISSUE AND NERVES)** by decellularization techniques are obtained scaffolds without the cellular component that retain entirely all the features of the extracellular matrix, but lose their potential for immunogenicity. When transplanted, they foster the endogenous regeneration of the injured tissue, providing a support that is repopulated by cells of the recipient.
- **OSTEOINDUCTIVE PASTE:** There are different types of osteo-inductive paste, which are produced by mixing demineralized cortical bone with different substances, obtaining biologically active products, widely used in orthopedic and orthodontic surgery. In addition to demineralized bone that exposes the BMP, is possible to add hydroxyapatite, collagen, lyophilized chips and biocompatible polymers capable of forming a gel at body temperature (37 ° C). Paste can be used in bone regenerative medicine where it is needed to have a malleable filler product.
- **BONE TISSUE WITH AUTOMATED CUT AND SIZING:** with this technology it will be possible, (in a short time) to produce osseous derivatives that require a precision shaping that exceeds the natural human possibilities. In particular, it will be developed: osseous intervertebral cage, small spacers that are used in spinal surgery in the technique of intervertebral fusion and foils of cortical bone introduced on the market to be used in the technique of dental surgery, known with the name of box-technique. LABORATORY PROMETEO BCTM IOR would be the first tissue bank in the world to commercialize this product.
- **LIPOSTEM:** product derived from adipose tissue, which is produced using a disposable device starting from lipoaspirates adipose tissue. The product is in semi-liquid form and contains mesenchymal stem cells bound to adipocytes; is particularly suitable for the regeneration of soft tissues. The production process is immediate so it can be used intra-operatively and if necessary can be frozen, retaining its regenerative properties. The product will be used in clinical trials where it is necessary to restore the functionality of an organ, or tissue, promoting endogenous regeneration.
- **SCAFFOLDS FROM ELECTROSPINNING:** via electrospinning techniques of biocompatible and biodegradable materials and their functionalization by chemical, physical or pharmacological way, is possible to produce custom devices for size and topography and designed for specific pathological conditions, aimed at regulating the biological activity of exogenous and endogenous cells, and restore tissue homeostasis after injury.

The scaffolds by electrospinning can be used alone or conjugated to cells or products such LIPOSTEM, also in the protection and repair of organs and structures particularly complex both on the topographical plan and the biological characteristics of the tissue, such as the nervous and cardiac.

- DegraPol ®. *The DegraPol ® is a polyester-urethane, consisting of two blocks of polymers, which impart to the finished product, very different physical-mechanical properties. It consists of polidrossibutyrato-diolo (Hard Segment) and policaprolattolo-diglicole-diolo (Soft Segment). Both are biodegradable polymers and their degradation products are non-toxic. Using different ratios of hard and soft segment is possible to modulate the mechanical properties of the final product. These characteristics make Degrapol the material suited to become the scaffold for tissue engineering applications.*

2) PRODOTTI CELLULARI A MANIPOLAZIONE RILEVANTE:

- **CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI ESPANSE:** sono cellule staminali, ottenute dal sistema Lipostem, se adipose, o da altre fonti, che vengono espanse in piastra o in bioreattore e anch'esse utilizzate in trial clinici in cui è necessario ripristinare l'omeostasi di un tessuto aiutando la rigenerazione endogena. I trials clinici sono finalizzati alla dimostrazione di sicurezza ed efficacia di tali prodotti. La ricerca biologica ci consentirà anche di definire un aspetto critico regolatorio inerente la definizione di uso omologo o non omologo di tali popolazioni cellulari, in quanto la principale funzione di queste cellule nel tessuto adiposo, come negli altri tessuti, è quella di favorire la neovascolarizzazione, processo ubiquitario nell'organismo e quindi sempre omologo, indipendentemente dalla fonte di isolamento delle cellule. I trial riguarderanno il **trattamento di lesioni del rachide, i rigetti nei trapianti, la cura di malattie rare e la possibilità di essere impiegate in terapie autologhe personalizzate.**
- **CELLULE STAMINALI EPITELIALI ESPANSE.** Negli epiteli stratificati umani sono stati identificati e isolati tre tipi di cheratinociti con differente capacità proliferativa: olocloni, merocloni e paracloni. Gli olocloni sono generati dalle cellule staminali e sono stati studiati e caratterizzati con marcatori molecolari. Nel corso degli ultimi anni, la conoscenza della biologia degli olocloni ne ha consentito la loro applicazione in clinica, sia in terapia cellulare che in sperimentazioni di terapia genica. In particolare, le cellule staminali degli epiteli di rivestimento sono state applicate (i) nel trattamento delle ustioni di terzo grado (procedura salvavita), della vitiligine stabile e delle ulcere croniche degli arti inferiori, (ii) nella prima ricostruzione dell'epitelio corneale in deficit di cellule staminali corneali con recupero della capacità visiva in occhi non altrimenti curabili, (iii) nella prima ricostruzione dell'epitelio uretrale nelle ipospadie posteriori congenite, (iv) nella prima sperimentazione clinica di terapia genica ex vivo della epidermolisi bollosa giunzionale. Questa tipologia di cellule risulta particolarmente indicata per terapie personalizzate. I trial riguarderanno il **trattamento di deficit estesi degli epiteli di rivestimento e sperimentazioni cliniche di fase I/II di terapia genica della epidermolisi bollosa mediante trasduzione ex vivo di cellule staminali epiteliali.**
- **CELLULE PROGENTRICI MIOGENICHE DA iPS.** La tecnologia di riprogrammazione cellulare per la generazione delle iPS è ormai una tecnica largamente utilizzata che ha subito notevoli miglioramenti per garantire efficacia e sicurezza delle cellule riprogrammate, passando dall'infezione lentivirale alla trasfezione con mRNA per 5 geni: Sox2, Klf4, cMyc, Oct4 e Lin28. Le cellule così ottenute possiedono tutte le caratteristiche di cellule staminali offrendo la possibilità di produrre appunto iPS da cellule adulte (fibroblasti o periciti di muscolo scheletrico) con la capacità di proliferare indefinitamente, di poter essere espanse e di successivamente differenziate a seconda delle necessità richieste dal momento. Generando iPS da diversi tessuti sorgente (pelle e muscolo) si vuole studiare la capacità di conservazione dell'impronta molecolare, delle sequenze metilate, e quindi il miglioramento del differenziamento in muscolo scheletrico legato all'origine di isolamento una volta ridifferenziate in progenitori miogenici. Quindi sfruttare tale capacità per generare progenitori miogenici da iPS ad alta capacità differenziativa supportati da matrici sintetiche per la costruzione di tessuto muscolare artificiale.
- **CHERATINOCITI E FIBROBLASTI ESPANSI SEMINATI SU SCAFFOLD 3D:** nuovo prodotto per la terapia avanzata da portare a registrazione presso EMA (European Medicines Agency), per il wound-healing. Nell'ultimo decennio la cura delle ulcere cutanee, ovvero la Vulnologia (dal latino *vulnus*, ferita), ha acquisito dimensioni di sempre maggior interesse nella gestione sia ambulatoriale che ospedaliera del paziente rispetto al passato. L'entità del fenomeno è piuttosto importante, se si considera il numero di pazienti affetti da lesioni cutanee croniche: a livello nazionale le ulcere colpiscono oltre 2 milioni di italiani, circa l'1-2% della popolazione

complessiva e percentuali più elevate se si considerano fasce di età comprese fra i 60 ed i 90 anni. Nelle ulcere croniche, tuttavia, per la complessità clinica generale del paziente e per fattori ancora poco conosciuti, i meccanismi di riparazione tissutale non si attuano semplicemente utilizzando sostituti dermali o medicazioni avanzate, ma è necessario ricorrere all'utilizzo di componenti attive quali le cellule epiteliali espanse (Cheratinociti e Fibroblasti). L'utilizzo di scaffold contenenti cellule è quindi un passo decisivo verso una terapia innovativa nel trattamento delle ulcere. La possibilità di avere a disposizione elementi cellulari da donazione offre notevoli vantaggi clinici tra cui quello di avere un supporto cellulare immediatamente disponibile senza alcun rischio di rigetto e il fatto che le cellule siano inserite in una struttura tridimensionale che impedisce loro di migrare ed entrare in contatto con le cellule deputate alla risposta immunitaria.

- **FIBROBLASTI IN SOSPENSIONE.** Il fronte della ricerca scientifica internazionale mette in luce l'esigenza di trovare una terapia innovativa per la cura di esiti cicatriziali o depressioni cutanee lievi o profonde con l'utilizzo di cellule autologhe. I fibroblasti, cellule deputate alla ricostruzione del derma, vengono impiegati con risultati clinici eclatanti non solo nel trattamento di ulcere croniche, ma anche nella riparazione estetica di esiti cicatriziali post-traumatici o degenerativi. L'utilizzo pertanto di cellule autologhe espanse in vitro e mantenute in sospensione in siero autologo del paziente permette la ricostruzione del tessuto per via iniettiva intradermica/sottocutanea come importante "filler" chirurgico per risolvere esiti cicatriziali post-traumatici o post-chirurgici ed esiti significativi dal punto di vista della medicina riparativa dovuti, ad esempio, a importanti patologie correlate ad acne o alterazioni morfo-strutturali con perdita della tramatura regolare e compatta della cute per fotoaging o insulti fisici, meccanici o chimici della stessa.
- **CONDROCITI IN SOSPENSIONE E SU SCAFFOLD 3D.** Verrà condotto un trial clinico al fine di confrontare i risultati ottenuti nelle lesioni degenerative della cartilagine articolare dei condili femorali con le due metodiche di microfratture e trapianto di scaffold cartilagineo 3D, costituito da condrociti espansi su membrana di acido ialuronico.

2) CELLULAR PRODUCTS WITH RELEVAT MANIPULATION

- **EXPANDED MESENCHYMAL STEM CELL:** *are stem cells, obtained from the system Lipostem, if adipose, or from other sources, which are expanded in plate or in the bioreactor and are also used in clinical trials in which it is necessary to restore homeostasis of a tissue helping the endogenous regeneration. Clinical trials are designed to demonstrate the safety and efficacy of these products. The biological research will also allow us to define a critical regulatory aspect inherent in the definition of homologous or non-homologous use of such cell populations, since the main function of these cells in the adipose tissue, as in other tissues, is to promote neovascularization, ubiquitous process in the body and therefore always homologous, irrespective of the source of isolation of cells. The trial will focus on the **treatment of injuries to the spine, transplantation rejection, the treatment of rare diseases and the ability to be used in customized autologous therapies.***
- **EXPANDED EPITHELIAL STEM CELL.** *In the humans stratified epithelia have been identified and isolated three types of keratinocytes with different proliferative capacity: holoclone, meroclone and paraclone. The holoclone are generated from stem cells and have been studied and characterized using molecular markers. Over the last few years, the knowledge of the biology of holoclone has permitted their application in the clinic, both in cell-based therapy and in gene therapy trials. In particular, stem cells of epithelia of coating were applied (i) in the treatment of third degree burns (lifesaving procedure), of the stable vitiligo and chronic ulcers of the lower limbs, (ii) in the first reconstruction of the corneal epithelium in deficit of corneal stem cells with recovery of visual acuity in eyes not otherwise treatable, (iii) in the first retreat urethral epithelium in the posterior hypospadias congenital, (iv) in the first clinical trial of ex vivo gene therapy of the junctional epidermolysis bullosa. This type of cell is particularly suitable for personalized therapies. The trial will focus on the **treatment of large deficits of the epithelial lining and clinical trials of phase I / II gene therapy of the epidermolysis bullosa by ex vivo transduction of epithelial stem cells.***
- **MYOGENIC PROGENITOR CELLS FROM iPS.** *The technology of cellular reprogramming for the generation of iPS is now a widely used technique which has undergone substantial improvement to ensure effectiveness and safety of reprogrammed cells via lentiviral infection transfected with mRNA for 5 genes: Sox2, Klf4, cMyc, Oct4 and Lin28. The cells thus obtained possess all the characteristics of stem cells offering the possibility of*

producing precisely iPS from adult cells (fibroblasts or pericytes of skeletal muscle) with the ability to proliferate indefinitely, they can be expanded and subsequently differentiated according to the needs required by the moment. Generating iPS from different source tissues (skin and muscle) it is possible to study the ability of conservation of molecular fingerprint, of the methylated sequences, and thus the improvement of the differentiation into skeletal muscle, tied to the origin of isolation once re differentiated in myogenic progenitors. Then build on this capacity to generate myogenic progenitors from iPS with high differentiation capacity, supported by synthetic matrices for the construction of artificial muscle tissue.

- **EXPANDED KERATINOCYTES AND FIBROBLASTS SEEDED ON 3D SCAFFOLD:** *new product for advanced therapy to take to registration with EMA (European Medicines Agency), for the wound-healing. In the last decade the treatment of skin ulcers, has acquired dimensions of increasing interest than in the past, in management of patient in both outpatient and hospital treatment. The magnitude of the phenomenon is quite important, when you consider the number of patients suffering from chronic skin lesions: at a nationwide levels, ulcers affect more than 2 million Italians, about 1-2% of the total population and higher rates if you consider the age groups ranging from 60 to 90 years. In chronic ulcers, because of the complexity of the patient's clinical situation and of factors still poorly understood, the mechanisms of tissue repair are not carried out simply by using dermal substitutes or advanced wound therapeutics, but it is necessary to resort to the use of active components such as epithelial cells expanded (keratinocytes and fibroblasts). The use of scaffolds containing cells is therefore a crucial step towards an innovative therapy in the treatment of ulcers. The possibility to have available cellular elements from donation offers significant clinical advantages including that of having a cellular support immediately available without any risk of rejection and the fact that the cells are inserted in a three-dimensional structure that prevents them to migrate and come in contact with the cells responsible for the immune response.*
- **FIBROBLASTS SUSPENDED.** *The front of the international scientific research highlights the need to find an innovative therapy for the treatment of cicatricial results or mild or deep skin depressions with the use of autologous cells. The fibroblasts, cells, responsible for the reconstruction of the dermis, are used with striking clinical results not only in the treatment of chronic ulcers, but also in aesthetics repair of post-traumatic or degenerative scarring. Therefore the use of autologous cells, expanded in vitro and maintained in suspension in autologous serum of the patient, allows the reconstruction of the tissue by intradermal / subcutaneous injection, as an important surgical "filler" to solve post-traumatic or post-surgical scarring, and significant outcomes from the point of view of reparative medicine due, for example, to important pathologies related to acne or morpho-structural alterations with loss of regular and compact weft of the skin, for photo-aging or physical, mechanical or chemical insults of the same.*
- **SUSPENDED CHONDROCYTES AND ON 3D SCAFFOLD.** *A clinical trial will be conducted in order to compare the results obtained in degenerative lesions of the articular cartilage of the femoral condyles with two methods micro fracture and transplantation of 3D cartilage scaffolds, consisting of expanded chondrocytes on a membrane of hyaluronic acid..*

3) DISPOSITIVI PER LA MEDICINA RIGENERATIVA PRODOTTI A LIVELLO PROTOTIPALE AL TERMINE DEI 36 MESI DEL PROGETTO

- **MATRICE 3D BIOMIMETICA:** *Potenziamento della rigenerazione tessutale, mediante la progettazione di (scaffold) con struttura appropriata, a partire da materiali bioartificiali (a base di materiali naturali e sintetici) capaci di mimare le proprietà fisico-chimiche e i segnali biochimici tipici della matrice extracellulare cardiaca (ECM) ed in grado di supportare l'adesione, la proliferazione e il differenziamento delle cellule staminali. In particolare ci si focalizzerà sulla rigenerazione del tessuto cardiaco, tessuto osseo, tessuto nervoso e tessuto dermico. Tali scaffold biomimetici verranno fabbricati utilizzando tecniche di micro e nano fabbricazione (liofilizzazione, filatura da fuso, elettrofilatura, tecniche di separazione di fase) e modifiche superficiali alla nanoscala (layer-by-layer, trattamento al plasma).*
- **GEL TERMOSENSIBILI:** *Prototipi di gel termosensibili in PU per la preparazione di paste osteoinduttive (OR LABORATORIO PROMETEO BCTM 2) e per l'incapsulamento delle cellula staminali allo scopo di ottenere*

nicchie artificiali, che regolino il comportamento delle cellule staminali. Inoltre, i gel verranno caricati con opportune molecole biotattive in grado di controllare la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali. I gel termosensibili a base di PU sviluppati dal Politecnico di Torino sono molto versatili, perché possono essere preparati da diverse combinazioni di dioli, estensori di catena e diisocianati, in modo da controllarne la biodegradabilità, le proprietà meccaniche e la biofunzionalizzazione tramite gruppi reattivi laterali.

3) DEVICES FOR REGENERATIVE MEDICINE , MANUFACTURED AT A PROTOTYPAL LEVEL AT THE END OF 36 MONTHS PROJECT

- **3D MATRIX BIOMIMETIC:** *Enhancement of tissue regeneration, through the design of (scaffold) with appropriate structure, from bio artificial materials (based on natural and synthetic materials) capable of mimic the physic-chemical and biochemical signals typical of the cardiac extracellular matrix (ECM) and able to support the adhesion, proliferation and differentiation of stem cells. In particular, the focus will be on the regeneration of heart tissue, bone tissue, nervous tissue and dermal tissue. These biomimetic scaffolds will be manufactured using techniques of micro and nano fabrication (freeze-drying, melt spinning, electro spinning, techniques of phase separation) and surface modifications at the nanoscale (layer-by-layer, plasma treatment).*
- **TERMO SENSITIVE GEL:** *Prototypes of thermo sensitive gel in PU for the preparation of osteoinductive pastes (OR LABORATORY PROMETEO BCTM 2) and for the encapsulation of the stem cell in order to obtain artificial niches, regulating the behavior of stem cells. In addition, the gels are loaded with appropriate bioactive molecules able to control the proliferation and / or differentiation of stem cells. The thermo sensitive gel based on PU developed by the Politecnico of Turin are very versatile, because it can be prepared by various combinations of diols, diisocyanates and chain extenders, so as to control the biodegradability, mechanical properties and the bio functionalization through reactive side groups.*

4) NUOVE TECNICHE FINALIZZATE AL CONTROLLO ED AL POTENZIAMENTO DEI PROCESSI E DEI PRODOTTI DI MEDICINA RIGENERATIVA

- **TECNICHE DI SEQUENZIAMENTO MASSIVO DEGLI ACIDI NUCLEICI:** Utilizzo di tecniche di sequenziamento massivo degli acidi nucleici (Next Generation Sequencing, NGS) per affrontare in modo innovativo i problemi connessi al controllo di qualità e alla sicurezza nell'uso terapeutico delle cellule staminali.
- **SISTEMI HTS PER L'IDENTIFICAZIONE DI MOLECOLE REGOLATRICI:** Identificazione e caratterizzazione di nuove molecole che regolano la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali attraverso l'applicazione di metodologie/tecnologie di avanguardia, come la robotica.

4) NEW TECHNIQUES AIMED AT CONTROL AND AT STRENGTHENING OF REGENERATIVE MEDICINE PROCESSES AND PRODUCTS

- **TECHNIQUES OF MASSIVE SEQUENCING OF NUCLEIC ACIDS:** *Using massive sequencing techniques of nucleic acids (Next Generation Sequencing, NGS) to address in an innovative way the problems related to the control of quality and safety in therapeutic use of stem cells.*
- **HTS SYSTEMS FOR THE IDENTIFICATION OF REGULATING MOLECULES:** *Identification and characterization of new molecules that regulate the proliferation and / or differentiation of stem cells, through the application of methodologies / cutting edge technologies, such as robotics.*

5) RICERCA INDUSTRIALE PER IL POTENZIAMENTO DELLE INFRASTRUTTURE AD USO COMUNE DEL PROGETTO IRMI

- **CERTIFICAZIONE BPL/GLP DEI LABORATORI PER LA RICERCA PRECLINICA:** i prodotti per le terapie avanzate, così come i dispositivi medici per la medicina rigenerativa richiedono l'esecuzione di tests preclinici in Laboratori in possesso di requisiti GLP previsti dalle normative nazionali ed internazionali. IRMI si propone di offrire tale servizio ai partecipanti all'infrastruttura e ai richiedenti.
- **INFRASTRUTTURE DI BIOBANKING:** la rete di IRMI consentirà nelle strutture di IOR Bologna e Milano Niguarda, che saranno oggetto di potenziamento strutturale, la manipolazione, stoccaggio e distribuzione di cellule staminali mesenchimali per gli scopi della ricerca.
- **INFRASTRUTTURE PER L'UTILIZZO CLINICO:** la rete IRMI consentirà, nelle strutture ad hoc destinate del Maria Pia Hospital del GVM care & research (in breve GVM). a Torino, la conduzione secondo le norme cGCP dei trials clinici e la possibilità di verificare la trasferibilità alla pratica clinica dei trattamenti di medicina rigenerativa, con passaggio dei trattamenti da degenza ospedaliera ad ambulatoriale.
- **DISSEMINAZIONE DIVULGATIVA DELLA CONOSCENZA SCIENTIFICA:** IRMI si propone di studiare e sviluppare un servizio di comunicazione e di informazione scientifica rigorosa sulla medicina rigenerativa rivolto ai soggetti non professionali, dalla pubblica amministrazione ai privati cittadini.

5) INDUSTRIAL RESEARCH FOR STRENGTHENING OF INFRASTRUCTURE FOR COMMON USE OF PROJECT IRMI

- **CERTIFICATION BPL / GLP LABORATORY FOR PRECLINICAL RESEARCH:** *the advanced therapy products, as well as medical devices for regenerative medicine require the execution of preclinical tests in laboratories holding GLP requirements required by national and international laws. IRMI is to offer this service to infrastructure participants and applicants.*
- **BIOBANKING INFRASTRUCTURE:** *the network of IRMI will allow in the structures of IOR Bologna and Milan Niguarda, (which will be enhanced at a structural level), the manipulation, storage and distribution of mesenchymal stem cells for research purposes.*
- **INFRASTRUCTURE FOR CLINICAL USE:** *the network of IRMI will allow in ad hoc structures of the Villa Maria Group in Turin, the conduction according to cGCP of clinical trials and the ability to verify the transferability to the clinical practice of regenerative medicine treatments, with passage of treatments to hospitalization and surgery.*
- **DISSEMINATION OF SCIENTIFIC KNOWLEDGE:** *IRMI aims to study and develop a communication service and create a rigorous scientific information service on regenerative medicine aimed at non-professional, government and private citizens.*

1.6 Descrizione degli elementi di coerenza del progetto con il Piano, di cui all'art.3 dell'Avviso MIUR prot.n.257/Ric. del 30 maggio 2012, con le strategie d'integrazione con le politiche europee, nazionali e regionali in materia di ricerca e innovazione, di rispetto dei principi orizzontali

La perdita di competitività causata dalla globalizzazione e la conseguente crisi di produttività dei paesi industrializzati, hanno costretto una revisione delle dinamiche economiche, con conseguenti necessità di individuare nuovi obiettivi di sviluppo.

Sulla base di queste premesse, negli ultimi anni si è assistito ad un ritorno di interesse verso le economie mirate alla localizzazione delle attività, in particolare verso la costituzione di reti di che alimentano il processo di sviluppo e di valorizzazione; tali reti sono particolarmente efficaci se sviluppate in contesti di prossimità geografica.

In questo contesto, la strategia scelta dalla Commissione Europea è stata quella di promuovere la nascita di cluster regionali di eccellenza.

Storicamente, il concetto di cluster è stato delineato per la prima volta negli anni '20 per descrivere le regioni industrializzate dell'Inghilterra del diciannovesimo secolo: "Il distretto industriale" è definito come un'agglomerazione di imprese che operano nel medesimo settore industriale all'interno di una ben definita e relativamente piccola area geografica.

La spinta che conduce spontaneamente alla clusterizzazione delle attività è la competizione internazionale, soprattutto nei campi ove la segmentazione delle fasi del processo produttivo necessita di un coordinamento volto all'ottimizzazione dell'intero processo; questa strategia, infatti, permette di abbattere i costi dello sviluppo, e garantisce vantaggi economici a tutti le imprese che prendono parte alla medesima filiera.

Il cluster industriale moderno richiede la compartecipazione di imprese, consumatori, enti governativi territoriali e istituzioni di supporto quali centri di ricerca e università. Alla fine degli anni '90, inoltre, ai concetti sopra menzionati si sono aggiunti due nuovi elementi: la presenza di infrastrutture specializzate e la necessità di strategie a supporto del trasferimento tecnologico. Tali elementi sono presto diventati requisiti fondamentali per la nascita e il consolidamento di cluster nei comparti di avanguardia tecnologica.

Questa strategia, recepita ed applicata dall'Unione Europea, ha condotto all'istituzione nel 2008 dell'European Cluster Policy Group (ECPG) allo scopo di rafforzare la consapevolezza della Commissione e degli Stati Membri sulle possibili politiche a favore dell'eccellenza dei cluster, con la consapevolezza che un cluster di eccellenza si traduce in un aumento di competitività dell'intero sistema economico europeo. Inoltre, i fondi per la ricerca e lo sviluppo che verranno erogati nell'ambito di Horizon 2020 vedranno i cluster come soggetti chiave della compagine dei proponenti.

In questo contesto si inserisce il cluster ALISEI, il cui obiettivo strategico è la implementazione e l'armonizzazione a livello nazionale del modello di interazione tra il sistema della ricerca, il tessuto imprenditoriale e produttivo, il sistema dei servizi a valore aggiunto dedicati allo sviluppo e la pubblica amministrazione territoriale. Questo modello è già stato sperimentato con successo in alcune regioni italiane.

ALISEI si propone di essere uno strumento nazionale di eccellenza per l'orientamento delle politiche industriali nell'ambito delle Scienze della Vita e per la promozione della ricerca e dell'innovazione nel medesimo campo. Inoltre, ALISEI si propone di favorire la implementazione dell'attuale standard della cura della salute umana, della qualità della vita, della dimensione e della competitività del sistema economico e produttivo nazionale.

In quanto sistema capace di costruire una mappa delle innovazioni e di gestirla nella sua interezza, il Cluster Tecnologico Nazionale ALISEI favorirà la crescita di sottosistemi territoriali (cluster territoriali) dinamici, competitivi, sinergici e complementari sia per concentrare le risorse raggiungendo la massa critica, sia per massimizzare gli impatti a livello socio-economico, catalizzando importanti processi di sviluppo ed innovazione nel campo delle Scienze della vita in Italia.

In sintesi gli obiettivi strategici di ALISEI sono i seguenti:

- Stimolare la crescita di relazioni ricerca-industria che possano evolversi in elementi di competitività settoriale al fine di migliorare le performances competitive a livello internazionale.
- Migliorare la qualità della vita dei cittadini italiani.
- Ottimizzare l'intero processo sanitario, dalla prevenzione alla diagnosi, dalla terapia alla riabilitazione e rieducazione, per garantire una ingente riduzione della spesa sanitaria nazionale.

- Favorire la generazione di collaborazioni progettuali tra ricerca ed industria che si caratterizzino per le caratteristiche fondamentali del cluster, dunque massa critica, multiregionalità e multidisciplinarietà.
- Sviluppare iniziative di trasferimento tecnologico e di sviluppo di strumenti condivisi da parte della ricerca pubblica.
- Interagire con i cluster territoriali per massimizzarne le possibilità di crescita e di lavoro comune.
- Supportare la nascita di imprese innovative supportandole con capitale di rischio necessario al loro sviluppo
- Avviare iniziative di internazionalizzazione supportando le iniziative dei singoli attori per favorire il riposizionamento internazionale del sistema paese, con il fine ultimo di attrarre talenti, investimenti e attività economiche e produttive sul territorio nazionale
- Permettere lo sviluppo di strumenti ed iniziative finalizzate alla formazione avanzata di livello internazionale di nuove figure professionali.

Il presente progetto risponde interamente alle esigenze alla base della formazione di un cluster e, in particolare, è in pieno accordo con tutti gli obiettivi strategici di ALISEI.

Innanzitutto, IRMI prevede la nascita di una infrastruttura di ricerca e sviluppo altamente specializzata, che riunisce:

- 10 piccole, medie e grandi imprese:
 - AT Grade
 - GVM
 - AB Medica
 - AB Tremila
 - Genomnia
 - Lipostem
 - Chiesi Farmaceutici
 - IGEA
 - Holostem
 - ISMETT
- 12 centri di ricerca:
 - Università di Milano
 - Ospedale Niguarda
 - Istituto Ortopedico Rizzoli
 - Università di Modena e Reggio Emilia
 - Università di Bologna
 - RiMED
 - CNR Roma
 - CNR Napoli
 - Università di Torino
 - Politecnico di Torino
 - Università di Genova
 - Università di Trieste
- 5 cell factory, di cui tre approvate da AIFA e due in fase di approvazione:
 - Cell Factory Niguarda – Autorizzata AIFA
 - Cell Factory IOR – Autorizzata AIFA
 - Cell Factory Modena – Autorizzata Aifa
 - Cell Factory Torino – in attesa di autorizzazione
 - Cell Factory RiMED – in attesa di autorizzazione

Tali strutture sono dislocate su 8 regioni:

- Lombardia
- Piemonte
- Friuli Venezia-Giulia

- Emilia Romagna
- Lazio
- Sicilia
- Liguria
- Campania

Non è un caso che le regioni elencate abbiano aderito al progetto IRMI, infatti:

- 1) sette di queste regioni sono quelle che in assoluto, in Italia, hanno precedentemente ottenuto il maggior numero di finanziamenti, approvati dalla Commissione Europea e dal MIUR;
- 2) sono le regioni nelle quali, attraverso riconoscimenti pubblici per lo sviluppo delle biotecnologie, sono stati creati parchi tecnologici e distretti operanti nella ricerca e sviluppo di terapie basate appunto sulle biotecnologie;

IRMI nasce, quindi, come struttura di coordinamento delle attività scientifiche in regioni in cui sono già attivi importanti distretti tecnologici. Questo è un primo forte elemento di coerenza con il piano strategico, il quale sottolinea e sostiene l'importanza delle biotecnologie, dei parchi scientifici e dei distretti. Inoltre, ricercatori e imprese di sette delle undici regioni aderenti al cluster ALISEI hanno aderito al progetto IRMI.

ALISEI ha identificato nelle Terapie avanzate il settore chiave per lo sviluppo della medicina del futuro. Negli ultimi anni il mondo scientifico, infatti, ha riposto particolare attenzione verso la ricerca e lo sviluppo delle terapie avanzate, dunque di una nuova categoria di farmaci biologici, basati su materiale genetico, cellule e tessuti che si sono dimostrati efficaci nella cura di svariate patologie e che hanno un elevato potenziale nel trattamento di patologie difficilmente curabili con farmaci tradizionali. La medicina rigenerativa, pilastro portante delle terapie avanzate, è già una realtà clinica in chirurgia ortopedica, per la riparazione di osso, tendine e cartilagine, mentre le prospettive più immediate appaiono essere la ricostruzione di organi cavi (vasi, uretra, vescica, trachea) e di nervi periferici. Questi approcci sono considerati peraltro una risorsa cruciale per il trattamento delle malattie neurologiche, cardiache, per neuro-impianti e arti artificiali. IRMI è in piena coerenza scientifica con ALISEI, in quanto promuove la diffusione capillare della ricerca scientifica nel campo della medicina rigenerativa ed il suo trasferimento alle imprese per la concretizzazione dello sviluppo di terapie avanzate innovative.

ALISEI sostiene il modello della tripla elica, basato sulla compresenza e la forte interconnessione tra imprese, sistema pubblico della ricerca e istituzioni pubbliche territoriali, che rappresenta il punto fermo attorno al quale costruire un progetto di cluster/distretto tecnologico. IRMI risponde a questo modello infrastrutturale, in quanto coordina la interconnessione tra imprese e sistema pubblico della ricerca, e queste due componenti vanno a compenetrarsi con la terza elica, l'istituzione pubblica territoriale, fornita dal cluster medesimo.

ALISEI intende promuovere, a livello nazionale, lo sviluppo di una bio-industria innovativa e competitiva sia sul mercato interno che sul mercato globale, nel quadro di una economia guidata dalla conoscenza (*knowledge-driven economy*). IRMI partecipa al cluster promuovendo lo sviluppo della bio-industria della medicina rigenerativa.

Obiettivo di ALISEI è anche la promozione della creazione di start-up innovative, agendo da macro-incubatore di imprese, in particolare di spin-off della ricerca accademica organizzando e offrendo servizi specialistici, consulenze e tutoraggio. Il servizio di supporto fondamentale che IRMI erogherà nel campo della Medicina Rigenerativa, genererà l'humus necessario alla generazione di start-up e all'insediamento di centri di ricerca e grandi imprese multinazionali in collegamento con i principali network internazionali del settore.

ALISEI si prefigge di sviluppare iniziative di supporto alla crescita di attività di trasferimento tecnologico da parte della ricerca pubblica e di sviluppo di strumenti condivisi, di avviare iniziative di internazionalizzazione a livello di sistema e di supportare le iniziative dei singoli attori in una ottica armonica e integrante finalizzata ad un forte posizionamento internazionale del sistema paese ed ad una azione di attrazione di imprese e talenti. Anche in questo caso le iniziative di IRMI si trovano in piena coerenza con quanto previsto dal cluster; la infrastruttura, infatti, stimolerà la crescita di relazioni ricerca-industria, favorendo il trasferimento delle scoperte e delle tecnologie, migliorando le performance competitive delle imprese nazionali. La massa critica formata garantirà una più solida collaborazione interregionale, aumentando la visibilità e la credibilità delle attività imprenditoriali Italiane nel settore, attirando, di conseguenza, investimenti e attività economiche e produttive nazionali ed internazionali ed avviando iniziative di internazionalizzazione finalizzate ad una azione di attrazione di imprese e talenti.

Di importanza cruciale sarà la possibilità di presentare progetti di ricerca internazionali, presentandosi a tali bandi sotto il cappello del cluster ALISEI. La massa critica formata da IRMI, permetterà l'accesso ai bandi Horizon 2020 a tutti i

partners associati alla rete, sia ai partners che fanno parte della compagine proponente della infrastruttura, sia ai partner che, previa approvazione dei soci, verranno inclusi in un secondo momento.

Dai punti di vista economico e della qualità della vita, IRMI è in piena coerenza con quanto previsto nel piano strategico di ALISEI. Infatti, IRMI permetterà lo sviluppo di nuove cure personalizzate, meno costose e più efficaci, le quali permetteranno una migliore qualità della vita e consentiranno al sistema sanitario nazionale –e, dunque, allo Stato– di risparmiare ingenti quantità di fondi pubblici, sia direttamente, per la minore spesa dei trattamenti, sia indirettamente, per la possibilità di curare malattie croniche invalidanti, le quali si traducono oggi in elevate spese legate alle terapie croniche e ai sussidi. Inoltre, la registrazione di nuovi brevetti nazionali genereranno un rientro diretto del capitale investito.

IRMI, quindi, ricopre i quattro obiettivi strategici indicati da ALISEI, dunque

- produrre una riduzione del costo della sanità;
- stimolare la ricerca per cure specifiche per le malattie croniche per migliorare le condizioni di salute durante l'invecchiamento;
- favorire la convergenza delle tecnologie;
- orientare l'industria verso lo sviluppo di terapie personalizzate.

Infine, ALISEI si prefigge di creare nuove figure professionali. Punto di importanza critica nell'ambito del progetto IRMI sarà, appunto, la formazione di nuove figure professionali che si potranno inserire in un settore in piena fase di sviluppo e che promette una congrua necessità di arruolamento di nuovo personale nel prossimo futuro.

1.6 Description of the project's consistency with the Plan, described at the art.3 of the Avviso MIUR prot.n.257/Ric. of the 30th of may 2012, with the strategies of integration with the European politics in matter of, national and regional research and innovation

The progressive loss of competitiveness caused by globalization in the traditional productive sectors and the consequent crisis of productivity in many industrialized countries, have forced a review of the economic dynamics, resulting in the need to identify new lines of development.

Based on these assumptions, in recent years we all assisted in a renewed interest in the localization economies, in particular in the creation of knowledge networks that fuel the itself development and enhancement process; such nets are particularly effective if developed in contexts of geographical proximity.

In this context, the strategy chosen by the European Commission was to promote the creation of regional clusters of excellence.

Historically, the cluster concept has been outlined for the first time in the 20's by Marshall to describe the industrialized regions of England in the nineteenth century: "The industrial district" is defined as an agglomeration of firms operating in the same industry within a well-defined and relatively small geographical area.

The drive leading to spontaneous clustering of activities is the international competition, especially in fields where the segmentation of production processes requires a coordination aimed at optimizing the entire processes; such strategy, in fact, lowers development costs and provides economic benefits to all companies taking part in the same chain.

The modern industrial cluster requires the sharing of businesses, consumers, government agencies, local and supporting institutions such as research centers and universities. At the end of the 90's, also thanks to the numerous theoretical and empirical studies of economists, the concepts mentioned above have added two new elements, namely the presence of specialized infrastructure and the need for strategies to support technology transfer, as basic requirements for the emergence and consolidation of clusters in high-tech sectors.

This strategy, implemented and applied by the European Union, led to the establishment in 2008 of the European Cluster Policy Group (ECPG) in order to raise awareness of the Commission and of the Member States on possible policies pushing on the excellence of clusters, in a landscape of competitiveness of the whole European economic system, due to the development of an economy based on knowledge and innovation. In addition, funds for research and development that will be provided under the Horizon 2020 will see the cluster as key players of the team of the proponents.

In such a context operates the cluster ALISEI, whose strategic objective is the implementation and harmonization of the national model of interaction between the research system, the entrepreneurial and manufacturing network, the system of value-added services dedicated to the local development and the territorial government.

ALISEI aims to be an instrument of national and industrial policy and of research and innovation promotion in the life science and healthcare, committed to induce an increase in the quality level of technology, in the size and in the competitiveness of the economic and national production, and to create social and economic value to increase the quality of life.

As a system able to construct a map of the innovations and to manage it in its entirety, the National Technological Cluster ALISEI encourages the growth of regional sub-systems (local clusters) dynamic, competitive, synergistic and complementary both to focus resources to reach a critical mass, and to maximize the impact at the socio-economic level, catalyzing important processes of development and innovation in the field of Life Sciences in Italy.

In a nutshell, ALISEI strategic objectives are as follows:

- *To act as a stimulus to the growth of research-industry relationships that can be transformed into elements of systemic and sectoral competitiveness, in order to improve the internationally competitive performances, while maximizing the positive socio-economic impacts.*
- *To improve the quality of life of Italian citizens.*
- *To optimize the whole healthcare process, from prevention to diagnosis, therapy, rehabilitation and re-education, to ensure a significant reduction in national health expenditure.*
- *To foster design relationships between research and industry that are characterized by their unique characteristics of needing critical mass and multidisciplinary.*
- *To develop initiatives that support the growth of technology transfer activities and development of shared tools by public research institutes.*
- *To support the creation of innovative enterprises and enable the venture capital necessary for their development.*
- *To interact with regional clusters and maximize the potential for growth and work together.*
- *To start internationalization initiatives at system level and support the initiatives of individual actors in a harmonious and integrated optics, aimed at promoting a strong international country's system and at attracting businesses and talents.*
- *To foster cultural and cognitive change, allowing the development of tools and initiatives aimed at the advanced international training.*
- *To support any initiative of association, clustering and awareness that is consistent with the objectives of ALISEI and that can, in turn, contribute to growth and international positioning of the country.*
- *To attract investment and economic and productive activities in the country (to promote at national level the attraction of new businesses in the form of both industrial research settlements and investment in economic and productive activities).*

This project fully meets the needs underlying the formation of a cluster and, in particular, is in full agreement with all the strategic objectives of ALISEI.

First, IRMI will provide the creation of an infrastructure of highly specialized research and development, which brings together:

- *10 small, medium and large enterprises:*
 - *AT Grade*
 - *GVM*
 - *AB Medica*
 - *AB Tremila*
 - *Genomnia*
 - *Lipostem*
 - *Chiesi Farmaceutici*
 - *IGEA*
 - *Holostem*
 - *ISMETT*

- *-12 research centers:*
 - *Università di Milano*
 - *Ospedale Niguarda*
 - *Istituto Ortopedico Rizzoli*
 - *Università di Modena e Reggio Emilia*
 - *Università di Bologna*
 - *RiMED*
 - *CNR Roma*
 - *CNR Napoli*
 - *Università di Torino*
 - *Politecnico di Torino*
 - *Università di Genova*
 - *Università di Trieste*

- *5 cell factory, three of them are authorized by AIFA and two are pending approval*
 - *Cell Factory Niguarda – AIFA Authorized*
 - *Cell Factory IOR –AIFA Authorized*
 - *Cell Factory Modena –AIFA Authorized*
 - *Cell Factory Torino – pending approval*
 - *Cell Factory RiMED – pending approval*

Tali strutture sono dislocate su 8 regioni:

- *Lombardia*
- *Piemonte*
- *Friuli Venezia-Giulia*
- *Emilia Romagna*
- *Lazio*
- *Sicilia*
- *Liguria*
- *Campania*

It is not a coincidence that the regions listed have joined the project IRMI, in fact:

1. *seven of these regions are those that in absolute terms, in Italy, have previously obtained the highest number of grants approved by the European Commission and the Ministry of Education;*
2. *the listed regions are the regions in which, through public recognition aimed at the biotechnologies development, technology parks and districts involved in the research and development of biotechnologies-based therapies have been created;*

IRMI nasce, quindi, come struttura di coordinamento delle attività scientifiche in regioni in cui sono già attivi importanti distretti tecnologici. Questo è un primo forte elemento di coerenza con il piano strategico, il quale sottolinea e sostiene l'importanza delle biotecnologie, dei parchi scientifici e dei distretti. Inoltre, ricercatori e imprese di sette delle undici regioni aderenti al cluster ALISEI hanno aderito al progetto IRMI.

Therefore, IRMI arises as a framework for the coordination of scientific activities in regions where major technological districts are already settled. This is a first strong element of consistency with the strategic plan, which emphasizes and supports the importance of biotechnology, science parks and districts. In addition, researchers and companies of seven of the eleven regions belonging to the cluster ALISEI have joined the project IRMI.

ALISEI has identified in Advanced therapies the key area for the development of the medicine of the future. In recent years the scientific world, in fact, has placed particular attention to the research and development of advanced therapies, therefore, a new class of biologic drugs based on the genetic material, cells and tissues that have been proven effective in the treatment of various diseases and that have a high potential in the treatment of pathologies difficult to treat with conventional drugs.

Regenerative medicine, pillar of advanced therapies, is already a clinical reality in orthopedic surgery for the repair of bone, tendon and cartilage, while the prospects seem to be the most immediate reconstruction of hollow organs (blood vessels, urethra, bladder, trachea) and peripheral nerves. These approaches, however, are considered a crucial resource for the treatment of neurological, cardiac, neuronal-implants and artificial limbs. IRMI is in total scientific consistency with ALISEI, since it promotes the widespread dissemination of scientific research in the field of regenerative medicine and its transfer to companies for the realization of the development of innovative advanced therapies.

ALISEI supports the model of the triple helix, based on the presence and the strong interconnection between enterprises, public research institutions and public authorities, which is the fixed point around which to build a project cluster/district technology. IRMI responds to this infrastructural model, coordinating the interconnection between companies and public research system, and these two components must penetrate with the third helix, the territorial institution service provided by the cluster itself.

ALISEI intends to promote, at national level, the development of an innovative and competitive bio-industry either on domestic and global market, as part of a knowledge-driven economy. IRMI cluster participates in promoting the development of regenerative medicine bio-industry.

ALISEI mission is also to promote the creation of innovative start-ups, acting as a macro-business incubator, in particular through academic spin-off of a research, organizing and providing specialized services, consulting and mentoring. The essential support service that IRMI will provide in the field of Regenerative Medicine, will generate the humus necessary for the generation of start-ups and the establishment of research centers and large multinational companies in connection with major international networks in the field

ALISEI aims to develop initiatives to support the growth of technology transfer activities, to initiate internationalization initiatives at a systemic level and to support, in a harmonious and integral optical view, the initiatives of individual actors aimed at a strong international positioning of the country and to attract businesses and talent. The IRMI initiatives are in full compliance with the provisions of the cluster, the infrastructure, in fact, stimulate the growth of research-industry relations, encouraging the transfer of discoveries and technologies, improving the competitive performance of domestic firms. The critical mass formed will ensure a stronger inter-regional cooperation, increasing the visibility and credibility of Italian businesses in the area, attracting, therefore, investments and economic activities and productive national and international internationalization initiatives aimed at initiating an action to attract companies and talents.

Of critical importance will be the opportunity to present international research projects, introducing to those calls under the umbrella of the cluster ALISEI. The critical mass formed by IRMI, allow access to Horizon 2020 calls to all partners in the network, all the partners that are part of the proposing infrastructure team and to the partners that will be included in a second moment after shareholders' approval.

From an economic point of view and to ameliorate life quality, IRMI is fully consistent with the provisions of ALISEI strategic plan. In fact, IRMI will allow the development of new personalized treatment, less expensive and more effective, which will allow a better quality of life and enable the national health system- therefore to the State- to save large amounts of public funds, either directly due to the lower cost of treatment, and indirectly, to the possibility of treating chronic disabling diseases, which are reflected in today's high costs associated with chronic treatments and subsidies. In addition, the registration of new national patents will generate a direct return on investment.

IRMI, therefore, covers the four strategic objectives set by ALISEI, then:

- To produce a reduction in the cost of healthcare;*
- to stimulate the research towards the development of chronic diseases specific treatments to improve health during aging;*
- to promote the convergence of technologies;*
- to steer the industry towards the development of personalized therapies.*

Finally, ALISEI aims to create new professionals figure. Critical point in the project IRMI will be the formation of new professionals figure who can enter in a sector in full development that will have a substantial need for recruitment in the near future.

2) STATO DELL'ARTE

LA MEDICINA RIGENERATIVA

La Medicina Rigenerativa è considerata oggi la soluzione terapeutica innovativa del 21° secolo per l'ambizione di guarire e non curare le malattie, in particolare quelle croniche.

Si può far risalire la nascita internazionale del termine "Medicina Rigenerativa" a quando il governo federale americano approvò, con la risoluzione 71 del 2 novembre 2004, il finanziamento del California Institute of Regenerative Medicine (CIRM) attribuendogli fondi statali per 3 miliardi di dollari in 10 anni, praticamente la stessa quantità di denaro che fu utilizzata per lo Human Genome Project. Da allora si è aperto un dibattito su che cosa bisognasse intendere con il termine di Medicina Rigenerativa.

Fin dall'inizio apparve chiaro che questo termine sottintendesse il passo successivo della medicina nella evoluzione dai trapianti d'organo. Erano infatti le stesse necessità dei trapianti d'organo e della terapia sostitutiva mediante organi artificiali che guidavano ed indirizzavano le ricerche al di là degli approcci tradizionali (Daar, 2005). Lo scopo della Medicina e della Chirurgia Rigenerativa non è infatti quello di rimpiazzare ciò che nel corpo umano non è più in grado di funzionare, ma quello di fornire gli elementi necessari per una sua riparazione in vivo, di inventare sostituti e presidi in grado di fondersi con il corpo umano e di stimolare e sostenere le capacità intrinseche del nostro corpo a rigenerarsi ed a guarire da solo (Greenwood, 2006).

Oggi sono tutti concordi nel definire la Medicina e la Chirurgia Rigenerativa come un settore interdisciplinare di ricerche ed applicazioni cliniche focalizzate prevalentemente sulla prospettiva di riparare, sostituire e/o rigenerare cellule, tessuti e/o organi al fine di ripristinare alcune funzioni anatomiche, fisiologiche e biochimiche deteriorate per cause differenti, come difetti congeniti, malattie, traumi ed invecchiamento.

La caratteristica più importante ai fini della definizione delle prerogative della Medicina e della Chirurgia Rigenerativa non consiste nell'uso di una sola specifica tecnologia bensì nell'idea di utilizzare contemporaneamente una combinazione di numerosi approcci tecnologici, spesso convergenti, sia già esistenti che recentemente messi a punto. Tutto ciò pone la Medicina e la Chirurgia Rigenerativa un passo più avanti dei tradizionali trapianti d'organo o delle tradizionali terapie mediante organi artificiali.

Quando possibile, questi nuovi approcci terapeutici dovrebbero limitarsi a stimolare e sostenere le capacità proprie di guarigione dell'organismo umano, includendo, senza limitazioni, l'uso di molecole solubili, terapie geniche, terapie basate sull'uso di cellule staminali e/o progenitrici, ingegneria tissutale e riprogrammazione cellulare e/o tissutale.

Il benessere economico, i vantaggi della medicina tradizionale e il progressivo miglioramento degli standard di igiene hanno portato ad un aumento consistente della durata media della vita, tendenza demografica destinata inevitabilmente ad aumentare nei prossimi anni. Stime pubblicate dal "Directorate General for Health & Consumers" della Commissione Europea prevedono che entro il 2050 più del 25% della popolazione avrà dai 60 ai 65 anni, e il 20% della popolazione avrà più di 80 anni.

La società del futuro, dunque, dovrà affrontare le problematiche che scaturiranno dal consistente aumento degli anziani. Stime pubblicate dal Fondo Monetario Internazionale valutano che un aumento di soli 3 anni della vita media della popolazione mondiale farà lievitare del 50% i costi dei servizi sanitari. Inoltre, in condizioni terapeutiche invariate, entro il 2030 la spesa sanitaria per il trattamento delle patologie croniche, comprese le invalidità connesse alla degenerazione dei tessuti muscoloscheletrici, potrebbe arrivare ad ammontare a 47 trilioni di dollari, generando uno scenario insostenibile per i bilanci statali (World Economic Forum, 2011).

Gli obiettivi della Medicina e Chirurgia Rigenerativa sono piuttosto vasti; ad esempio vi si possono includere malattie croniche degenerative (come la Malattia di Alzheimer), malattie metaboliche (come il Diabete), patologie croniche osteoarticolari e malattie che spesso conducono all'insufficienza di un intero organo (insufficienza cardiaca). Questa nozione di ripristino di funzioni deteriorate può essere estesa anche ai processi di guarigione delle ferite, alla riparazione di lesioni nervose traumatiche e vascolari ed al potenziamento del sistema immunitario. La Medicina e la Chirurgia Rigenerativa potranno in futuro avere un forte impatto nel trattamento di queste patologie. L'Accademia Nazionale della Scienza degli Stati Uniti ha stimato che i potenziali pazienti per terapie basate sull'impiego di cellule staminali, nei soli Stati Uniti d'America, potranno includere nel prossimo futuro: 58 milioni di pazienti affetti da malattie del sistema cardiovascolare, 30 milioni di pazienti affetti da malattie autoimmunitarie, 16 milioni di diabetici e 10 milioni di pazienti affetti da patologie del sistema muscoloscheletrico.

Appare chiaro come la medicina rigenerativa, potendo guarire/prevenire le patologie croniche, potrà rappresentare nel prossimo futuro l'ago della bilancia che permetterà agli Stati di poter sostenere i costi socio-sanitari legati all'inarrestabile aumento della vita media della popolazione.

2) State of the Art

Regenerative Medicine

Regenerative Medicine is now considered the innovative therapeutic solutions for the 21st century for the ambition to not only treat the diseases but to cure them, especially chronic ones. The international birth of the term "regenerative medicine" can be traced back to the event when the US Federal Government approved through Resolution 71 of November 2, 2004, the financing of the California Institute of Regenerative Medicine (CIRM) by giving state funds for 3 Bn . dollars over 10 years, virtually the same amount of money that was used for the Human Genome Project. Since then it has been opened a debate on what the term meant Regenerative Medicine

From the outset it was clear that this term underly the next step in the evolution of medicine from organ transplants. They were in fact the same need of organ transplants and the substitution therapy with artificial organs and indirizzavano who led and directed the research beyond the traditional approaches (Daar, 2005).

The purpose of Medicine and Surgery Regenerative is not in fact to replace what in the human body is no longer able to function, but to provide the elements necessary for its repair in vivo, to invent substitutes able to merge with the the human body and to stimulate and support the intrinsic ability of our body to regenerate and heal itself (Greenwood, 2006).

Today they all agree in defining the Regenerative Medicine and Surgery as an interdisciplinary field of research and clinical applications focused mainly on the prospects of repair, replace and / or regenerate cells, tissues and / or organs in order to restore some anatomical, physiological and biochemical features deteriorated for different causes, such as congenital defects, disease, trauma and aging. The most important feature in defining the prerogatives of Regenerative Medicine and Surgery does not consist in the use of one specific technology, but the idea of simultaneous use of a combination of several technological approaches, often converging, both existing and recently created. This poses Regenerative Medicine and Surgery one step ahead of the traditional organ transplants or of traditional therapies with the use of artificial organs.

Whenever possible, these new therapeutic approaches should be limited to promote and support the human bodys own ability to heal including, without limitation, the 'use of soluble molecules, gene therapies, therapies based on the use of stem cells and / or progenitor, tissue engineering, cellular and / or tissue reprogramming. The economic well-being, the benefits of traditional medicine and the gradual improvement of standards of hygiene have led to a significant increase in life expectancy, a demographic trend inevitably destined to increase in the coming years. Estimates published by the "Directorate General for Health & Consumers" of the European Commission predict that by 2050, more than 25% of the population will be aged 60 to 65 years, and 20% of the population will be over 80 years old.

The society of the future, therefore, will have to face the problems that will arise from the substantial increase in the elderly. Estimates published by the International Monetary Fund estimate that an increase of only 3 years the average life of the world's population will rise by 50% of the costs of health services. In addition, under therapeutic conditions unchanged, by 2030 spending on health care for the treatment of chronic diseases, including disability-related degeneration of the musculoskeletal tissues, could lead to amount to 47 trillion dollars, creating a scenario unsustainable state budgets (World Economic Forum, 2011).

The objectives of Regenerative Medicine are quite large, for example you can include chronic degenerative diseases (such as Alzheimer's disease), metabolic diseases (such as diabetes), chronic osteoarticular diseases that often lead to insufficient an entire organ (heart failure). This notion of restoring impaired functions can be extended also to the processes of wound healing, repair of traumatic nerve injury and vascular and strengthening the immune system. Regenerative Medicine and Surgery in the future will have a major impact in the treatment of these diseases. The National Academy of Science of the United States has estimated that potential patients for therapies based on the use of stem cells, only in the United States of America, may include in the future: 58 million patients suffering from diseases of the cardiovascular system, 30 million patients suffering from autoimmune diseases, 16 million diabetics and 10 million patients suffering from diseases of the musculoskeletal system.

It is clear that regenerative medicine could cure / prevent chronic diseases, will represent in the near future the main instrument that will enable States to meet the total costs of the unrelenting social and health-related increase in life expectancy of the population.

L'INGEGNERIA DEI TESSUTI E QUADRO NORMATIVO

Premessa

L'enorme progresso delle conoscenze nel campo della biologia cellulare e delle biotecnologie ha consentito, negli ultimi 15 anni, lo sviluppo di tecnologie mirate alla coltivazione ed alla ricostruzione "in vitro" di tessuti ed ha messo a disposizione della comunità medica nuove possibilità terapeutiche attraverso l'impiego di prodotti che utilizzano cellule ottenute e/o tessuti "ex vivo" dallo stesso paziente o da donatore e, in un minor numero di casi, di origine animale.

Queste tecnologie contribuiscono a definire una nuova branca delle scienze biomediche: la ingegneria dei tessuti. L'ingegneria tessutale consente la creazione di sostituti biologici funzionali e compatibili che sono in grado di ripristinare la struttura danneggiata o mancante. La suddetta ingegneria è volta alla creazione in vitro di tessuti qualitativamente e quantitativamente idonei a sopperire alle necessità cliniche, superando in tal modo i limiti dei biomateriali eubiotici (derivanti da esseri viventi) e di quelli xenobiotici (di origine sintetica).

E' opportuno ricordare che i prodotti derivati dall'ingegneria dei tessuti non possono essere definiti come farmaci, ne' sono assimilabili a trapianti in senso stretto (ad es. cuore, rene, cornea, osso, ecc), ne' possono essere definiti come tessuti artificiali (ad es. protesi valvolari), in quanto sono costituiti da cellule viventi isolate da tessuti, espanse "in vitro", eventualmente associate a biomateriali con origine e caratteristiche diverse.

La riparazione cutanea e l'ortopedia sono stati i primi campi di applicazione delle tecniche del Tissue Engineering, e sono tuttora il settore in cui i prodotti dell'ingegneria tissutale sono più numerosi e maggiormente diffusi in ambito clinico.

Quadro di riferimento normativo

Solo nell'anno 1999, il trapianto di tessuti e di cellule è stato regolamentato dalla Legge 91/99, che per la prima volta identificò quali Banche dei tessuti le strutture regionali di raccolta, manipolazione e distribuzione di tessuti umani. Nel 2003 sono state emanate le "Linee Guida Nazionali" deputate alla standardizzazione della trapiantologia, con particolare riguardo alla manipolazione tessutale e cellulare.

Successivamente, a partire dal 2004, la Commissione Europea ha emanato 3 Direttive (2004/23/CE, 2006/17/CE e 2006/86/CE), finalizzate alla standardizzazione delle procedure di biobanking di cellule e tessuti, attualmente recepite dalla legislazione italiana nel Decreto legislativo 06 novembre 2007, n. 191 e nel Decreto legislativo 25 gennaio 2010, n. 16.

Per quanto attiene la manipolazione cellulare, sono state individuate 2 tipologie di lavorazione:

- a) Manipolazione rilevante, con la quale caratteristiche biologiche, funzioni fisiologiche e proprietà strutturali delle cellule, pertinenti alle finalità di rigenerazione, riparazione o sostituzione, sono state alterate.
- b) Manipolazione non rilevante, come prevista nell'allegato 1 del Regolamento CE 1394/2007,

I prodotti ottenuti da procedure di manipolazione non rilevante rispondono alle normative precedentemente indicate per cellule e tessuti da trapianto, mentre i prodotti ottenuti dopo manipolazione rilevante, in base al Regolamento CE 1394/2007, sono identificati come medicinali per terapia avanzata e più precisamente,

- a) medicinali di terapia genica,
- b) medicinali di terapia cellulare somatica e
- c) prodotti di ingegneria tessutale.

L'altro criterio è che le cellule siano impiegate nel ricevente per funzioni che non sono le stesse che avevano nel donatore (uso non omologo), come per esempio la somministrazione di cellule staminali isolate dal midollo dell'osso e trasferite nel cuore del paziente (cioè in una sede in cui non sono normalmente presenti) dopo un infarto, con lo scopo di riparare il tessuto cardiaco danneggiato. L'uso non omologo, anche se eseguito nello stesso paziente, ovvero il paziente è donatore e ricevente allo stesso tempo, è considerato terapia avanzata.

In tale quadro normativo, i medicinali per terapie avanzate sono sottoposti a specifiche normative di sicurezza biologica prima di poter essere commercializzati. In particolare devono ottenere un'autorizzazione alla immissione in commercio

rilasciata dall'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA), dopo una valutazione scientifica della domanda, vincolata all'esecuzione di rigorosi studi preclinici e clinici. L'autorizzazione alla commercializzazione è valida in tutta l'Unione europea, e non osta all'applicazione delle legislazioni nazionali in materia etica che vietano o limitano l'utilizzazione di tipi specifici di cellule umane o animali, nonché la vendita, la fornitura o l'utilizzazione di medicinali che contengono, consistono o derivano da tali cellule.

THE TISSUE ENGINEERING AND REGULATORY FRAMEWORK

Premise

The enormous advances in knowledge in the field of cell biology and biotechnology has made it possible for the last 15 years, the development of technology for the cultivation and reconstruction "in vitro" of tissues and has made available to the community 'medical new possibilities' Therapeutic through the use of products that use cells obtained and / or tissues "ex vivo" from the same patient or donor and, in a smaller number of cases, of animal origin.

These technologies help to define a new branch of biomedical sciences: the tissue engineering. Tissue engineering allows the creation of biological substitutes functional and compatible that are able to restore the structure damaged or missing. The above engineering aims at creating in vitro tissue qualitatively and quantitatively adequate to meet the clinical needs, thereby overcoming the limitations of biomaterials eubiotic (derived from living things) and those xenobiotics (synthetic origin).

It 'should be noted that products derived from engineering tissue can not be defined as drugs, nor are similar to transplants in the strict sense (eg. heart, kidney, cornea, bone, etc.), nor can be defined as artificial tissues (eg. valve prostheses), in that they are constituted by living cells isolated from tissue, expanded "in vitro", possibly associated with biomaterials with different characteristics and origin. Skin repair and orthopedics were the first fields of application of the techniques of Tissue Engineering, and is still the area where the tissue-engineered products are more and more common in clinical practice.

Regulatory framework

Only in 1999, transplantation of tissues and cells was regulated by Law 91/99, which for the first time identified as Tissue Banks regional structures for the collection, handling and distribution of human tissues. In 2003 were issued the "National Guidelines" delegated to the standardization of transplantation, particularly with regard to tissue and cellular manipulation.

Subsequently, in 2004, the European Commission has issued three directives (2004/23/EC, 2006/17/EC and 2006/86/EC), aimed at standardization of biobanking of tissues and cells, currently implemented by legislation in Italian Legislative Decree of 6 November 2007, n. 191 and in the Legislative Decree 25 January 2010, n. 16.

As regards the cell manipulation, have been identified two types of processing:

a) Relevant manipulation, with which biological characteristics, physiological functions and structural properties of the cells, relevant to the purposes of regeneration, repair or replacement, have been altered.

b) Manipulation not relevant, as specified in Annex 1 of the EC Regulation 1394/2007,

the products obtained by procedures of manipulation not relevant meet the requirements previously described for cells and tissues for transplantation, while the products obtained after considerable manipulation, based on to EC Regulation 1394/2007, are identified as advanced therapy medicinal products and, more specifically,

a) medicinal products for gene therapy,

b) medicinal products, somatic cell therapy and

c) tissue engineered products.

The other criterion is that the cells are used in the receiver for functions that are not the same that had in the donor (not homologous use), as for example the administration of stem cells isolated from bone marrow and transferred to the patient's heart (that is, in a home where they are not normally present) after a heart attack, with the aim of repairing the damaged heart tissue. The use not homologous, even if performed in the same patient, or the patient is donor and recipient at the same time, is considered an advanced therapy.

In this framework, the advanced therapy medicinal products are subject to specific regulations of biosafety before they can be marketed. In particular, they must obtain a marketing authorization granted by the European Medicines Agency (EMA), after a scientific assessment of the application, bound the execution of rigorous preclinical and clinical studies. The marketing authorization is valid throughout the European Union, and without prejudice to national laws on ethics that prohibit or restrict the use of specific types of human or animal cells, as well as the sale, supply or 'use of medicinal products containing, consisting of or derived from these cells.

LA RIGENERAZIONE MEDIANTE L'UTILIZZO DI CELLULE STAMINALI DI ORIGINE ADIPOSA

Le cellule staminali mesenchimali umane (hMSCs) possono essere ottenute, oltre che dal midollo osseo, fonte classica iniziale di isolamento, anche da fonti alternative quali la polpa dentaria, le membrane fetali della placenta a termine e il tessuto adiposo ("Adipose Derived Stem Cells, hASCs"). Tali cellule sono in grado di riprodurre processi di vasculogenesi e differenziamento cardiovascolare *in vitro*, e possono essere anche utilizzate *in vivo*, per promuovere la riparazione di cuori danneggiati in animali sottoposti ad infarto miocardico (53), o per migliorare la rivascularizzazione e la funzionalità di isole pancreatiche in ratti diabetici (8). Questi risultati rappresentano una prova di principio del fatto che, indipendentemente dal tessuto di provenienza, l'orientamento verso un destino vasculogenico e la riparazione vascolare *in vitro* ed *in vivo* rappresentano un comune denominatore caratterizzante della potenzialità terapeutica tissutale delle hMSCs.

Indipendentemente dalla loro fonte, hMSCs di diversa origine condividono la caratteristica di poter esprimere una insieme di fattori "trofici" ("secretoma") secernibili in diverse "condizioni ambientali" di coltura *in vitro* e di "contesto" tissutale *in vivo*. Tali fattori individuano una peculiarità di tipo "paracrino" delle hMSCs che divengono così capaci di agire attraverso il loro secretoma nella sede del trapianto, inducendo risposte angiogenetiche, antiapoptotiche ed antifibrotiche (7,26,31,53).

Sebbene il midollo osseo sia stato utilizzato in passato come fonte principale di hMSCs, il prelievo di tale tessuto risulta invasivo e doloroso, ponendo la necessità della identificazione di fonti alternative di hMSCs. Inoltre, l'uso di hMSCs di origine midollare è potenzialmente gravato da un elevato grado di infezioni virali e da un significativo declino della vitalità e della potenzialità differenziativa delle stesse hMSCs con il progredire dell'età del donatore. Per questi motivi, una fonte ideale di hMSCs dovrebbe: (i) essere reperibile in grande quantità; (ii) essere recuperabile con una procedura minimamente invasiva; (iii) rendere disponibile una popolazione di hMSCs capace di mantenere una buona vitalità ed un potenziale differenziativo elevato anche all'aumentare dell'età del donatore (52).

Negli ultimi anni è diventato sempre più evidente come il tessuto adiposo possieda una popolazione di cellule staminali multipotenti, definite appunto come hASCs (16,47,52). Le hASCs rappresentano uno strumento promettente di terapia cellulare, dal momento che possono essere utilizzate *in vivo* in modelli animali di infarto miocardico acuto (25,33,46,48,55). Al riguardo, hASCs poste in coltura sono risultate in grado di riparare il tessuto miocardico infartuato, agendo come sorgenti paracrine di mediatori trofici di processi angiogenici (33). Le hASCs possono anche essere indirizzate verso il destino endoteliale (5,14,32,36,37,38,44) e quello muscolare liscio (1,4,15,21,22,29,30). Vi sono crescenti evidenze *in vitro* ed *in vivo* che dimostrano la multipotenza delle ASCs di origine umana e di altre specie. Tali evidenze riguardano la capacità delle ASCs di intraprendere l'orientamento verso i destini adipocitario (18,43,56,57), condrocitario, (13,54,56,57), ematopoietico (9), epatocitario (45,49,50), simil-neuronale (23,27,40-42,56), osteoblastico (17,19,20,56,57), pancreatico (51) e muscolo scheletrico (28,34,56,57), oltre ai già citati orientamenti in senso miocardico e vascolare.

Malgrado i progressi nell'isolamento delle hASCs, una serie di problematiche restano ancora irrisolte, quali la sopravvivenza cellulare nulla o comunque trascurabile dopo congelamento e scongelamento del lipoaspirato, la difficoltà di espansione *ex vivo*, la scarsa efficienza del "delivery" tissutale, (meno del 5% delle cellule trapiantate sono trattenute nel tessuto dopo trapianto), e l'incerto destino, anche differenziativo *in vivo* (3).

Queste problematiche minimizzano i vantaggi ottenibili dalla stessa espansione cellulare. Inoltre, l'opportunità di un trasferimento in ambito clinico di cellule staminali sottoposte a manipolazione rilevante, includente l'espansione *ex vivo* in coltura, è notevolmente ritardata dalla necessità di conformarsi ai requisiti stabiliti dalle "linee guida" previste per le "manipolazioni cellulari maggiori" in accordo con le cosiddette "vigenti buone pratiche di fabbricazione" ("current Good Manufacturing Practice, cGMP") (39). Tuttavia, tali restrizioni non si applicano in caso di "manipolazione non rilevante" [Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council]. Da queste considerazioni emerge come sarebbe altamente auspicabile per un rapido sviluppo clinico della Medicina Rigenerativa la realizzazione di tecnologie di

processazione basate su una “manipolazione non rilevante” atte ad ottenere idonei prodotti contenenti hASCs, pronti per l’uso autologo senza alcuna espansione, ma anche suscettibili di criopreservazione ed eventuale espansione *in vitro*.

The regeneration through stem cell of adipose origin

The human mesenchymal stem cells (hMSCs) can be obtained, as well as from bone marrow, classical source of initial isolation, also from alternative sources such as the dental pulp, the fetal membranes of the placenta at term and adipose tissue ("Adipose Derived Stem Cells , hASCs "). These cells are capable of reproducing processes of vasculogenesis and cardiovascular differentiation in vitro, and can also be used in vivo, to promote the repair of damaged hearts in animals subjected to myocardial infarction (53), or to improve the revascularization and functionality of pancreatic islets in diabetic rats (8). These results represent a proof of principle of the fact that, irrespective of the tissue of origin, the orientation towards a destiny vasculo-genic and vascular repair in vitro and in vivo represent a common denominator characterizing the potential therapeutic tissue of hMSCs.

Regardless of their source, hMSCs of different origins share the characteristic of being able to express a set of factors "trophic" ("secretome") That could be secreted in different "environmental conditions" in vitro culture and "context" tissue in vivo. These factors identify a peculiarity of "paracrine" type of hMSCs that become so capable of acting through their secretome at the site of transplantation, inducing responses angiogenic, antiapoptotic and antifibrotic (7,26,31,53).

Although the bone marrow has been used in the past as the main source of hMSCs, the collection of such tissue is invasive and painful, placing the need of the identification of alternative sources of hMSCs. Furthermore, the use of hMSCs of bone marrow origin is potentially subject to a high degree of viral infections and by a significant decline of the vitality and differentiative potential of the same hMSCs with increasing age of the donor. For these reasons, an ideal source of hMSCs should: (i) be available in large quantities; (ii) be recoverable with a minimally invasive procedure; (iii) providing a population of hMSCs capable of maintaining a good vitality and a differentiation potential high even with increasing age of the donor (52). In recent years it has become increasingly evident as the adipose tissue possesses a population of multipotent stem cells, defined as precisely hASCs (16,47,52). The hASCs is a promising tool for cell therapy, since they can be used in vivo in animal models of acute myocardial infarction (25,33,46,48,55). In this regard, hASCs placed in culture were able to repair the infarcted myocardial tissue, acting as sources of paracrine mediators of trophic angiogenic processes (33). The hASCs can also be directed towards the fate of endothelial (5,14,32,36,37,38,44) and smooth muscle (1,4,15,21,22,29,30). There is increasing evidence in vitro and in vivo demonstrating the multipotency of ASCs in human and other species. These findings relate to the ability of ASCs to take the orientation toward the destinies adipocyte (18,43,56,57), condrocitario, (13,54,56,57), hematopoietic (9), hepatocyte (45,49,50), neuronal-like (23,27,40-42,56), osteoblastic (17,19,20,56,57), pancreatic (51) and skeletal muscle (28,34,56,57), in addition to the already those guidelines in myocardial and vascular sense.

Despite the progress in the isolation of hASCs, a number of issues remain unresolved, such as null cell survival or at least negligible after freezing and thawing of lipoaspirates, the difficulty of ex vivo expansion, the low efficiency of the "delivery" tissue (less than 5% of the transplanted cells are retained in the tissue after transplantation), and uncertain fate , also differentiation in vivo (3).

These issues minimize the benefits that can be obtained from the same cell expansion. In addition, the opportunity of a transfer of stem cells in the clinical area with relevant manipulation, including the ex vivo expansion in culture is significantly delayed by the need to comply with the requirements of the "guidelines" in respect of "major cellular manipulations" in accordance with the so-called "current good manufacturing practices" ("current Good manufacturing Practice, cGMP") (39). However, these restrictions do not apply in the case of "manipulation irrelevant" [Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council]. As this suggests, as it would be highly desirable for rapid clinical development of regenerative medicine technologies, the development of processing based on a "manipulation irrelevant" so as to obtain suitable products containing hASCs, ready for autologous use without any expansion, but also susceptible to cryopreservation and possible expansion in vitro.

LA MEDICINA RIGENERATIVA NEL TESSUTO EPITELIALE

La integrità e la riparazione degli epitelii di rivestimento dipendono da una popolazione di cellule staminali presenti nello strato basale e in specifiche nicchie. Le cellule staminali epiteliali generano una popolazione di progenitori con capacità proliferativa limitata che danno origine alle cellule terminalmente differenziate. Negli epitelii stratificati umani sono stati identificati e isolati tre tipi di cheratinociti con differente capacità proliferativa: olocloni, merocloni e paracloni (Barrandon and Green, PNAS 1987). Gli olocloni sono le cellule staminali degli epitelii di rivestimento e sono stati caratterizzati a livello molecolare (De Luca et al., PNAS 1990; Marchisio et al., J. Cell Biol. 1991; Zambruno et al., J. Cell Biol. 1995; Pellegrini et al., J. Cell Biol. 1999; Dellambra et al., 2000; Pellegrini et al., PNAS 2001; Di Iorio et al., PNAS 2005; Barbaro et al., J. Cell Biol. 2007). Gli olocloni possiedono tutte le caratteristiche delle cellule staminali adulte, quali self-renewal, capacità proliferativa, attività telomerasica e capacità di generare tutti gli elementi del tessuto di origine. I merocloni e I paracloni hanno le caratteristiche dei progenitori transienti.

Nel corso degli ultimi anni, la conoscenza della biologia degli olocloni ne ha consentito la loro applicazione in clinica in protocolli di medicina rigenerativa personalizzata, sia in terapia cellulare che in terapia genica (reviewed in De Luca et al., Regen. Med. 2006; Pellegrini et al., J. Pathol. 2009; Pellegrini et al., Trends Mol. Med. 2011). In particolare, le cellule staminali degli epitelii di rivestimento sono state applicate (i) nella terapia salvavita delle ustioni di terzo grado (Pellegrini et al., Transplantation 1999), della vitiligine stabile (Guerra et al., Arch. Dermatol. 2000; Guerra et al., Br. J. Dermatol. 2004) e delle ulcere croniche degli arti inferiori, (ii) nella prima ricostruzione dell'epitelio corneale in deficit di cellule staminali corneali con recupero della capacità visiva in occhi non altrimenti curabili (Pellegrini et al., Lancet 1997; Rama et al., Transplantation 2001; Rama et al., N. Eng. J. Med. 2010), (iii) nella prima ricostruzione dell'epitelio uretrale nelle ipospadie posteriori congenite (Romagnoli et al., N. Eng. J. Med. 1990), (iv) nella prima sperimentazione clinica di terapia genica ex vivo della epidermolisi bollosa giunzionale (Mathor et al., PNAS 1996; Dellambra et al., 1998; Mavilio et al., Nat. Med. 2006). Le applicazioni cliniche delle colture di cellule staminali epidermiche e limbari per la terapia cellulare delle ustioni, sia cutanee che oculari, sono terapie avanzate consolidate. Le applicazioni cliniche delle cellule staminali uretrali e di quelle epidermiche geneticamente modificate sono ancora in fase di sperimentazione clinica.

SCAFFOLD BIOMIMETICI

Gli scaffold biomimetici hanno un ruolo fondamentale negli approcci di Ingegneria dei Tessuti poiché possono influenzare l'adesione, la proliferazione e il differenziamento cellulare (Owen et al., JBMRA 2010). L'utilizzo di scaffold caratterizzati da segnali chimico-fisici e da una struttura che mima la matrice extracellulare (ECM) permette di controllare e influenzare la specifica risposta cellulare.

E' perciò fondamentale replicare nello scaffold la macro e nano struttura della ECM (Agarwal et al., Polymer 2008). Inoltre, funzionalizzando gli scaffold con opportuni stimoli chimico-fisici è possibile realizzare un ambiente ingegnerizzato in grado di influenzare la risposta cellulare (Ren et al., Biomaterials 2009).

A) SCAFFOLDS DA ELETTROFILATURA

L'elettrofilatura è una tecnologia efficace per produrre tessuti-non-tessuti costituiti da fibre continue di dimensioni sub-micrometriche ben definite, con caratteristiche morfologiche, forma, spessore e proprietà di superficie controllate. in grado di mimare la morfologia della componente fibrosa proteica della matrice extracellulare [1].

L'elevata porosità delle strutture risultanti determina una buona permeabilità, che è un parametro importante in controllare la diffusione delle sostanze e cellule nello scaffold e nella sede di impianto. Lo scaffold di elettrofilato es-PLLA scaffold rappresenta quindi un versatile strumento con potenziali applicazioni in molti tipi di lesione nervosa. Inoltre, le buone proprietà meccaniche ed elevata flessibilità degli scaffold elettrofilati consentono una grande versatilità in termini di applicazioni di ingegneria tissutale, dal riempimenti di cavità, all'avvolgimento di nervi, alla copertura di breccie lesionali.

Tuttavia, il microambiente creato da nanofibre elettrofilate potrebbe non essere sufficiente per sé di indurre il differenziamento di cellule. In questo caso, la funzionalizzazione chimica e fisica dello scaffold elettrofilato (per aumentare i gruppi chimici funzionali, per coniugate proteine di matrice, per incorporare farmaci) potrebbe ampliare enormemente i settori applicativi e la versatilità del dispositivo, anche ai fini del controllo della reazione infiammatoria del tessuto a seguito di lesioni. Molti materiali polimerici, sia sintetici che naturali, possono essere elettrofilati. Trai polimeri di sintesi,

l'acido polilattico PLLA) è un materiale biocompatibile e riassorbibile con il quale è possibile fabbricare scaffold elettrofilati (es-PLLA) che rappresentano un versatile strumento con potenziali applicazioni in molti tipi di lesione nervosa.

Medicine regenerative in epithelial tissue

The integrity and repair of the epithelia of coating depend on a population of stem cells present in the basal layer and in specific niches. Epithelial stem cells generate a population of progenitors with limited proliferative capacity that give rise to terminally differentiated cells. In the stratified human epithelia have been identified and isolated three types of keratinocytes with different proliferative capacity: holoclone, meroclone and paraclone (Barrandon and Green, PNAS 1987). The oloclone are stem cells of epithelia of coating and have been characterized at the molecular level (De Luca et al., PNAS 1990; Marchisio et al., J. Cell Biol. 1991; Zambruno et al., J. Cell Biol. 1995 ; Pellegrini et al., J. Cell Biol. 1999; Dellambra et al., 2000; Pellegrini et al., PNAS 2001; Di Iorio et al., PNAS 2005; Barbaro et al., J. Cell Biol. 2007). The holoclone possess all the characteristics of adult stem cells, such as self-renewal, proliferative capacity, telomerase activity and ability to generate all the elements of the tissue of origin. The meroclone and paraclone have the characteristics of the progenitors transients.

In recent years, knowledge of the biology of holoclone has allowed their application in clinical activity in protocols of personalized regenerative medicine and cell therapy and gene therapy (reviewed in De Luca et al., Regen. Med 2006 ; Pellegrini et al., J. Pathol. 2009; Pellegrini et al., Trends Mol. Med 2011). In particular, stem cells of coating epithelia were applied (i) in the lifesaving treatment of third degree burns (Pellegrini et al., Transplantation 1999), stable vitiligo (Guerra et al., Arch Dermatol. 2000; Guerra et al., Br J. Dermatol. 2004) and chronic ulcers of the lower limbs, (ii) in the first reconstruction of the corneal epithelium in deficit of corneal stem cells with recovery of visual acuity in eyes not otherwise curable (Pellegrini et al., Lancet 1997; Rama et al., Transplantation 2001; Rama et al., N. Eng J. Med 2010), (iii) in the first retread urethral epithelium in the posterior hypospadias congenital (Romagnoli et al., N. Eng J. Med . 1990), (iv) in the first clinical trial of ex vivo gene therapy of junctional epidermolysis bullosa (Mathor et al., PNAS 1996; Dellambra et al., 1998; Mavilio et al., Nat. Med 2006). The clinical applications of cultured epidermal stem cells and limbal cell therapy of burns, skin or eyes that are advanced therapies consolidated.

The clinical applications of genetically modified stem cells urethral and of those epidermal are still in clinical trials.

Biomimetic SCAFFOLD

The biomimetic scaffolds play a key role in the approaches of Tissue Engineering as it may affect the adhesion, proliferation and cellular differentiation (Owen et al. JBMRA 2010). The use of scaffolds characterized by chemical-physical signals and a structure that mimics the extracellular matrix (ECM) allows to control and influence of specific cellular response. Is therefore essential to replicate the scaffold the macro-and nano-structure of the ECM (Agarwal et al., Polymer 2008). In addition, functionalizing the scaffolds with suitable chemical-physical stimuli is possible to realize an environment engineered able to influence the cellular response (Ren et al., Biomaterials 2009).

A) Scaffolds obtained with electrospinning

The electrospinning is an effective technology for producing nonwoven tissues consisting of continuous fibers of sub-micrometric well-defined size, with controlled morphological characteristics, shape, thickness and surface properties. able to mimic the morphology of the fibrous component of the extracellular matrix protein [1].

The high porosity of the resulting structures determines a good permeability, which is an important parameter in controlling the spread of substances and cells in the scaffold and at the implant site. So, the electrospun es-PLLA scaffold represents a versatile tool with potential applications in many types of nerve injury. Moreover, the good mechanical properties and high flexibility of electrospun scaffolds allow for great versatility in terms of tissue engineering applications, by filling cavities, winding of nerves, to cover breaches lesional.

However, the microenvironment created by electrospun nanofibers may not be sufficient by itself to induce differentiation of cells. In this case, the functionalization chemical and physical of the electrospun scaffold (to increase the functional chemical groups, for conjugated matrix proteins, to incorporate drugs) could ampiare enormously application sectors and the versatilità of the device, also for the purposes of the control of the inflammatory reaction of the tissue as

a result of injury. Many polymeric materials, both synthetic and natural, can be electrospun. Trai synthetic polymers, polylactic acid PLLA is a resorbable and biocompatible material with which it is possible to fabricate scaffolds electrospun (eg-PLLA) that represent a versatile tool with potential applications in many types of nerve injury

B) GEL TERMOSENSIBILI

I gel termosensibili sono vantaggiosi perché gelificano a seguito di variazioni di temperatura e la temperatura di gelificazione può essere controllata variando il rapporto tra unità idrofobe e idrofile nella catena polimerica (Tang et al., Singh J. Int J Pharm 2009.). I gel termosensibili sono stati ampiamente utilizzati per la realizzazione di matrici incorporanti cellule e farmaci: le cellule e le molecole bioattive vengono aggiunte a soluzioni acquose del polimero a temperatura ambiente; il sistema gelifica successivamente alla sua somministrazione in vivo, incapsulando le cellule e il farmaco. Tuttavia, i polimeri termosensibili commercialmente disponibili (Pluronic, PNIPAAm) non sono degradabili. Esempi di gel termosensibili disponibili in commercio e degradabili includono invece i copolimeri a blocchi (bi-, tri-, multi-blocco) costituiti da blocchi idrofobici A e blocchi idrofilici B, dove A è il polietilenglicole (PEG) e B è uno dei tre polimeri biodegradabili: poli(lattide-co-glicolide) (PLGA), acido polilattico (PLA) o policaprolattone (PCL) (Fedorovich et al., Tissue Eng. 2007). Tuttavia, essi non presentano gruppi funzionali biomimetici, hanno generalmente scarse proprietà meccaniche e non sono biodegradabili (cioè non degradano per azione enzimatica in ambiente biologico). Tali copolimeri sono peraltro degradabili per idrolisi, con la formazione di prodotti di degradazione acidi, che possono però degradare i farmaci incorporati nel materiale, qualora essi risultino particolarmente sensibili ad un pH acido.

I poliuretani segmentati (PU) sono biomateriali con caratteristiche meccaniche modulabili, buona processabilità e biocompatibilità (Rechichi et al., J. Biomed. Mater. Res. A 2007) e possono essere resi biodegradabili per introduzione di opportuni segmenti di catena sensibili all'azione degli enzimi (Scott. et al., Tissue Eng. B 2008). Recentemente, sono stati sintetizzati gel termosensibili a base di blocchi idrofobi di poli(serinolo esametilene uretano) e blocchi idrofili di PEG, contenenti un gruppo amminico per unità ripetente, rendendo così possibile la biofunzionalizzazione con peptidi (Park et al., Biomaterials 2010). I gel termosensibili in PU sono molto versatili, perché possono essere preparati da diverse combinazioni di dioli, estensori di catena e diisocianati, in modo da controllarne la biodegradabilità, le proprietà meccaniche e la biofunzionalizzazione tramite gruppi reattivi laterali.

B) THERMOSENSITIVE GEL

The thermosensitive gels are advantageous because they become gels as a result of variations in temperature and the temperature of gelation can be controlled by varying the ratio between hydrophobic and hydrophilic units in the polymer chain (Tang et al., Singh J. Int J Pharm 2009.).

The thermosensitive gel have been widely used for the realization of matrices incorporating cells and drugs: the cells and bioactive molecules are added to aqueous solutions of the polymer at room temperature; the system gels after its administration in vivo, by encapsulating the cells and the drug . However, the thermosensitive polymers commercially available (Pluronic, PNIPAAm) are not degradable.

Examples of commercially available and degradable temperature sensitive gel and instead include block copolymers (bi-, tri-, multi-block) consisting of hydrophobic blocks A and hydrophilic blocks B, where A is the polyethyleneglycol (PEG) and B is one of the three biodegradable polymers: poly (lactide-co-glycolide) (PLGA), polylactic acid (PLA) or polycaprolactone (PCL) (Fedorovich et al., Tissue Eng 2007). However, they do not possess functional groups biomimetic, generally have poor mechanical properties and are not biodegradable (ie not degrade by enzymatic action in a biological environment). Such copolymers are also degradable by hydrolysis, with the formation of degradation products from acids, which may, however, degrade the drug embedded in the material where they are particularly sensitive to an acidic pH.

The segmented polyurethanes (PU) are biomaterials with modular mechanical characteristics, good processability and biocompatibility (Rechichi et al., J. Biomed. Mater. Res A 2007) and can be rendered biodegradable with introduction of appropriate chain segments sensitive to the action of enzymes (Scott. et al., Tissue Eng B 2008). Recently, were synthesized thermosensitive gels based on hydrophobic blocks of poly (hexamethylene urethane serinol) and hydrophilic blocks of PEG, containing an amino group for repeating unit, thus making possible the biofunzionalizzazione with peptides (Park et al., Biomaterials 2010). The thermosensitive gel PU are very versatile, because it can be prepared by various combinations

of diols, diisocyanates and chain extenders, so as to control the biodegradability, mechanical properties and the biofunzionalizzazione through reactive side groups.

MEDICINA RIGENERATIVA NELLA RIPARAZIONE DELLA CUTE

La possibilità di riparare estese soluzioni di continuo a livello cutaneo ha sempre rappresentato un problema di vitale importanza in medicina; infatti la perdita dell'integrità dell'organo deputato alla protezione dagli insulti esterni espone l'organismo ad una serie innumerevole di rischi di perdita dell'omeostasi, nonché all'aggressione da parte di microrganismi. Le soluzioni di continuo cutanee vengono, quindi, protette con cute allogenica da donatore cadavere o con costrutti autologhi ottenuti mediante processi di espansione cellulare. Per l'allestimento della coltura di cellule, è necessario un prelievo di tessuto da paziente o donatore. Il prelievo viene eseguito su una zona corporea piana, evitando le superfici articolari, il volto e le mani. Il prelievo del paziente ustionato viene effettuato preferibilmente entro il secondo giorno dal ricovero del paziente. Seguendo protocolli di disinfezione e trasporto del campione di tessuto, la biopsia viene lavorata e con l'utilizzo di enzimi, vengono separate le cellule del derma e dell'epidermide.

Si procede alla coltura in terreno specifico, alla crescita cellulare in appositi incubatori e, dopo circa 3 settimane le cellule vengono seminate su appositi sostegni ("scaffold" o "lamine") utilizzati per veicolare le cellule in sede di lesione. Essi, infatti, possono essere posizionati direttamente sulla zona da trattare oppure crioconservati in appositi container per essere utilizzati in un tempo successivo secondo necessità. Dal punto di vista chirurgico, il principale vantaggio della coltivazione epiteliale è che una vasta superficie di sostituto cutaneo può essere prodotta per coprire le aree cruenti: un frammento biotico di 2 cm² può essere fatto espandere fino ad una superficie 10.000 volte maggiore in 3-4 settimane.

Attualmente la processazione di cellule cutanee viene eseguita per la preparazione di:

- Lamine di cheratinociti cm 10x10 per utilizzo autologo
- Lamine di cheratinociti cm 10x10 per utilizzo omologo
- Lamine di fibroblasti cm 8x8 per utilizzo autologo
- Lamine di fibroblasti cm 8x8 per utilizzo omologo

Il termine Epidermolisi Bollosa (EB) si riferisce a un gruppo eterogeneo di malattie, per lo più ereditarie, la cui caratteristica comune è una particolare suscettibilità dei tegumenti alla frizione, con formazione di lesioni bollose in seguito a traumi anche di modesta entità

Esistono forme cliniche diverse di tale patologia, alcune assai lievi, ed altre gravissime che possono essere mortali in età neonatale o addirittura intrauterina. I sintomi si manifestano nei primi mesi di vita o in età neonatale.

La prevalenza complessiva di EB semplice, EB giunzionale ed EB distrofica nella popolazione è stata stimata in 1/130.000 negli Stati Uniti, 1/100.000 in Italia.

A livello cutaneo diffusamente su tutto il corpo, ma specialmente nelle sedi più esposte a frizione, sono presenti lesioni bollose, spesso ulcerate perdita degli annessi cutanei, talvolta alopecia cicatriziale. Le lesioni bollose si presentano anche a carico della mucosa del sistema gastrointestinale, quindi mucosa orale, mucosa esofagea, con conseguente stenosi cicatriziale, mucosa anale. Tali reperti conducono poi a un quadro di malnutrizione, e successivo ritardo di crescita, conseguente al dolore nell'alimentarsi e nella defecazione. Nei casi più severi si ha coinvolgimento della mucosa oculare con lo sviluppo di cheratiti, lesioni a carico del tratto respiratorio, anemia.

L'attuale trattamento della patologia è un trattamento sintomatico, non una cura della patologia in quanto una correzione dei geni scorretti non è attualmente disponibile. La recidiva è la caratteristica dominante di questa patologia, tanto che i risultati vengono distinti in insufficienti quando essa avvenga prima di 2 anni, buoni tra i 2 e 4 anni ed eccellenti quando si riescano a superare i 4 anni. In realtà il concetto stesso di recidiva è difficilmente definibile in quanto una flessione del 5° dito è perfettamente compatibile con la funzionalità della mano mentre una restrizione del 1° spazio ne limita grossolanamente l'uso.

REGENERATIVE MEDICINE IN SKIN REPAIR

The ability to repair extensive continuous solutions of the skin has always been a problem of vital importance in medicine, because the loss of integrity of the organ deputy to the protection from external insults exposes the body to a huge range of risk of loss of homeostasis, as well as the aggressive part of microorganisms. The solutions of continuous

skin are, therefore, protected with allogeneic skin from cadaver donor or autologous with constructs obtained by processes of cell expansion.

For the preparation of the cell culture, it is necessary a sample of tissue from patient or donor. The sampling is performed on a flat body area, avoiding the articular surfaces, the face and hands. The sample of burned patients is preferably carried out by the second day after admission the patient. Following disinfection protocols and transportation of the tissue sample, the biopsy is machined and with the use of enzymes, are separated cells of the dermis and epidermis.

One proceeds to the cultivation in defined medium, the cell growth in special incubators and, after about 3 weeks, the cells are seeded on special supports ("scaffold" or "foils") used to convey the cells in the lesion. They, in fact, can be placed directly on the area to be treated or cryogenically preserved in special containers to be used at a later time as needed. From the surgical point of view, the main advantage of growing epithelial is that a large area of skin substitute can be produced to cover areas bloody: a fragment biopsy of 2 cm² can be made to expand up to a surface 10,000 times greater in 3-4 weeks.

Currently, the processing of skin cells is performed for the preparation of:

- Keratinocytes foils 10x10 cm for autologous use
- Keratinocytes foils 10x10 cm for homologous use
- Fibroblasts Foils 8x8 cm for autologous use
- Fibroblasts Foils 8x8 cm for homologous use

The term Epidermolysis bullosa (EB) refers to a heterogeneous group of diseases, mostly hereditary, whose common feature is a particular susceptibility of the integuments to the clutch, with formation of bullous lesions following trauma also of small entity. There are different clinical forms of the disease, some of them very slight, and other serious that can be fatal in neonatal or even in the womb. The symptoms occur during the first months of life in newborns. The overall prevalence of EB simple, junctional EB and dystrophic EB in the population was estimated at 1/130.000 in the United States, 1/100.000 in Italy.

At the level of cutaneous widely throughout the body, but especially in locations most exposed to friction, bullous lesions are present, often ulcerated with loss of skin appendages, sometimes scarring alopecia. The bullous lesions occur also borne by the mucosa of the gastrointestinal system, then the oral mucosa, esophageal mucosa, with consequent cicatricial stenosis, anal mucosa. These findings then lead to a framework of malnutrition, and subsequent growth retardation, resulting in pain in feeding and defecation. In more severe cases there is involvement of the mucosa with the development of ocular keratitis, lesions of the respiratory tract, anemia.

The current treatment of the disease is a symptomatic treatment, not a cure of the disease as a correction of incorrect genes is currently not available

Recurrence is the dominant feature of this disease, so that the results are divided into short when it occurs before two years, good between 2 and 4 years and excellent when you are able to exceed 4 years. In fact, the concept of recurrence is difficult to define as a decline in the 5th finger is perfectly compatible with the functionality of the hand as a restriction of 1 space limits roughly use.

LA RIGENERAZIONE TRAMITE CELLULE iPS

La terapia cellulare è una opzione estremamente valida per il trattamento di danni e patologie, anche di natura genetica, della muscolatura scheletrica, ma diversi dei progenitori cellulari finora utilizzati non hanno fornito risultati univoci. Un altro importante problema da tener presente è quello del rigetto che limita moltissimo l'applicazione di cellule derivanti da fonti eterologhe. Un nuova acquisizione della scienza ha risolto entrambi i problemi attraverso la generazione di cellule pluripotenti, iPS, da cellule adulte di tessuto umano (1,2). È stato dimostrato che le cellule iPS hanno le stesse caratteristiche delle cellule embrionali staminali ma non incorrono nei limiti etici che ne vietano l'uso.

Le potenzialità terapeutiche delle cellule iPS sono state dimostrate in molte patologie, tra le quali; l'anemia falciforme, dove il fenotipo murino è stato riportato alla normalità grazie al trapianto di cellule ematopoietiche derivate da iPS di derivazione autologa (3). Inoltre, cellule iPS sono state indotte al differenziamento verso il fenotipo neuronale , e rese

capaci di migliorare il comportamento cognitivo in alcuni modelli animali di morbo di Parkinson (4). Aggiungiamo alla lista altre patologie in cui l'utilizzo delle cellule iPS è stato determinante per il miglioramento terapeutico: sindrome di Shwachman-Bodian-Diamond, morbo di Gaucher tipo III, distrofia muscolare di Duchenne e Becker, morbo di Huntington, juvenile-onset, diabete mellito di tipo 1, sindrome di Down, morbo di Lesch-Nyhan.

Ad oggi, diversi gruppi hanno generato linee di cellule iPS umane partendo da cellule di pazienti affetti da patologie specifiche. Park e collaboratori hanno prodotto una libreria di linee iPS derivate da paziente con patologie come il morbo di Huntington, il diabete mellito giovanile, la sindrome di Down, la distrofia muscolare e molte altre (5). Cellule iPS sono state derivate da diversi pazienti e donatori sani fornendo così una libreria di tessuti per la validazione di terapie (drugs testing e gene therapy) in vivo individuo-specifiche, eliminando così il rischio tossicologico di trattamenti sull'individuo.

Per quello che riguarda le possibili applicazioni su vasta scala, va messa su un piano di rilievo la creazione di una piattaforma per la generazione standardizzata di tessuto muscolare scheletrico specifico per il paziente, per indagini terapeutiche ad ampio raggio. Inoltre, l'aumento della casistica permetterà di creare un modello informatico accurato per la prevedibilità dell'insorgenza di malattie genetiche, fondato sulle singole mutazioni genetiche note ed in corso di validazione. Questi studi dimostrano che l'utilizzo di terapie basate sulle cellule iPS è una strategia possibile per il trattamento di patologie neuro-degenerative e genetiche. Però, dal momento che le linee utilizzate in questi esperimenti sono ottenute tramite una integrazione virale, la sicurezza a lungo termine di tali cellule iPS rimane sconosciuta.

Quindi, lo sviluppo di una strategia che non richiede l'utilizzo di virus per la generazione di cellule iPS sarà importante e potrebbe aprire la porta a trattamenti evoluti per diverse patologie in modo duraturo. Nel nostro caso, utilizzeremo RNA messaggero codificante geni embrionali per il processo di riprogrammazione, aumentando la bio-sicurezza (6).

Siamo convinti che l'impatto economico di questo progetto può essere inserito in una prospettiva più ampia di promozione della salute. L'investimento richiesto porterà ad una riduzione dei costi futuri, in termini di intervento clinico, materiali ed equipaggiamento. La medicina personalizzata è un modello che enfatizza in generale la "customizzazione" della cura, secondo il quale tutte le decisioni e le pratiche sono ritagliate sui singoli pazienti e non su gruppi. Alla base della medicina personalizzata è presente un uso sistematico delle informazioni genetiche sul singolo paziente per selezionare o ottimizzare la cura preventiva o terapeutica su quello stesso paziente. Nel corso dell'ultimo secolo, la terapia si è costruita su standard di cura basati su studi epidemiologici di larghe coorti. D'altra parte, questi studi non prendono in considerazione la variabilità genetica dei singoli individui all'interno di una popolazione. La medicina personalizzata mira quindi a porre le basi per individuare le differenze tra individui e quindi fornire una terapia individuale. La transizione dalla medicina per gruppi ad una nuova strategia di cura basata sui fenotipi biologici individuali con approcci genomici, proteomici, metabolomici ed epigenomici darà luogo ad una nuova struttura in cui la cura verrà trasformata sulla base delle nuove scoperte nel campo della medicina molecolare e della patofisiologia molecolare delle malattie. Questa modificazione paradigmatica dipenderà dalla descrizione dettagliata della variazione biologica individuale in connessione con fattori ambientali e di stili di vita che influenzano lo sviluppo delle malattie.

REGENERATION THROUGH iPS CELLS

Cell therapy is an extremely viable option for the treatment of damage and diseases, also genetic in nature, of skeletal muscles, but different progenitor cell hitherto used; did not provide unequivocal results. Another important issue to consider is that of rejection which greatly restricts the application of cells derived from heterologous sources. A new acquisition of science has solved both problems through the generation of pluripotent cells, iPS cells from adult human tissue (1.2). It has been shown that iPS cells have the same characteristics of embryonic stem cells but do not incur in ethical limitations that prohibit its use.

The therapeutic potential of iPS cells have been demonstrated in many diseases, including, sickle cell anemia, where the phenotype murine was returned to normal thanks to the transplantation of hematopoietic cells derived from iPS-derived autologous (3). Furthermore, iPS cells were induced to differentiation toward the neuronal phenotype, and made capable of improving the cognitive behavior in some animal models of Parkinson's disease (4). Add to list other diseases in which the use of iPS cells has been instrumental in improving therapeutic Shwachman-Bodian syndrome-Diamond, Gaucher disease type III, Duchenne and Becker muscular dystrophy, Huntington's disease, juvenile-onset, diabetes mellitus type 1, Down syndrome, Lesch-Nyhan disease.

To date, several groups have generated human iPS cell lines starting from cells of patients with specific pathologies. Park and coworkers have produced a library of iPS lines derived from patients with diseases such as Huntington's disease, juvenile diabetes mellitus, Down syndrome, muscular dystrophy and many other (5).

iPS cells were derived from different patients and healthy donors thereby providing a library of tissues for the validation of therapies (drugs and testing gene therapy) in vivo individual-specific, thus eliminating the risk of toxicological treatments on the individual.

For what concerns the possible large-scale applications, to be put on a level of importance is the creation of a platform for the generation of standardized skeletal muscle tissue specific to the patient, for wide-ranging therapeutic investigations. Moreover, the increase of the series will create an accurate computer model for the predictability of the onset of genetic diseases, based on individual genetic mutations known and being validated. These studies demonstrate that the use of therapies based on iPS cells is a possible strategy for the treatment of neuro-degenerative and genetic diseases. However, since the lines used in these experiments are obtained via a viral integration, the long-term safety of these iPS cells remains unknown.

Therefore, the development of a strategy that does not require the use of viruses for the generation of iPS cells will be important and could open the door to treatments evolved to different pathologies in a lasting way. In our case, we use messenger RNA coding genes for embryonic reprogramming process, increasing the bio-safety (6).

We believe that the economic impact of this project can be placed in a broader perspective of health promotion. The investment required will reduce future costs, in terms of clinical intervention, materials and equipment. Personalized medicine is a model that emphasizes in general the "customization" of care, according to which all decisions and practices are tailored on the individual patient and not groups. The basis of personalized medicine is a systematic use of genetic information on an individual patient to select or optimize preventive care or treatment of the same patient. During the last century, the therapy is built on standards of care based on epidemiological studies of large cohorts. On the other hand, these studies do not take into account the genetic variability of the individuals within a population. Personalized medicine aims at laying the groundwork for identifying differences between individuals and then provide individual therapy. The transition from medical groups to a new treatment strategy based on individual biological phenotypes with genomic approaches, proteomic, metabolomic and epigenomic give rise to a new structure in which care will be transformed on the basis of new discoveries in the field of molecular medicine and molecular pathophysiology of disease. This paradigmatic change will depend on the detailed description of the individual biological variation in connection with environmental factors and lifestyles that influence the development of disease.

L'ANGIOGENESI NELLA RIGENERAZIONE TISSUTALE

La rigenerazione dei tessuti dipende strettamente dagli stimoli e dai segnali derivanti dal microambiente presente nel tessuto stesso. Un approccio utile e meno complesso rispetto al trapianto cellulare, per l'identificazione di nuove strategie terapeutiche, consiste nella mobilitazione delle cellule endogene. Tale metodo permette di superare le difficoltà associate all'utilizzo delle cellule staminali embrionali e/o adulte. Nonostante tale approccio sia molto promettente, al fine di individuare strategie terapeutiche di successo, è necessario ottenere una comprensione più dettagliata della complessa rete che comprende i diversi tipi di cellule e fattori coinvolti nel processo rigenerativo (Bentzinger, von Maltzahn et al. 2010). Infatti, l'induzione all'attivazione e alla mobilitazione delle cellule staminali endogene implica anche lo studio delle altre componenti essenziali del tessuto e delle popolazioni di cellule che promuovono l'infiammazione, la rigenerazione e l'angiogenesi (Brunelli and Rovere-Querini 2008).

Il muscolo scheletrico è caratterizzato dalla notevole capacità di rigenerare dopo aver subito lesioni o come conseguenza di malattie. La rigenerazione viene avviata da tutti i segnali che vengono rilasciati sia dalle fibre danneggiate che dai macrofagi (MPs) e che portano all'attivazione delle cellule satelliti quiescenti, cioè le cellule staminali primarie che sono tra i principali fattori responsabili della rigenerazione del muscolo (Chazaud, Sonnet et al. 2003; Arnold, Henry et al. 2007; Tajbakhsh 2009). Studi recenti evidenziano che i fattori prodotti durante il processo infiammatorio possono influenzare la rigenerazione del muscolo scheletrico stimolando la sopravvivenza delle cellule satelliti e/o la loro proliferazione, mettendo in evidenza l'importanza del microambiente che è in grado di mediare la mobilitazione delle cellule satelliti e l'induzione della rigenerazione muscolare (Chazaud, Sonnet et al. 2003; Brunelli and Rovere-Querini 2008).

Tra gli scopi di questo progetto è lo studio dell'effetto di modulatori dell'angiogenesi e/o della mobilitazione delle

cellule staminali muscolari (cellule satelliti) nella rigenerazione del muscolo scheletrico, con il fine ultimo di definire nuovi protocolli di rigenerazione muscolare, basati sulla somministrazione in vivo, in modelli di danno muscolare acuto, di piccole molecole/peptidi, anche mediante l'utilizzo di biomateriali. In particolare, sarà analizzato l'effetto di un nuovo fattore, Cripto che agisce come regolatore delle cellule staminali pluripotenti (Parisi, D'Andrea et al. 2003; Minchiotti 2005), e la cui espressione è indotta nelle cellule staminali e nelle cellule infiammatorie durante le fasi precoci della rigenerazione muscolare, come recentemente dimostrato nel nostro laboratorio (Guardiola et al., under review). Inoltre, sarà studiato il ruolo di Cripto sulla migrazione delle cellule satelliti. Ad oggi, infatti, le molecole ed i meccanismi relativi alla migrazione in vivo di queste cellule e dei precursori dei mioblasti sono, come la maggior parte degli aspetti della fisiologia delle cellule satellite, complicati dalla rarità e dalla dispersione delle stesse all'interno del tessuto. E' necessario quindi sviluppare nuovi protocolli sperimentali, basati sulla microscopia time-lapse, che permettano di seguire il movimento delle cellule satellite e dei precursori muscolari direttamente su fibre muscolari isolate.

Il muscolo scheletrico è caratterizzato dalla notevole capacità di rigenerare dopo aver subito lesioni o come conseguenza di malattie. La rigenerazione viene avviata da tutti i segnali che vengono rilasciati sia dalle fibre danneggiate che dai macrofagi (MPs) e che portano all'attivazione delle cellule satelliti quiescenti, cioè le cellule staminali primarie che sono tra i principali fattori responsabili della rigenerazione del muscolo scheletrico. Studi recenti evidenziano che i fattori prodotti durante il processo infiammatorio possono influenzare la rigenerazione del muscolo scheletrico stimolando la sopravvivenza delle cellule satelliti e/o la loro proliferazione, mettendo in evidenza l'importanza del microambiente che è in grado di mediare la mobilitazione delle cellule satelliti e l'induzione della rigenerazione muscolare.

ANGIOGENESIS IN TISSUE REGENERATION

The tissue regeneration depends closely on stimuli and on the signals arising from the microenvironment present in the tissue itself. A useful approach and less complex than the cell transplantation for the identification of new therapeutic strategies, is the mobilization of endogenous cells. This method allows to overcome the difficulties associated with the use of embryonic stem cells and / or mature. Although this approach is very promising, in order to identify therapeutic strategies for success, you need to obtain a more detailed understanding of the complex network that includes different types of cells and factors involved in the regeneration process (Bentzinger, von Maltzahn et al., 2010). In fact, the induction of activation and mobilization of endogenous stem cells also involves the study of other essential components of the tissue and cell populations that promote inflammation, regeneration, and angiogenesis (Brunelli and Rovere-Querini 2008) .

The skeletal muscle is characterized by the remarkable ability to regenerate after suffering injury or as a consequence of diseases. The regeneration is initiated by all the signals that are released by damaged fibers is that by macrophages (MPs) and leading to activation of satellite cells quiescent, that is, the primary stem cells that are among the major factors responsible for the regeneration of the muscle (Chazaud, Sonnet et al., 2003; Arnold, Henry et al., 2007; Tajbakhsh 2009). Recent studies show that the factors produced during the inflammatory process may affect the regeneration of skeletal muscle by stimulating the survival of satellite cells and / or their proliferation, highlighting the importance of the microenvironment which is capable of mediating cell mobilization satellites and the induction of muscle regeneration (Chazaud, Sonnet et al., 2003; Brunelli and Rovere-Querini 2008).

Among the aims of this project is to study the effect of modulators of angiogenesis and / or mobilization of muscle stem cells (satellite cells) in skeletal muscle regeneration, with the ultimate aim of defining new protocols of skeletal muscle regeneration, based on in vivo administration, in models of acute muscle damage, small molecules / peptides, including through the use of biomaterials. In particular, it will be analyzed the effect of a new factor, Cripto which acts as a regulator of pluripotent stem cells (Parisi, D'Andrea et al. 2003; Minchiotti 2005), and whose expression is induced in stem cells and in inflammatory cells during the early stages of muscle regeneration, as recently demonstrated in our laboratory (Guardiola et al., under review). It will also investigate the role of Cripto on migration of satellite cells. Today, in fact, the molecules and mechanisms for migration of these cells in vivo and precursors of myoblasts are, like most aspects of the physiology of satellite cells, complicated by the rarity and the leak of them all "internal tissue . E 'therefore necessary to develop new experimental protocols, based on time-lapse microscopy, making it possible to follow the movement of satellite cells and muscle precursors directly on muscle fibers isolated.

The skeletal muscle is characterized by the remarkable ability to regenerate after suffering injury or as a consequence of diseases. The regeneration is initiated by all the signals that are released by damaged fibers is that by macrophages (MPs) and leading to activation of satellite cells quiescent, that is, the primary stem cells that are among the major factors responsible for the regeneration of skeletal muscle. Recent studies show that the factors produced during the inflammatory process may affect the regeneration of skeletal muscle by stimulating the survival of satellite cells and / or their proliferation, highlighting the importance of the microenvironment which is capable of mediating cell mobilization satellites and the induction of muscle regeneration.

UTILIZZO DI PICCOLE MOLECOLE PER REGOLARE LA PROLIFERAZIONE E IL DIFFERENZIAMENTO DI CELLULE STAMINALI

Una delle principali sfide della medicina rigenerativa è quella di poter sfruttare pienamente le multipotenzialità delle cellule staminali per permettere il ripristino, il mantenimento e/o l'aumento delle funzioni dei tessuti. Le cellule staminali possono essere sorgente di differenti tipi cellulari, compensando in tal modo l'incapacità dell'organismo adulto di riparare i danni a carico di tessuti che hanno perduto la capacità di rinnovarsi (Wagers 2012). In questo contesto, le ripercussioni applicative delle metodiche volte al differenziamento controllato di cellule staminali sono dunque potenzialmente enormi, in quanto utilizzabili per la cura e la terapia di un ampio spettro di patologie degenerative. Ciononostante la disponibilità di molecole in grado di controllare la loro proliferazione, il loro differenziamento, la loro motilità, etc. è ancora molto limitata.

In gran parte, ciò è dovuto:

- alla complessità dei meccanismi molecolari che regolano tali funzioni;
- alle limitazioni degli approcci sperimentali utilizzati.

Diventa quindi cruciale lo sviluppo di progetti/piattaforme tecnologiche mirati all'identificazione di regolatori delle cellule staminali anche attraverso lo sviluppo di nuove metodologie come quelle dell'HTS e della robotica/automazione dei processi (Desbordes, Placantonakis et al. 2008; Rubin 2008).

La possibilità di indirizzare in maniera razionale il differenziamento di cellule staminali alterando il signalling mediante l'aggiunta di piccole molecole rappresenterebbe un sostanziale passo avanti per gli obiettivi della medicina rigenerativa. Il raggiungimento di quest'obiettivo potrebbe contribuire ad ottenere colture cellulari differenziate in maniera omogenea a costi ridotti. Sebbene la letteratura riporti numerosi metodi di riprogrammazione cellulare mediante alterazione del controllo trascrizionale (Cowan, Atienza, Melton, & Eggen, 2005; Meivar-Levy & Ferber, 2010; Takahashi et al., 2007), i meccanismi ed i segnali che regolano il differenziamento delle cellule staminali attraverso la modulazione del signalling non sono compresi.

Ci proponiamo di dare un contributo in questa direzione utilizzando il sistema dei mesoangioblasti murini (Cossu & Bianco, 2003). Utilizzando una piattaforma di screening "high content" basata sulla microscopia a fluorescenza automatizzata (Sacco et al., 2012) ci proponiamo di identificare molecole che possano "incanalare" il differenziamento di cellule progenitrici verso il muscolo scheletrico (Sampaolesi et al., 2006) o il muscolo liscio (Tagliafico et al., 2004). Le molecole identificate come "hits" nello screening saranno utilizzate per perturbare il sistema cellulare al fine di sviluppare un modello predittivo che sia in grado di inferire il comportamento del sistema anche in condizioni che non siano state testate sperimentalmente (Sacco et al., 2012). L'analisi del comportamento del modello dovrebbe quindi fornire nuove ipotesi sull'utilizzo di combinazioni di perturbazioni di pathway cellulari al fine di migliorare l'efficienza di differenziamento.

USE OF SMALL MOLECULES TO ADJUST THE PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION OF STEM CELLS

One of the main challenges of regenerative medicine is the ability to fully exploit the multipotentiality of stem cells to allow the restoration, preservation and / or enhancement of tissue function. Stem cells can be a source of different cell types, thereby compensating for the inability of the adult to repair the damage to tissues that have lost the ability to innovate (Wagers 2012). In this context, the impact of application of methods aimed at controlled differentiation of stem cells are

therefore potentially enormous, as usable for the care and treatment of a wide spectrum of degenerative diseases. Despite the availability of molecules able to control their proliferation, their differentiation, their motility, etc.. is still very limited.

In large part, this is due to:

- the complexity of the molecular mechanisms that regulate these functions;
- to the limitations of experimental approaches used.

It is therefore crucial the development of project / technology platforms targeted to the identification of regulators of stem cells through the development of new methodologies such as HTS and robotics / automation of processes (Desbordes, Placantonakis et al., 2008; Rubin 2008).

The possibility of directing in a rational manner the differentiation of stem cells by altering signaling by the addition of small molecules represent a substantial step forward for the goals of regenerative medicine. The achievement of this objective could help to obtain cell cultures differentiated in a homogeneous way at reduced costs.

Although the literature describe numerous methods of cellular reprogramming through alteration of the transcriptional control (Cowan, Atienza, Melton, & Eggan, 2005; Meivar-Levy & Ferber, 2010; Takahashi et al., 2007), the mechanisms and signals that regulate the differentiation of stem cells through the modulation of signaling are not included.

We aim to make a contribution in this direction by using the system of murine mesoangioblasts (Cossu & White, 2003). Using a screening platform based on automated fluorescence microscopy (Sacco et al., 2012) we aim to identify molecules that can reprogram the differentiation of progenitor cells toward the skeletal muscle (Sampaolesi et al., 2006) or the smooth muscle (Tagliafico et al., 2004). The molecules identified programming in screening will be used to disrupt the cellular system in order to develop a predictive model that is able to infer the behavior of the system even under conditions that have not been tested experimentally (Sacco et al., 2012). This analysis of the behavior of the model should provide new hypotheses on the utilization of combinations of perturbations of cellular pathways in order to improve efficiency of differentiation.

MEDICINA RIGENERATIVA IN CAMPO NEUROLOGICO

Le lesioni del sistema nervoso centrale e le malattie neurodegenerative costituiscono una delle sfide maggiori per la medicina moderna, per la modestissima capacità autoriparativa del tessuto nervoso e per l'assenza di terapie causali per le malattie neurodegenerative. Negli ultimi anni, è stato pubblicato un grande numero di studi sulla possibilità di utilizzare diversi tipi cellulari in diversi modelli sperimentali, ma il quadro che emerge riguardo al possibile impiego di terapie cellulari per le malattie del CNS è in gran parte contraddittorio (Aboody et al., 2011; Walker et al., 2010). E' chiaro che l'homings e il lodging sono dei punti chiave per la somministrazione di cellule nel SNC. Infatti, solo una percentuale molto bassa di cellule somministrate per via intratecale, intraparenchimale o endovenosa vengono ritrovate nei siti di lesione (Chen et al., 2011). Inoltre, i numerosi studi su trapianti cellulari in diversi modelli animali e studi condotti sull'uomo hanno indicato che un numero molto basso di cellule trapiantate rimangono permanentemente nel tessuto e differenziano nel fenotipo desiderato (Shichinohe et al., 2004; Sykova et al., 2006; Prabhakar et al., 2010; Zhang et al., 2010; Cicchetti et al., 2011). In questi casi l'efficacia viene attribuita alle proprietà paracrine delle cellule trapiantate (Ratajczak et al., 2011; Schira et al., 2011). Infatti studi recenti suggeriscono che proprio l'effetto paracrino dei fattori secreti, piuttosto che la diretta sostituzione cellulare, siano responsabili della maggior parte dei benefici osservati dopo il trapianto cellulare (Shimada and Spees, 2011).

Vi è quindi un crescente interesse verso tecnologie che possano indirizzare e mantenere le cellule sul bersaglio, che possano controllare la comunicazione cellule-ospite e che possano controllare e stabilizzare le proprietà cellulari. Allo stesso tempo, le tecnologie di ingegneria tissutale stanno offrendo un ampio campo di possibilità per ideare dispositivi su misura a seconda del tipo di trauma, della sua estensione, dell'area interessata etc (Walker et al., 2009; Han et al., 2010; Zurita et al., 2010; Jurga et al., 2011). L'uso di polimeri e di nanotecnologie per la riparazione e la ricostruzione del SN riguarda ad esempio scaffolds nanostrutturati, utilizzati per ristabilire una appropriata architettura neurale, per ristabilire la comunicazione cellula-cellula, cellula-ECM. La coniugazione degli scaffold con componenti della ECM (es ac. ialuronico, un glicosaminoglicano naturale) è stata ad esempio proposta per regolare localmente le reazioni immuni e i processi infiammatori (Mizrahy et al., 2011) e favorire la rigenerazione nervosa (Park et al., 2009). Questi dispositivi prodotti con elettrofilatura di sostanze chimiche biocompatibili e biodegradabili si stanno mostrando promettenti per dirigere la crescita

assonale; ricreare le nicchie di cellule staminali e di precursori; favorire il lignaggio neurale od oligodendrogliale; trasportare e per reclutare le cellule in un'area desiderata (Jiang et al., 2012; Cho and Borgens, 2012). Scaffold morbidi generati sia da elettrofilatura di materiali di diversa natura e sintesi o modellati da soft lithography per mimare la topografia e consistenza meccanica della superficie di ECM, possono essere coniugati anche alle molecole di ECM oppure a farmaci che agiscono su diversi lignaggi, adattati per mantenere le cellule su una superficie, o per includere cellule in una tasca, etc, permettendo quindi un'ampia varietà di "smart devices" disegnati per specifiche condizioni patologiche.

REGENERATIVE MEDICINE IN NEUROLOGICAL FIELD

The lesions of the central nervous system and neurodegenerative diseases constitute one of the major challenges for modern medicine, for the modest capacity autoriparativa of nerve tissue and for the absence of causal therapies for neurodegenerative diseases. In recent years, has been published a large number of studies on the possibility to use different cell types in different experimental models, but the picture that emerges with respect to the possible use of cellular therapies for diseases of the CNS is largely inconsistent (Aboody et al., 2011; Walker et al., 2010). It 'clear that the homing and the lodging are key points are for administration of cells in the CNS.

In fact, only a very small percentage of cells that were administered by intrathecal or intravenous intraparenchymal are found at the sites of injury (Chen et al., 2011). In addition, the numerous studies on cellular transplants in several animal models and human studies have indicated that a very low number of transplanted cells remain permanently in the tissue and differ in the desired phenotype (Shichinohe et al., 2004; Sykova et al. 2006; Prabhakar et al., 2010; Zhang et al., 2010; Cicchetti et al., 2011). In these cases the effectiveness is attributed to the paracrine properties of transplanted cells (Ratajczak et al., 2011; Schira et al., 2011). In fact, recent studies suggest that the paracrine effect of factors secreted rather than direct cell replacement are responsible for most of the benefits observed after cell transplantation (Shimada and Spees, 2011).

There is therefore a growing interest in technologies that are able to orient and keep the cells on the target, which may control the communication host-cells and that they can control and stabilize the cellular properties. At the same time, the technologies of tissue engineering are offering a wide field of possibilities to design devices tailored depending on the type of trauma, of its extension, the area concerned etc (Walker et al., 2009; Han et al. 2010; Zurita et al., 2010; Jurga et al., 2011). The use of polymers and nanotechnology for the repair and reconstruction of SN regards nanostructured scaffolds for example, used to restore an appropriate neural architecture, in order to restore the cell-cell communication, cell-ECM.

The conjugation of the scaffolds with components of the ECM (es ac. Hyaluronic acid, a natural glycosaminoglycan) has been proposed for example to adjust locally immune reactions and inflammatory processes (Mizrahy et al., 2011) and to promote nerve regeneration (Park et al., 2009). These devices produced by electrospinning of biocompatible and biodegradable chemicals are showing promise for directing axonal growth, create niches of stem cells and precursors; promote neural lineage or oligodendroglial; carry and to recruit cells in a desired area (Jiang et al., 2012; Borgens and Cho, 2012). Soft scaffolds generated both by electrospinning of materials of different nature and synthesis or shaped by soft lithography to mime the topography of the surface and mechanical consistency of ECM, may also be conjugated to molecules of ECM or to drugs that act on multiple lineages, adapted to maintain cells on a surface, or to include cells in a pocket, etc., thus allowing a wide variety of "smart devices" designed for specific pathological conditions.

LA RIGENERAZIONE NEL TESSUTO MUSCOLOSCELETRICO

Una cellula staminale è una cellula capace di dividersi per periodi indefiniti - spesso per l'intera vita di un organismo. Le cellule staminali, adeguatamente stimulate da fattori "signaling", hanno il potenziale di differenziarsi in diversi tipi di cellule. Queste cellule differenziate di origine mesenchimale hanno forma e funzioni specializzate, dando origine a tessuto muscolare, osseo, cartilagineo, tendineo, ecc. [1], [2], [3],[4],[5],[6],[7].

Le cellule staminali più utilizzate per la rigenerazione muscolo scheletrica sono le staminali mesenchimali adulte: è una cellula indifferenziata che si trova in un tessuto differenziato, può rinnovarsi e diventare specializzata per produrre tutti i tipi di cellule specializzate del tessuto da cui ha origine. Fonti di cellule staminali adulte sono state trovate nel midollo osseo, sangue, cornea e retina degli occhi, polpa dentaria, fegato, pelle, pancreas e soprattutto nel tessuto adiposo. [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16] [17], [18],[19].

Applicazioni cliniche in ortopedia:

- 1) Rigenerazione midollo spinale
- 2) Difetti ossei critici e pseudoartrosi
- 3) Riparazione cartilaginea
- 4) Rigenerazione del legamento crociato anteriore e del menisco.
- 5) Distrofie muscolari
- 6) Fusione Vertebrale
- 7) Degenerazione del disco intervertebrale

TUTTA LA LETTERATURA RELATIVA AL CAPITOLO "STATE OF THE ART" E' RIPORTATA NELL'ANNEX I

REGENERATION IN MUSCULOSKELETAL TISSUE

A stem cell is a cell able to divide for indefinite periods - often for the entire life of an organism. Stem cells, adequately stimulated by "signaling" factors, have the potential to differentiate into different cell types. These differentiated cells of mesenchymal origin have shape and specialized functions, giving rise to muscle tissue, bone, cartilage, tendon, etc.. [1], [2], [3], [4], [5], [6], [7].

The use of mesenchymal stem cells in orthopedics has gained strong momentum in recent years and now represents the fastest-growing area of research and clinical application.

The stem cells used for regeneration of skeletal muscle stem cells are mesenchymal adult: is an undifferentiated cell that is located in a differentiated tissue, can renew itself and become specialized to produce all the specialized cell types of the tissue from which it originated. Sources of adult stem cells have been found in bone marrow, blood, cornea and retina of the eye, dental pulp, liver, skin, pancreas, and especially in adipose tissue. [8], [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16] [17], [18], [19].

Clinical applications in orthopedics:

- 1) Regeneration spinal cord
- 2) critical bone defects and nonunions
- 3) Repair cartilage
- 4) Regeneration of the anterior cruciate ligament and meniscus.
- 5) Muscular Dystrophies
- 6) Spinal Fusion
- 7) Degeneration of the intervertebral disc

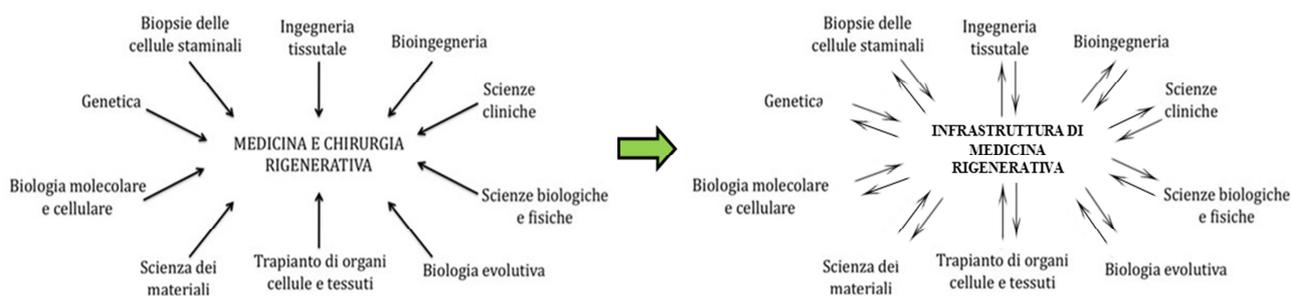
ALL THE LITERATURE ON THE CHAPTER "STATE OF THE ART" And 'I REPORTED NELL'ANNEX

3) DESCRIZIONE DELL'OBIETTIVO FINALE

3.1) Funzioni della infrastruttura nel coordinamento delle attività di ricerca industriale e nello sviluppo di prodotti per la medicina rigenerativa

La medicina rigenerativa è per sua natura una scienza che richiede una solida cooperazione fra diverse discipline per produrre risultati efficaci. Il punto chiave della medicina rigenerativa consiste, infatti, nell'idea che l'interscambio di conoscenze tra discipline diverse, ma in collaborazione tra loro, consentirà il raggiungimento di soluzioni completamente innovative che sono ben al di là di quanto potrebbe essere raggiunto dalle singole discipline, qualora continuassero le indagini scientifiche isolatamente. Purtroppo, esiste ad oggi una ridotta collaborazione e comunicazione fra biologi, biotecnologi, biochimici, medici e ingegneri causato soprattutto dalla mancanza di una struttura capace di assorbire le conoscenze prodotte e di fungere da volano distribuendole e favorendone l'integrazione. L'assenza di suddetta struttura organizzativa, capace di condividere i risultati direttamente con i naturali utilizzatori, o successivi sviluppatori di una determinata conoscenza acquisita attraverso la ricerca di base, rappresenta il principale ostacolo allo sviluppo della medicina rigenerativa.

Fig 1: multidisciplinarietà della medicina rigenerativa e ruolo della infrastruttura nella distribuzione delle conoscenze.



L'infrastruttura rappresenta la naturale evoluzione della medicina rigenerativa, in quanto fornisce, a livello locale, una rete di conoscenze necessarie per ottimizzare al massimo ogni singola scoperta nel settore, rendendola immediatamente disponibile a tutti gli altri laboratori e campi applicativi della rete, che potranno da un lato integrarla nei loro processi, dall'altro perfezionarla. In questa maniera, i partners della infrastruttura non devono ogni volta far partire il processo di ricerca da zero, ma possono avvalersi delle conoscenze che magari altri laboratori già possiedono.

L'IRMI intende rispondere ad una richiesta sempre più attenta e diversificata, frutto delle trasformazioni socioeconomiche del terzo millennio nel settore d'intervento proprio del Servizio Sanitario Nazionale. A tal fine, l'infrastruttura svolgerà compiti di programmazione, coordinamento e promozione delle attività dei partners per agevolare lo sviluppo di competitività industriale in un campo in forte espansione, che offre oggi preziose opportunità di investimenti strategici. Inoltre, le iniziative dell'IRMI incideranno sensibilmente anche sulle attività volte all'erogazione di servizi nel campo della medicina rigenerativa, in modo da valorizzare le risorse organizzative del territorio e migliorare la qualità dei servizi a cittadini ed operatori di settore.

Con lo specifico obiettivo di agevolare la ricerca industriale finalizzata allo sviluppo sperimentale, validazione e produzione per l'immissione in commercio di nuovi prodotti per la medicina rigenerativa, l'IRMI erogherà i seguenti servizi:

- consulenza scientifica ed amministrativa;
- favorire la nascita di nuove imprese hi-tech nel settore;
- elaborare piani di fattibilità per lo sviluppo tecnologico di PMI e grandi attrezzature di ricerca già esistenti;
- agevolazione della condivisione, tramite modello di rete, di conoscenze e scoperte nel settore;
- supportare lo sviluppo di progetti congiunti di ricerca e innovazione;

- tutela di proprietà intellettuale e consulenza riguardo la brevettabilità delle invenzioni, con supporto ai partners della rete durante l'intero iter brevettuale, dalla valutazione dell'invenzione al deposito della domanda di brevetto, alla sua eventuale estensione, fino allo sfruttamento economico, tramite intermediazione con uffici di consulenza brevettuale ed aziende;
- armonizzazione delle differenti competenze dei soggetti del consorzio per la partecipazione come massa critica a bandi di ricerca nazionali ed europei (Horizon 2020);
- agevolazione della collaborazione tra i partners dell'infrastruttura, finalizzata alla redazione di rilevanti pubblicazioni su autorevoli riviste scientifiche internazionali;
- interpretazione della normativa del settore e costante aggiornamento dei partners, nonché collegamento interlocutorio tra questi ultimi ed i soggetti preposti alla regolamentazione della specifica materia (es. AIFA);
- creazione di un sito internet costantemente aggiornato sulla normativa vigente e sulle iniziative dell'IRMI, dove sarà anche possibile scaricare le ricerche pubblicate nell'ambito dell'iniziativa, iscriversi ai congressi organizzati dall'infrastruttura e partecipare a seminari formativi on-line;
- istituire piani di disseminazione della infrastruttura su tutto il territorio nazionale;
- creare un collegamento alle infrastrutture e ai progetti di scala nazionale, europea ed internazionale;
- favorire l'attrazione di opportunità finanziarie e di investimento su scala nazionale, europea ed internazionale;
- formare nuove figure professionali e creare nuovi posti di lavoro.

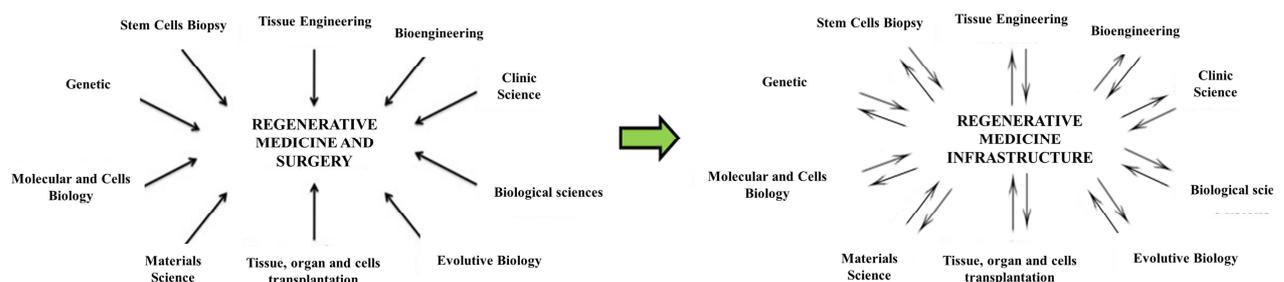
3) **OUTLINE OF THE MAIN PURPOSE**

3.1) Role of the infrastructure within industrial research coordinating activities for the development of regenerative medicine products

Regenerative medicine is per se a science which requires solid cooperation between different disciplines to perform efficacy outcomes. The key role of regenerative medicine – as a matter of fact – consists in the idea that an interchange of knowledge between different disciplines – within a cooperation frame – shall consent the achievement of completely innovative solutions, which go far beyond what can be achieved by single discipline in the case each of them should carry out studies and progress alone. Unfortunately, nowadays little collaborations and communication exist between biologists, biotechnologists, biochemical, doctors and engineers, mainly because of the lack of a structure capable to absorb knowledge and drive and empower integration. Lack of such organizational nature, able to share the outcomes directly with natural users, or subsequent developers of a knowledge acquired by basic research, represents the main obstacle to the development of regenerative medicine.

The infrastructure represents a natural evolution of regenerative medicine since it provides, locally, a network of knowledge necessary to optimize each discovery within the sector, yielding it immediately available to any other laboratory and application filed of the same network; on the one side they can integrate within their processes, on the other side they can perfection it. As a consequence, the infrastructure participants shall not open the search process each time by the beginning but they could count on knowledge other laboratories still own.

Fig. 1: multidisciplinary of regenerative medicine and role of the infrastructure within the knowledge spread



IRMI shall meet a demand which is becoming more and more exigent and diversified, which is the result of socioeconomic changes of the 21st century within the intervention sector of the National Health Service. To this end the infrastructure shall carry out programming, coordinating and promotional participants' functions to ease the development of industrial competitiveness in an expanding field, which offers nowadays precious investment and strategic opportunities.

Therefore, IRMI initiatives shall as well sensitively affect activities towards the provision of services within the field or regenerative medicine, as to exploit organizational resources of the territory and improve the quality of services for citizens and sector operators.

With the specific aim to ease industrial research aimed at experimental development, validation, manufacture and marketing of new products for regenerative medicine, IRMI shall provide the following services:

- Scientific and financial consultancy;*
- Support for the development of hi-tech start up and newco;*
- drafting of feasibility plans, technological development plans for SMEs and big research entities already existent;*
- Ease and development of sharing mechanism, thanks to network models, for knowledge and discoveries within the sector;*
- Support to collaboration research and development projects;*
- intellectual and industrial property protection with reference to patentability, with support to participants during the entire patenting process, from evaluation to invention until the filing stage, extension, economical exploitation and by corporate consultancy offices;*
- Harmonization of the different competencies of the consortium members for the participation to national research and European grants (Horizon 2020);*
- Collaboration support within the consortium aimed at drafting of relevant publications on scientific and international scientific magazines;*
- regulation and regulatory sector analysis support and update services as well as linking actions between the consortium members and referents of the dedicated regulation authorities (for instance AIFA, EMA, etc.);*
- creation of a website which shall be constantly updated upon the regulation in force within and IRMI initiatives, where researches, publications and other stuff shall be available for consultation, subscriptions to congresses and conferences shall be possible and online and fad training shall be feasible;*
- Dissemination and spread information plans of the infrastructure on the national territory;*
- Creation of a link between infrastructures and national, European and international leveled projects;*
- Ease and attraction of financial investment opportunities at national, European and international level;*
- Training of new professional figures and workplace employment.*

3.2) Rispondere all'esigenza di una strategia nazionale

Ad oggi, la maggior parte dei trattamenti terapeutici sono di tipo sintomatico, ovvero volti a rallentare la progressione della patologia; di fatto, in entrambi i casi si assiste alla cronicizzazione della malattia. Il risultato è un sistema sanitario gravato da costosi trattamenti, con poche soluzioni concrete per contenere l'aumento dei costi legato all'invecchiamento della popolazione ed all'aumento del numero dei malati. Nei soli Stati Uniti la spesa per le cure sanitarie ammontava a 2,2 trilioni di dollari nel 2006 (16% del GDP) ed è gravitata fino a 3,6 trilioni nel 2011, un aumento di 1,6 volte. Le statistiche stimano che per il 2016 la spesa sanitaria potrebbe superare i 4,5 trilioni di dollari e che, per il 2040, in cui si calcola che la popolazione anziana sarà raddoppiata, la spesa sanitaria potrebbe arrivare a rappresentare più del 25% del GDP.

Il modo migliore per tutelare l'economia del nostro sistema sanitario e, più in generale, delle spese sanitarie globali, è quello di sviluppare trattamenti efficaci per le malattie più onerose, quali diabete, patologie neurodegenerative, patologie cardiovascolari e patologie dell'apparato muscoloscheletrico. I potenziali benefici della Medicina Rigenerativa sono enormi, considerato che ogni anno, solamente negli Stati Uniti, 250.000 pazienti sono operati per patologie valvolari cardiache, 900.000 persone muoiono per cardiopatie, compreso l'infarto miocardio, 16 milioni di diabetici risultano in

terapia sostitutiva, 5,5 milioni di persone soffrono di patologie neurodegenerative e altrettanti pazienti necessitano innesti di tessuto muscoloscheletrico.

Un confronto di incidenza di alcune patologie degenerative in USA ed in Italia è indicato in Tabella 1. La tabella 2 indica l'incidenza di alcune patologie croniche in Italia.

TABELLA 1. Incidenza di alcune patologie degenerative in USA ed in Italia

MALATTIE	NUMERO PERSONE AFFETTE IN MILIONI	
	USA	ITALIA
CARDIOVASCOLARI	58	9,5
DIABETE	16	2,1
OSTEOPOROSI	10	2,2
ALZHEIMER	4	0,5
PARKINSON	1,5	0,033
CONGENITE	0,15 PER ANNO	0,016 PER ANNO
TOTALE	97,85	14,85

TABELLA 2. Incidenza di alcune patologie croniche in Italia

MALATTIE CRONICHE	N° PERSONE AFFETTE IN MILIONI
DIABETE	2,15
CATARATTA	0,58
INFARTO MIOCARDICO	0,87
ANGINA PECTORIS	0,64
ALTRE PATOLOGIE CARDIACHE	2,08
ICTUS CEREBRI	0,52
BRONCHITE CRONICA	2,72
ASMA BRONCHIALE	1,68
ARTROSI, ARTRITE	10,90
OSTEOPOROSI	2,20
ULCERA	2,15
CIRROSI EPATICA	0,17
CANCRO	0,52
DISTURBI NERVOSI	1,57
PARALISI	0,46
TOTALE	29,21 PARI AL 51% della popolazione

La Medicina Rigenerativa rappresenta il futuro degli approcci terapeutici, in quanto è grado di impiegare cellule, o tessuti viventi, per curare i meccanismi patologici alla base delle malattie. Molte delle patologie croniche che affliggono la popolazione potrebbero essere curate grazie a trapianti cellulari. Un sistema sanitario più sostenibile ed efficiente è dunque realizzabile grazie a questa scienza; tuttavia, affinché tale pressante necessità possa essere soddisfatta, c'è bisogno oggi di

una strategia condivisa a livello nazionale, in grado di armonizzare il lavoro di ricercatori, industrie, investitori ed agenzie predisposte alla regolamentazione dei medicinali ad uso umano.

Uno dei maggiori problemi che la Medicina Rigenerativa si trova a dover affrontare è altresì rappresentato dalla regolamentazione riguardante i prodotti medicinali. Di frequente, infatti, i prodotti proposti sono talmente innovativi da rendere difficoltoso per il legislatore esprimere parere al riguardo, non potendo lo stesso trovare, nella normativa già in vigore, supporto alla propria decisione. Ruolo chiave della infrastruttura è rappresentato anche dalla possibilità di dialogare con i soggetti preposti alla regolamentazione della specifica materia, in modo da poter identificare il corretto iter di sviluppo che un prodotto innovativo debba seguire prima di essere commercializzato, nel rigoroso rispetto delle normative.

La strategia di creare a livello locale infrastrutture di Medicina Rigenerativa, che forniscano una forte attività di coordinamento per sviluppare dialoghi creativi tra industrie, centri di ricerca ed Autorità è già stata recepita e condivisa da diversi Stati all'avanguardia in questo settore. Tra le iniziative più importanti a livello globale, vale la pena citare:

- A) Alliance for Regenerative Medicine (ARM): fondata a Washington DC nel 2009, è il più grande e potente consorzio di stakeholders degli Stati Uniti. L'ARM è oggi composta da 110 membri provenienti da diversi ambiti, come Università, industria, governo, investitori, avvocati, medici e consumatori. La funzione principale dell'ARM è quella di promuovere un dialogo a livello governativo, affinché vengano intraprese iniziative per la regolamentazione delle nuove terapie per la rigenerazione tissutale.
- B) California Institute for Regenerative Medicine (CIRM): infrastruttura composta da Università, industrie, centri di ricerca ed enti che erogano fondi. Nel primo anno della sua attività (2011-2012), il CIRM ha distribuito 1,1 miliardi dollari in borse di studio e fondi per la ricerca, creando 25,000 nuovi posti di lavoro e un rientro in sole tasse di 200 milioni di dollari. Inoltre, la sua attività, sta imponendo la California come uno degli Stati leader della Medicina Rigenerativa a livello mondiale, ed ha contribuito considerevolmente ad incrementare il fatturato Statunitense relativo ai prodotti di ingegneria tissutale, da 1,5 miliardi di dollari nel 2007 a 3,5 miliardi nel 2011.
- C) REBIRTH: è il cluster Tedesco di eccellenza scientifica nel campo della Medicina Rigenerativa. La sua missione è molto simile a quella descritta per l'IRMI nel capitolo "Funzioni della infrastruttura nel coordinamento delle attività". Dal 2007 le strutture afferenti al cluster REBIRTH hanno pubblicato più di 120 articoli, di cui una trentina su giornali molto autorevoli, quali Nature e Science. Ogni anno REBIRTH attiva più di 15 borse di Dottorato, contribuisce alla apertura di almeno 3 spin-off, garantisce l'attribuzione di brevetti, partecipa attivamente a bandi Europei ed organizza almeno 40 giornate formative tra congressi e seminari.
- D) Kobe Biomedical Innovation Center: è il cluster di eccellenza Giapponese per lo sviluppo delle scienze biomediche del futuro. Creato nel 1999 su un'intera isola nel distretto di Kobe, i suoi obiettivi principali sono quelli di convogliare e promuovere la ricerca sulle terapie del futuro –modello Hub&Spoke–, con un particolare riguardo rispetto lo sviluppo nazionale di nuove industrie nel campo della medicina rigenerativa. Il centro biomedico di Kobe include oggi più di 15 centri di ricerca e ospedali che coprono tutte le fasi dello sviluppo di prodotti di ingegneria tissutale, dal prelievo e processazione di tessuti, alla ricerca di base, fino al letto del malato (clinical trials). Grazie al Kobe Biomedical Innovation Center, durante la prima decade della sua attività più di 200 nuove realtà, industrie e spin-off, hanno cominciato la loro produzione, generando un fatturato che ammontava a 1 miliardo di dollari nel 2010 ed è previsto superare i 2 miliardi entro il 2015.

Attualmente, in Italia, non esiste alcuna strategia nazionale volta all'armonizzazione delle molteplici discipline che sottendono la medicina rigenerativa, né alla promozione della stessa sul territorio. Di conseguenza, nonostante si stimi che nel solo continente Europeo il giro di affari del settore nei prossimi 3 anni ammonterà a circa 5 miliardi di dollari (cfr. SECONDA PARTE capitolo "Ricadute economiche dei risultati attesi"), vi sono ad oggi pochissime industrie specializzate in materia sul suolo italiano e vi è scarso interesse alla creazione di nuovi spin-off e PMI. A livello nazionale appare, dunque, necessario sviluppare un coordinamento che supporti le potenzialità di ricerca, verifichi le applicazioni assistenziali e favorisca l'attuazione di appropriate tecnologie in armonia con le normative nazionali ed europee.

Infatti, come è stato dimostrato nell'ultimo decennio a livello globale, per far proliferare economicamente discipline estremamente complesse dal punto di vista scientifico e regolamentale, come la Medicina Rigenerativa, è necessario sviluppare una strategia condivisa che preveda una struttura in grado sia di coordinare i numerosi *stakeholders* di differenti

estrazioni, sia di interfacciarsi con gli enti regolatori. In pratica, **senza un’infrastruttura di supporto, non è possibile restare al passo con il mercato internazionale della Medicina Rigenerativa**, sempre più competitivo e specializzato.

In questo contesto, l’IRMI potrà rappresentare la concretizzazione di tale fondamentale strategia nazionale, rispondendo alla necessità di armonizzare le esigenze di industrie, centri di ricerca, investitori ed enti regolatori, creando di fatto l’*humus* per l’insediamento di piccole e medie imprese e di attività imprenditoriali fortemente innovative (start-up, spin-off), operanti nel più importante settore emergente della medicina del futuro. Grazie all’IRMI, le imprese Italiane potranno avvalersi di una infrastruttura unica ed indispensabile, che fornirà loro gli strumenti necessari per:

- A) accedere alle conoscenze e alle tecnologie più all’avanguardia;
- B) tutelare con brevetti le nuove formulazioni,
- C) trovare partners che partecipino congiuntamente a progetti di sviluppo, o bandi di ricerca nazionali ed Europei (Horizon 2020);
- D) dialogare con le autorità competenti per conoscere a priori i corretti iter di sviluppo dei nuovi prodotti per terapie avanzate;
- E) far conoscere i propri prodotti a livello internazionale.

L’attività dell’IRMI sarà altresì coerente con l’orientamento strategico degli istituti di ricerca (gli altri proponenti e partecipanti al progetto), volti all’accrescimento delle conoscenze di base ed all’individuazione di nuove metodologie in grado di permettere, attraverso applicazioni future, ulteriori e più agevoli sviluppi delle conoscenze necessarie per la traslazione alla clinica dei prodotti di medicina rigenerativa.

Meeting National strategy needs

Nowadays the majority of therapeutic cares are symptomatic, that is they are aimed at slowing down the progression of the pathology; as a matter of fact, in both cases the disease becomes more chronic. The result is a health national system burdened by costly treatments, with few concrete solutions to limit the increase of costs bound to the ageing of the population and to the increase of the number of patients. In the US, the expenditure for healthcare cures counted 2.2 trillion dollars in 2006 (16% of the GDP) and has been increasing until 3.6 trillion in 2011, a 1.6 times increase. Statistical data predict in 2016 healthcare expenditure could exceed 4.5 trillion dollars and by 2040, when the eldest population will be doubled, healthcare costs could represent more than the 25% of the GDP.

The best way to defend the economy of our healthcare system and, more generally, of global healthcare expenditure, is to develop efficacy treatment for the most costly diseases, such as diabetes, neurodegenerative pathologies, cardiovascular and musculoskeletal system pathologies. The potential benefits for regenerative medicine are enormous, considering every year, only in the US, 250.000 patients have operations for cardiac valve, 900.000 persons die for cardiopathy, myocardium infarct included, 16 million diabetics come out in substitutive therapy, 5,5 million people suffer from neurodegenerative pathologies and the same number needs musculoskeletal tissue grafting.

A comparison between USA and Italy within the incidence of some of degenerative pathologies is provided with table 1. Table 2 points the incidence of some chronic diseases in Italy.

TABLE 1. Incidence of some degenerative diseases in USA and Italy

DISEASE	NUMBER OF PEOPLE AFFECTED IN MILLION	
	USA	ITALY
CARDIOVASCULAR	58	9,5
DIABETES	16	2,1
OSTEOPOROSIS	10	2,2
ALZHEIMER	4	0,5

<i>PARKINSON</i>	<i>1,5</i>	<i>0,033</i>
<i>CONGENITAL</i>	<i>0,15 PER ANNO</i>	<i>0,016 PER ANNO</i>
<i>TOTAL</i>	<i>97,85</i>	<i>14,85</i>

TABLE 2. Incidence of some chronic pathologies in Italy.

<i>CHRONIC DISEASES</i>	<i>N° PEOPLE AFFECTED IN MILLION</i>
<i>DIABETES</i>	<i>2,15</i>
<i>CATARACT</i>	<i>0,58</i>
<i>MYOCARDIUM INFARCT</i>	<i>0,87</i>
<i>ANGINA PECTORIS</i>	<i>0,64</i>
<i>OTHER CARDIAC PATHOLOGIES</i>	<i>2,08</i>
<i>ICTUS CEREBRI</i>	<i>0,52</i>
<i>CHRONIC BRONCHITIS</i>	<i>2,72</i>
<i>BRONCHIAL ASTHMA</i>	<i>1,68</i>
<i>ARTROSIS, ARTRITIS</i>	<i>10,90</i>
<i>OSTEOPOROSIS</i>	<i>2,20</i>
<i>ULCER</i>	<i>2,15</i>
<i>HEPATIC CYRRHOSIS</i>	<i>0,17</i>
<i>CANCER</i>	<i>0,52</i>
<i>NERVOUS DISEASES</i>	<i>1,57</i>
<i>PARALYSIS</i>	<i>0,46</i>
<i>TOTAL</i>	<i>29,21 EQUAL TO 51% OF THE POPULATION</i>

Nowadays regenerative medicine represents the future of therapeutic approaches, since it is able to use cells or living tissues to cure pathologic mechanisms which are the basis of diseases. Lots of chronic diseases affecting the population can be cured by cell transplants. A healthcare system which is more sustainable and efficient is therefore feasible thanks to this new science; anyway, as this urgent need to be met, a national shared strategy is required, able to harmonize researchers', investors' and agencies' work with a clear openness to medicinal for human use.

One of the main problems Regenerative Medicine has to face is therefore represented by legislative framework and compliances regulating medicinal products. Frequently, the proposed products are so innovative to create difficulties to the legislator that expressing an opinion becomes extremely hard, since within the legislative framework in force is more than difficult to find support to any decision. A key role for the infrastructure is represented by the possibility to have a dialogue with the referent persons for the regarded legislation in the specific matter, as to identify the correct pathway for the development of an innovative product fully respecting the legislation in force.

The strategy to create locally infrastructures for Regenerative Medicine, that may provide a strong coordinating activity to develop creative dialogues between industries, research centers and Authorities has already been received and shared by several States within the sector. Among the most important global initiatives, the following is kindly underlined:

A) Alliance for regenerative Medicine (ARM): founded in Washington DC in 2009, it is the biggest and the most powerful stakeholders' consortium in the USA. ARM counts nowadays on 110 members from different sectors, like Universities, industry, government, investors, lawyers, practitioners and consumers. ARM main scope is to promote a dialogue at governmental level to undertake initiatives for the regulation of new therapies for tissutal regeneration.

B) California Institute for regenerative Medicine (CIRM): infrastructure composed by Universities, industries, research centers and entities which provide grants and funds. During the first year of activities (2011-2012), CIRM has provided 1.1 billion dollar by scholarships and funds for research, creating 25.000 new workplace and tax remittance worthing 200 million dollars. Therefore, in its activity, CIRM is imposing Californian government as one of the leader States within the Regenerative Medicine sector and considerably contributing to increase US tissutal engineer turnover and products-related, from 1.5 billion dollar in 2007 to 3.5 billion dollar in 2011.

C) REBIRTH: it is the German cluster well renowned for its scientific excellence level within the field of regenerative medicine. Its mission is really close to IRMI ones, as described in 3.1 chapter. Since 2007 the structures linked to REBIRTH cluster has published more than 120 articles, with which more than 30 on prestigious journals such as Nature and Science. Each year REBIRTH launches more than 15 scholarships, contributes to the opening of spin-off (3 at the least), grants the filing of patents, actively participates to European grants and organizes training events such as congresses and seminars.

D) Kobe Biomedical Innovation Center: it is the Japanese cluster renowned for its scientific excellence level within the field of regenerative medicine and for the development of biomedical science of the future. Created in 1999 on a whole island within the Kobe district, its main scopes are to collect and promote research towards the therapies of the future – following Hub&Spoke model – with particular respect to national development of new industries within the field of regenerative medicine. The biomedical centers in Kobe includes nowadays more than 15 research centers and hospitals and covers all the tissutal engineering products development and manufacture stages, from the drawing to the processing, basic research, until patients' bed (clinical trials). Thanks to Kobe Biomedical Innovation Center, during the first decade of its activity more than 200 newco have been created and started their business activities generating approximately 1 billion dollar turnover in 2010, expecting to exceed 2 billion by 2015.

Nowadays in Italy no strategy has been created to harmonize multiple disciplines linked to regenerative medicine, nor for the promotion of the same on the territory. Consequently, notwithstanding the business deals in Europe can be estimated worthing approximately around 5 billion dollars (please see above for “economic benefits and advantages”), there are few companies specialized within the field and scarce interest for the creation of spin-off and SME. At a National level, it is evident the need to develop a coordination supporting the potentiality of research, evaluating the essential applications and easing the implementation of appropriate technologies in compliances with national and European regulation and legislative frameworks.

Infact, as shown globally during the last decade, to set the basis for economical proliferation of extremely complex disciplines by scientific and regulatory standpoints, like regenerative Medicine, is necessary to develop a shared strategy that predicts a structure able to coordinate the numerous and different stakeholders, and to interface and interact with regulatory bodies. Practically speaking, without a supporting infrastructure, it is not possible to face Regenerative Medicine international market, which is often more competitive and specialized.

Within this context, IRMI could represent the concretization of a fundamental national strategy, meeting the need to harmonize industry, research centers, investors and regulatory bodies exigencies, creating - as a matter of fact – the homes for the setting up of SMEs and innovative oriented business activities, operating in the most important and emerging sector of medicine sciences of the future. Thanks to IRMI, Italian companies could count on a unique infrastructure, which will give back the necessary tools to:

- A) Enter and share knowledge, technology and avanguardia programs;*
- B) Protect with patents new formulations;*

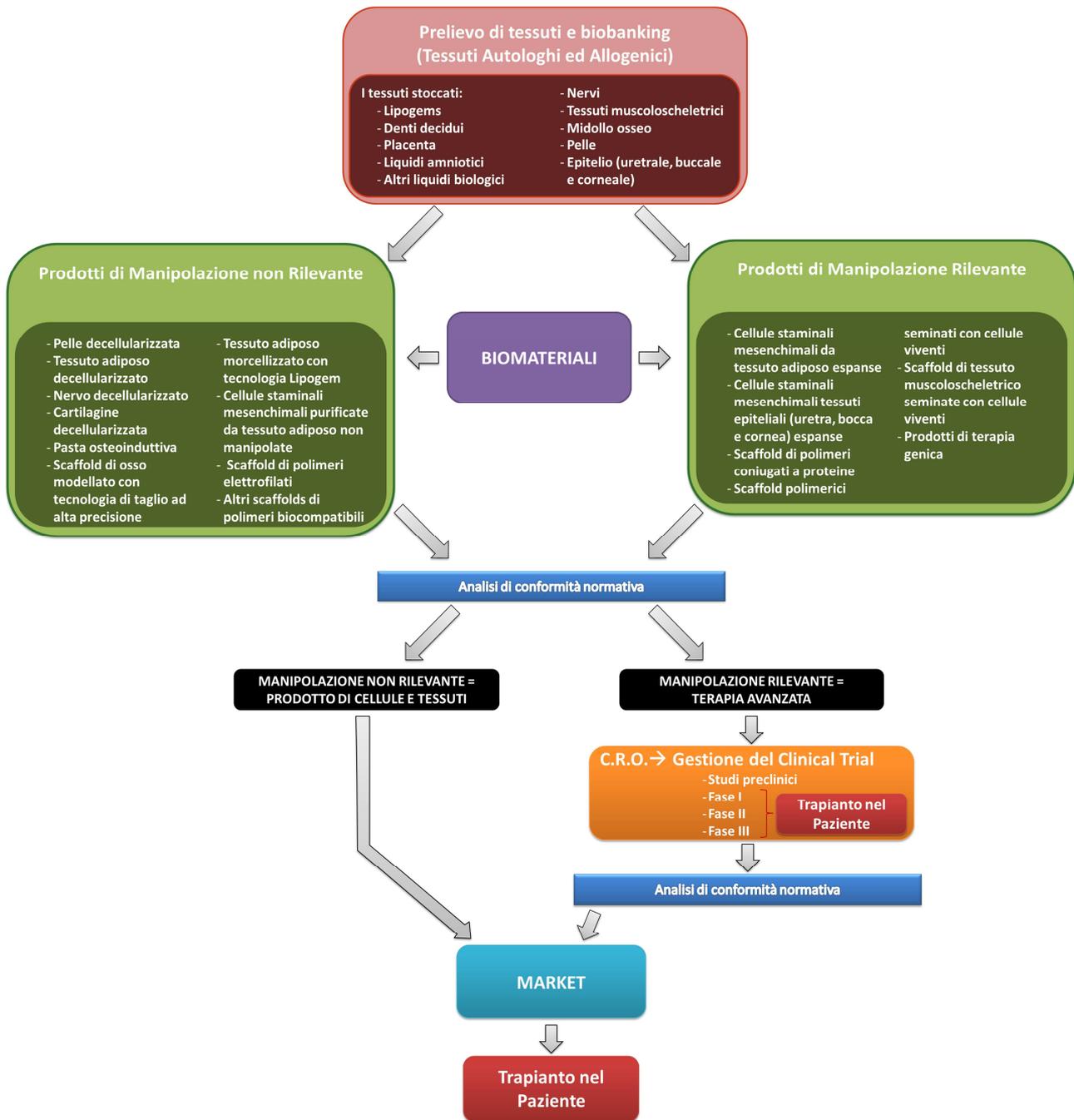
- C) Find partners able to join development projects and programs, funds or grants (Horizon 2020);*
- D) Dialogue with regulatory body to know development pathways for new products on/and advanced therapies;*
- E) Let know products internationally.*

IRMI activity will be as well coherent with the strategic trend of research institution (the other participants involved in the project), all voted to the increase of basic knowledge and to the identification of new methodologies to allow, by using future applications, additional and more agile development benefitting and transferring to clinic stage of regenerative medicine products.

3.3) Supportare ogni fase di ricerca e sviluppo

Obiettivo organizzativo dell'IRMI è quello di supportare e, dunque, agevolare, ogni fase del processo di sviluppo dei nuovi prodotti per Medicina Rigenerativa: dal prelievo e stoccaggio dei tessuti, fino all'impianto dei medesimi nel malato, includendo altresì la gestione dei *clinical trial* eventualmente necessari ai fini del loro impiego.

Fig. 2: flusso delle attività di sviluppo che verrà garantito dall'IRMI



La concreta fattibilità di tale ambizioso progetto verrà assicurata dalla presenza, all'interno dell'IRMI, di aziende ed enti di ricerca leader su territorio nazionale e, quindi, dall'interscambio e dalla concertazione delle loro elevate competenze concernenti progettazione, descrizione, sviluppo ed adozione in clinica di nuovi prodotti per terapie avanzate.

Questa strategia, non solo assicurerà che il prodotto venga messo a punto e controllato dai massimi esperti italiani nei settori di riferimento, ma creerà una rete di collaborazioni che darà il via ad un processo di *smart specialization* in un campo in cui, ad oggi, vige un “individualismo scientifico”, che porta sovente i singoli operatori a dover ripetere *ex novo* i medesimi studi già compiuti da altri, in quanto non condivisi e dunque non fruibili.

La convergenza e condivisione di informazioni, studi e tecnologie, garantiranno:

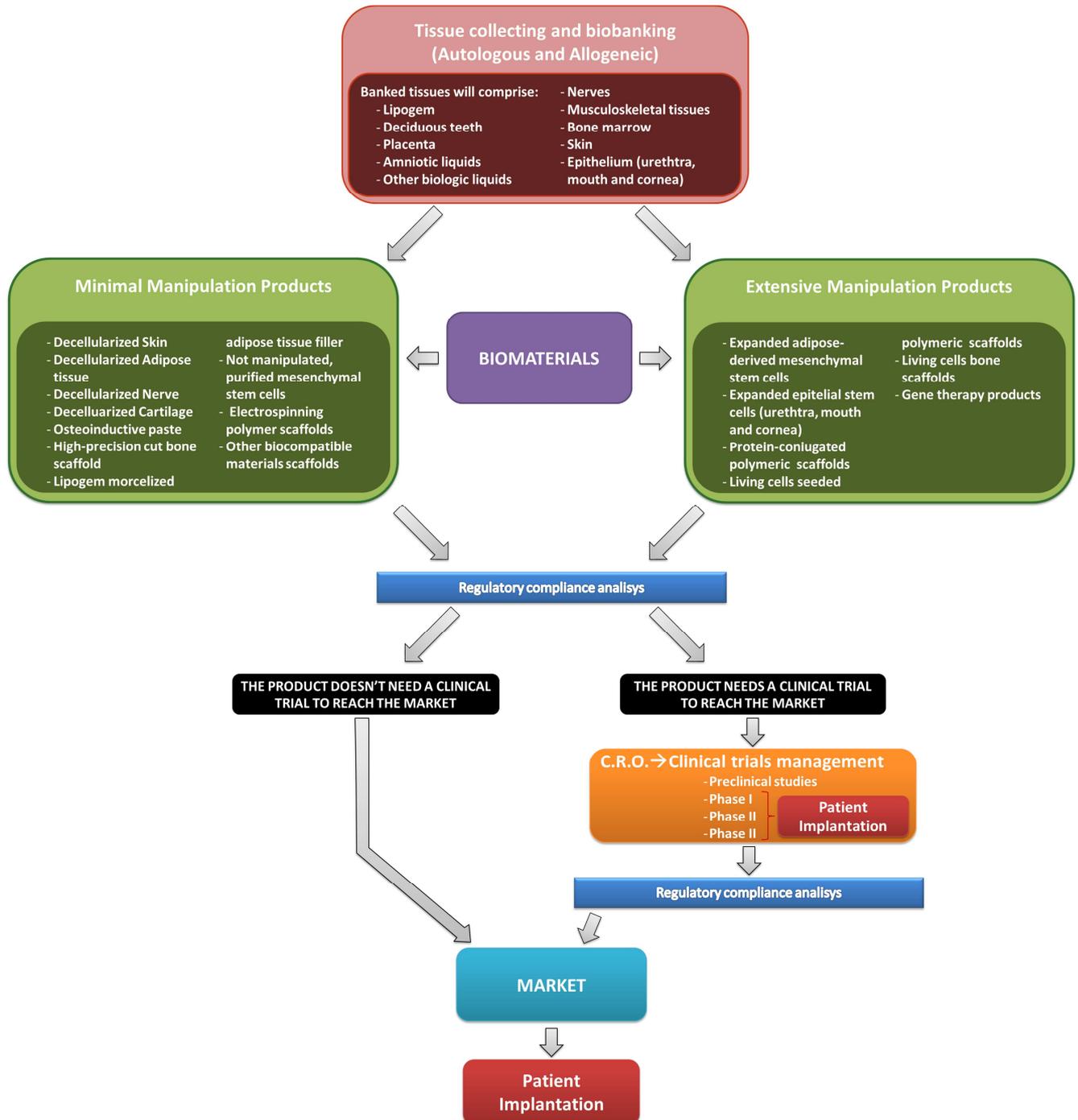
- lo sviluppo di prodotti più sicuri;
- una maggiore celerità nello sviluppo dei prodotti;
- un più accurato studio dei processi biologici che sottendono la rigenerazione dei tessuti, soprattutto grazie al supporto degli enti di ricerca;
- una minore dispersione delle risorse economiche provenienti dai finanziamenti e dai bandi di ricerca, che non verranno frammentate per progetti di sviluppo localizzati, ma incanalate in un processo omogeneo dove ogni partner convergerà la propria esperienza per arrivare allo sviluppo di prodotti ad altissimo carattere innovativo;
- una migliore e più cosciente assistenza al malato
- una maggior credibilità anche nei confronti delle competenti Autorità;

Per quanto riguarda la suddivisione del lavoro tra i partners e l’organizzazione interna del consorzio, si rimanda al capitolo 8.1.

3.3) Supporting each Research and Development stage

IRMI Organizational purpose is to support and ease each stage of Research and Development of new regenerative medicine products: from the drawing to tissutal storage, until the implantation of the same on the patient, including the management of clinical trials (in the necessary case).

Fig. 2: flow of the development activities granted by IRMI



The concrete feasibility of such an ambitious project shall be granted by the presence – within IRM infrastructure – of leader companies and research bodies at national level, therefore, by the interchange and the coercitive power of their strong competencies concerning projecting, managing, drafting, developing and performing clinical and new products for advanced therapies.

Not only did this strategy ensure the product to be realized and controlled by the maximum Italian experts within the reference sectors but even create a collaboration network that shall give the start to a smart specialization process within a field where nowadays a “scientific individualism” only rules and which often leads operators to repeat the same studies – already performed by others but now known because of the non-shareability and the non-usability of information.

The convergence and the shareability of information, studies and technologies, shall grant:

- *The development of more secure and safer products;*
- *Speeder processes in product development;*
- *More accurate studies of biological processes for the regeneration of tissues, especially thanks to research bodies support;*
- *minor loss of economical resources deriving from research funds and grants, since it will not be fragmented for/by local projects, on the contrary it will be driven towards an homogeneous process where each partner can share experience to reach outcomes and develop innovative products;*
- *Better and more conscious assistance to patients*
- *Bigger trustability even in front of competent authorities.*

With regards to subdivision of labor between the participants partners and the internal organization of the consortium topics, please see chapter 8.1.

3.4) Prodotti di medicina rigenerativa progetti di ricerca e sviluppo proposti nell’ambito del progetto

Si rimanda al capitolo 8.1 e 8.2.

3.4 Regenerative medicine products and research projects proposed within the project

Please see chapters 8.1 and 8.2

3.5) Formazione di nuove figure professionali

Una delle priorità dell’IRMI è quella di organizzare corsi specifici attraverso i quali formare specialisti in medicina rigenerativa, capaci di gestire le diverse fasi di lavorazione, ponendo particolare attenzione a quelli che sono gli aspetti regolatori, di qualità e di tracciabilità delle operazioni svolte. I corsi formativi sono riservati a studenti universitari e a neolaureati sia magistrali sia triennali provenienti da indirizzi biologici, chimici, medici e sanitari.

I corsi formativi hanno come proposito quello di generare le nuove figure professionali della medicina rigenerativa; soggetti con solide basi scientifico-mediche indirizzati alla conoscenza approfondita della gestione del processo rigenerativo sia dal punto di vista della manipolazione dei tessuti, sia dal punto di vista normativo.

Verranno organizzati corsi per la formazione di:

- 10 Specialisti per il prelievo di tessuti umani (2 corsi nel triennio da 5 posti)
- 20 Tecnici specializzati nel Banking di tessuti e cellule umane (2 corsi nel triennio da 10 posti)
- 10 Tecnici per la manipolazione dei tessuti (2 corsi nel triennio da 5 posti)
- 20 Specialisti per la realizzazione di prodotti per terapie avanzate (2 corsi nel triennio da 10 posti)
- 10 Professionisti nell’attività di ricerca clinica (1 corso nel triennio da 10 posti)
- 8 Specialisti nella gestione del controllo qualità e nell’applicazione delle normative (2 corsi da 4 posti)
- 40 specialisti in processi assistenziali e di comunicazione per la medicina rigenerativa (2 corsi nel triennio da 20 posti)

I corsi istituiti dall’IRMI prevedono nel triennio la formazione di 118 nuovi specialisti che saranno assorbiti nel corso del triennio dai partner afferenti all’infrastruttura, sottolineando la scarsità di personale adeguatamente formato alla medicina rigenerativa. Le nostre previsioni mostrano una rapida espansione del settore, con una concomitante crescente

richiesta di operatori qualificati, su queste basi l'IRMI potrebbe rivelarsi centro di specializzazione d'eccellenza nel campo della medicina rigenerativa, specializzandosi anche nella formazione Universitaria grazie alla partnership con molti atenei Italiani e alle collaborazioni con Università estere.

Ogni corso avrà come obiettivo finale la specializzazione in un ambito preciso, tuttavia data la natura multidisciplinare della medicina rigenerativa ad ogni operatore del settore verranno fornite le conoscenze necessarie per poter interagire in modo prolifico con tutti gli altri operatori coinvolti nel processo rigenerativo.

I corsi prevedono inoltre un periodo di formazione presso istituti e aziende estere, tra cui:

- Alcune delle più importanti Banche di Tessuto Americane come Lifenet Health, Allosource, Regeneration Technologies e Axogen.
- Gruppi di ricerca di Miami coordinati dal Prof. Camillo Ricordi
- Department of Biomedicine and Department of Surgery, University Hospital Basel, Basel, Svizzera.
- Department of Dermatology, Paracelsus Private Medical University, Salzburg, Austria
- Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Germania
- University of Jordan, Amman, Giordania
- University of Ulster, Belfast, Irlanda
- Center for Regenerative Medicine and Stem Cell Biology, University of Colorado, Denver, USA
- Kimmel Cancer Center, Thomas Jefferson University, Philadelphia PA, USA
- Linköping University, Linköping, Svezia
- LOEX, Laboratoire d'Organogénèse Experimentale, Laval University, Quebec city, Canada
- MLL Munich Leukemia Laboratory GmbH, Munich, 81377, Germania
- Ophthalmology Research Laboratories, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, USA.

3.5) Training of new professional figures

One of IRMI priority is to set specific courses that shall be useful to train professionals within the field of regenerative medicine, able to manage the different working stages, posing the right attention to regulatory, quality and traceability of the operation implemented aspects. Professional training courses are reserved to university students and fresh graduates coming from biological, chemical, medicine and sanitary curricula.

The training courses shall provide new professional figures for regenerative medicine; professionals with solid scientific and practitioner's basis voted to deep knowledge of regenerative process management both by tissues manipulation and regulatory standpoints.

IRMI shall set training courses that shall be performed - during the three year long university period courses – aimed at the following:

- 10 specialized figures for human tissues drawing (2 courses for 5 places each);
- 20 technicians for tissues and human cells banking (2 courses for 10 places each);
- 10 technicians for tissues manipulation (2 courses for 5 places each);
- 20 specialized figures for the implementation of advanced therapies products (2 courses for 10 places each);
- 10 professionals specialized in clinical research (1 course for 10 places each);
- 8 specialized figures in quality and control management and the regulation implementation (2 courses for 10 places each).
- 40 specialists in care processes and communications for regenerative medicine (2 courses in the three years up to 20 persons)

The courses set by IRMI expect during the three year university period the training of 118 new specialists that shall be absorbed and hired during and at the end of their study period by the participant partners, underlining with that the shortage of personnel adequately trained on regenerative medicine topics. Our predictions show a rapid expansion within

the sector, with a parallel grow and request of qualified personnel; based upon these assumptions, IRMI could reveal also as an excellence specialization center within the field of regenerative medicine, specializing also within the field of university training thanks to existing partnerships with Italian Faculties and Universities abroad.

Each course shall have as final aim a specialization within a precise ambit, in any case, provided the multidisciplinary nature of regenerative medicine, each operator shall be granted the necessary knowledge to be able to interact in the best way with all the other operators involved in the regenerating process.

The courses expect a training period abroad nearby institutes and companies within which:

- Lifenet Health, Allosource, Regeneration Technologies e Axogen - one of the most important American Tissue Bank*
- Research groups in Miami (Florida) under the coordination of Prof. Camillo Ricordi*
- Department of Biomedicine and Department of Surgery, University Hospital Basel, Basel, Switzerland*
- Department of Dermatology, Paracelsus Private Medical University, Salzburg, Austria*
- Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Germany*
- University of Ulster, Belfast, Ireland*
- Center for Regenerative Medicine and Stem Cell Biology, University of Colorado, Denver, USA*
- Kimmel Cancer Center, Thomas Jefferson University, Philadelphia PA, USA*
- Linköping University, Linköping, Sweden*
- LOEX, Laboratoire d'Organogenèse Experimentale, Laval University, Quebec City, Canada*
- MLL Munich Leukemia Laboratory GmbH, Munich, 81377, Germany*
- Ophthalmology Research Laboratories, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, USA.*

4) DURATA (IN MESI) E DATA DI INIZIO DEL PROGETTO

Il progetto avrà una durata di 3 anni (36 mesi) con inizio indicativo entro il 01/06/2013, compatibilmente con il decreto di concessione del finanziamento.

5) LUOGHI DI SVOLGIMENTO DEL PROGETTO

- Laboratorio PROMETEO - Banca del Tessuto Muscoloscheletrico
Istituto Ortopedico Rizzoli
Via G.C. Pupilli 1
40126 Bologna - Italia

- OSPEDALE NIGUARDA MILANO
S.S. Terapia Tissutale
Centro di Riferimento Regionale per la coltura di epidermide
umana in vitro e banca per la crioconservazione dei tessuti
A.O. Ospedale Niguarda Ca' Granda
Piazza dell'ospedale maggiore, 3
20162 Milano- Italia

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

Scuola Di Specializzazione In Chirurgia Plastica Ricostruttiva Ed Estetica – Università' Degli Studi Di Milano
Ospedale San Giuseppe
Via San Vittore 26 – 20123 Milano
0224209683 – Graziella.Nichetti@Multimedica

- CIRI-SDV, University of Bologna
Via Tolara di Sopra, 50-
40064 Ozzano dell'Emilia (BO)
- CMR/CIDSTEM – Modena
Via Gottardi, 100
Modena
- MARIA PIA HOSPITAL del GVM care & research (in breve GVM), con sede in Corso Giuseppe Garibaldi,
11, Ravenna (Emilia Romagna)
- CBM-Università di Torino
Via Nizza, 52
Torino
- Politecnico di Torino
Dipartimento di Ingegneria Meccanica ed Aerospaziale,

Corso Duca degli Abruzzi, 24

Torino

- ATgrade Via Petrarca 4, Milano
- IGEA S.p.A. Via Parmenide, 10/A 41012 Carpi (MO) Italy
- MANATEE Srl, con sede in via Santa Maria alla Porta 9, Milano (Lombardia)
- Chiesi FARMACEUTICI Spa, con sede in Via Palermo, 26/A, Parma (Emilia Romagna)
- GENOMNIA srl, based in Via Nerviano 31b, Lainate and Via Don melillo, snc Italy
- CNR, Institute of Cell Biology and Neurobiology, Campus Internazionale "A. Buzzati-Traverso", Via E. Ramarini, 32 - 00015 Monterotondo Scalo Roma Rome
- AB MEDICA SPA headquarters in Via Nerviano 31b, Lainate
- CNR, Institute of Genetics and Biophysics "A. Buzzati-Traverso ", Via Pietro Castellino 111 , Napoli
- AB TREMILAGmbH headquarters in via Nerviano 31b, Lainate e in via Bonetti 88-89, Rome
- AB MEDICA SPA sede di via Nerviano 31b, Lainate

4) DURATION (IN MONTHS) AND STARTING DATA OF THE PROJECT

The project shall have a duration of 3 years (36 months) with starting date on the 1st of June 2013, following any contingent funding authorization concession communication or/and decree.

5) VENUES OF THE PROJECT

- Laboratorio PROMETEO (PROMETEO Laboratory) – Musculoskeletal Tissue Bank
Istituto Ortopedico Rizzoli
Via G.C. Pupilli 1
40126 Bologna - Italy
- OSPEDALE NIGUARDA MILANO (Niguarda Hospital Milan)
SS Tissutal Therapy
Regional Reference center for in vitro culture of human epidermis and Bank for tissues cryoconservation
A.O. Ospedale Niguarda Ca' Granda
Piazza dell'ospedale maggiore, 3
20162 Milan - Italy
- UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO
School of Specialization in Reconstructive and Aesthetic Plastic Surgery -
Universita 'Degli Studi Di Milano
St. Joseph Hospital
Via San Vittore 26-20123 Milan
0224209683 - Graziella.Nichetti @ Multimedica

- CIRI-SDV, University of Bologna
Via Tolara di Sopra, 50-
40064 Ozzano dell'Emilia (BO)
- CMR/CIDSTEM – Modena
Via Gottardi, 100
Modena
- Maria Pia Hospital del GVM care & research (in breve GVM), con sede in Corso Giuseppe Garibaldi, 11,
Ravenna (Emilia Romagna)
- CBM University of Turin
Via Nizza, 52
Torino
- Politecnico di Torino
Dipartimento di Ingegneria Meccanica ed Aerospaziale,
Corso Duca degli Abruzzi, 24
Torino
- ATgrade Via Petrarca 4, Milano
- IGEA S.p.A. Via Parmenide, 10/A 41012 Carpi (MO) Italy
- MANATEE Srl, con sede in via Santa Maria alla Porta 9, Milano (Lombardia)
- Chiesi FARMACEUTICI Spa, con sede in Via Palermo, 26/A, Parma (Emilia Romagna)
- -GENOMNIA srl, based in Via Nerviano 31b, Lainate and Via Don melillo, snc Italy
- CNR, Institute of Cell Biology and Neurobiology, Campus Internazionale "A. Buzzati-Traverso", Via E. Ramarini, 32 - 00015 Monterotondo Scalo Roma Rome
- AB MEDICA SPA headquarters in Via Nerviano 31b, Lainate
- CNR, Institute of Genetics and Biophysics "A. Buzzati-Traverso ", Via Pietro Castellino 111 , Naples
- AB TREMILAGmbH headquarters in via Nerviano 31b, Lainate and via Bonetti 88-89, Rome

6) DESCRIZIONE DELLA COMPAGINE DEI PROPONENTI

AT GRADE

AT GRADE, nasce dall'esperienza acquisita dai soci fondatori nella realizzazione e gestione di laboratori farmaceutici per la processazione di tessuti umani e cellule e per la realizzazione di appositi supporti o scaffold allo scopo di creare presidi terapeutici avanzati nell'ambito dell'ingegneria tissutale. AT Grade gestisce laboratori di terapia cellulare per nome e conto delle banche di tessuti e cellule garantendo la produzione industriale in classe farmaceutica di presidi di terapia avanzata attraverso la fornitura di tecnologia, personale qualificato, servizi e consulenza per la certificazione GMP dei laboratori.

Il modello proposto è la cooperazione tra azienda privata e istituto pubblico nel pieno rispetto delle normative vigenti per la gestione dei processi produttivi di sistemi di terapia avanzata per applicazioni cliniche. Con la stipula di convenzioni specifiche fornisce all'Istituto Pubblico la gestione di laboratori di terapie avanzate garantendo il servizio di:

- Gestione delle materie prime utilizzate nella processazione
- Presa in carico dei campioni di tessuto da processare
- Processazione delle cellule (espansione, semina su scaffold, analisi) con personale altamente qualificato
- Logistica (trasporto biopsie e prodotti finiti)
- Gestione di impianti e macchinari da laboratorio
- Informazione medico-scientifica su tutto il territorio
- Fornitura di tecnologie e know-how altamente avanzati

L'evoluzione scientifica e clinica nella rigenerazione dei tessuti umani, ha spinto la società a stringere importanti collaborazioni con aziende e spin-off universitari italiani ed internazionali al fine di realizzare, tramite la ricerca, matrici biologiche atte a velocizzare i processi di riparazione dei tessuti. Tali matrici, realizzate con tessuti umani da donazione o di natura sintetica, sono impiegate come veicolo per la semina delle cellule espanse in laboratorio o separate con minima manipolazione al fine di intervenire in situ in applicazioni cliniche.

AT GRADE

AT GRADE has been started thanks to the acquired experience of the founding partners in the management and the implementation of pharmaceutical laboratories and specifically in the processation of human tissue and cells and the implementation of dedicated scaffold aimed at the creation of therapeutic advanced aids within the tissutal engineering ambit. At Grade contract manages cell therapies laboratories for tissutal and cell banks granting industrial preparation and manufacturing of advanced therapeutic aids within pharmaceutical grade by providing technology, qualified personnel, service and consultancy for the GMP laboratory compliances.

A proposed model is the cooperation between private companies and public institutions in full respect of the legislation in force for the management of manufacturing process for clinical application advanced therapy systems. Under the statements of dedicated agreements it provides public institutions the management of laboratories granting the following services:

- *Management of raw materials used within the processation*
- *Cure and care of tissue samples to being processed*
- *Processation of cells (expansion, seeding on scaffold, analysis) with high qualified personnel*
- *Logistics (biopsies transportation and finished products)*
- *Skid and laboratory machinery management*
- *Scientific and medical information on the whole territory*
- *High technology and Knowhow supplying*

The scientific and clinical evolution in the regeneration of human tissues has brought the company to sign important collaboration agreements with Italian and international companies and spin offs as to easily implement – upon research activities, biological matrixes to speed the tissue restoration processes. Such matrixes, obtained thanks to human tissues

donations or artificially, are used as vehicle for the seeding of expanded cells in laboratory or separated with minimal manipulation aiming at on site clinical application intervention.

Manatee Srl

L'attività di ricerca, sviluppo, produzione, l'industrializzazione ed il commercio, in conto proprio ed in conto terzi, di : tecnologia, procedure, prodotti e servizi in ambito di medicina e chirurgia rigenerativa, di medicina molecolare e cellulare anche mediante l'utilizzo di cellule staminali, della genetica e della diagnostica.

L'organizzazione, la promozione e l'aggiornamento di corsi di natura scientifica.

Manatee Srl è nata con lo scopo di realizzare sistemi e tecnologie per la rigenerazione biologica dei tessuti umani.

L'attività di ricerca, sviluppo e industrializzazione di tecnologie in ambito di chirurgia e medicina rigenerativa, ha portato la società a sviluppare differenti brevetti nella medicina molecolare e cellulare che si sono concretizzati nella realizzazione di sistemi per la processazione dei tessuti umani (es. tessuto adiposo) e nella separazione di cellule staminali mesenchimali.

Il know how e la ricerca scientifica sono gli elementi portanti che hanno permesso la realizzazione di progetti nazionali ed internazionali per il bancaggio dei tessuti nel pieno rispetto delle normative vigenti.

Il continuo aggiornamento scientifico e tecnologico pongono la società ad essere una realtà di spicco nel panorama biotecnologico internazionale.

La società collabora attivamente con importanti enti di ricerca e sviluppo nazionali ed internazionali per lo studio di tecnologie avanzate nella processazione di tessuti umani e cellule a scopo di trapianto e, più in generale, nell'ambito della Medicina e Chirurgia rigenerativa.

Manatee Srl

The activity of research, development, production, industrialization and marketing, on the own behalf and on the behalf of third parties of: Thechnology, procedures, products and services in the field of regenerative medicine and surgery, of molecular and cellular medicine with the use of stem cells, genetics and diagnostics.

The organization, the promotion and the updating of scientific courses.

Manatee Srl was born with the aim of manufacturing systems and technologies for biological human tissues' regeneration.

The activity of research, development and industrialization of technologies in the field of regenerative medicine and surgery leaded the Company to develop different patents concerning molecular and cellular medicine that have materialized in the manufacturing of human tissues' processing systems (i.e. Adipose Tissue processing) and in mesenchimal stem cells' separation.

The know how and the scientific research are the main elements that allowed the realization of national and international projects for human tissues' banking in full compliance of the regulations.

The continuous scientific and technological updating allow the company to be an important reality in the international biotechnology scenery.

The company is actively collaborating with important national and international R&D centers for the development of advanced technologies in human tissues and cells' processing for transplant, and in general, in the field of regenerative medicine and surgery.

Laboratorio PROMETEO IOR

Il Laboratorio Prometeo IOR si occupa di realizzare, gestire e coordinare attività di fabbricazione, ricerca e sviluppo dei prodotti per la medicina rigenerativa e di tissue engineering in ortopedia.

Fornire consulenza e formazione a livello regionale, nazionale, internazionale in medicina rigenerativa e ingegneria dei tessuti in chirurgia ortopedica e maxillo-facciale.

Il Laboratorio Prometeo IOR ha la seguente organizzazione:

Tissue factory: autorizzata CNT, ai sensi della Legge 91/99 è Banca di riferimento della Regione Emilia-Romagna per il tessuto muscolo-scheletrico, con il compito di raccogliere, validare, processare, confezionare, identificare, conservare e distribuire i tessuti prelevati, certificandone l' idoneità e la sicurezza. Fornisce, a scopo di impianto e/o trapianto, segmenti ossei, tendini e fasce, adeguatamente conservati, interi e/o lavorati, sottoposti a controllo microbiologico e provenienti da donatori dei quali è stata accertata l' idoneità, anamnestica e sierologica. La processazione del tessuto avviene in ambiente a contaminazione controllata di classe A. La BTM progetta e sviluppa nuovi prodotti tissutali, anche in collaborazione con aziende private nazionali o straniere. Collabora ai protocolli clinici di medicina rigenerativa, fornendo tessuti liofilizzati o demineralizzati da combinare a fattori di crescita.

Cell Factory: autorizzata AIFA, per la manipolazione cellulare estensiva in ambienti a contaminazione controllata di classe A; si occupa dell' isolamento, dell' espansione e del rilascio di condrociti autologhi e di cellule staminali mesenchimali, applicando le norme di Buona Fabbricazione. Si occupa di identificare e sviluppare fonti di cellule alternative rispetto a quelle attualmente in uso e nuovi biomateriali da utilizzare in combinazione con le cellule staminali per la rigenerazione dell' osso, della cartilagine, dei tendini. Partecipa alle sperimentazioni cliniche sviluppando e fornendo i prodotti per terapia cellulare.

Laboratorio di Controllo Qualità e Microbiologia: autorizzato AIFA, esegue in GMP i test in process e al rilascio dei prodotti di manipolazione cellulare estensiva, realizzati presso la Cell Factory. Esegue i controlli microbiologici dei tessuti della Banca delle Cellule e del Tessuto Muscolo-Scheletrico e offre servizi analitici di controllo microbiologico e di microbiologia clinica alle unità operative dell' Istituto Ortopedico Rizzoli. Esegue il controllo di qualità dei materiali in ingresso al magazzino GMP della Cell Factory. Partecipa alle sperimentazioni cliniche sviluppando e fornendo i controlli di qualità per i prodotti per terapia cellulare. Collabora con altre unità operative per l' esecuzione di studi e attività di ricerca.

Laboratorio per l' analisi e la caratterizzazione di tessuti o biomateriali ingegnerizzati: dedicato allo studio meccanico e biologico di nuovi materiali ' ibridi '. Si occupa della valutazione delle competenze meccaniche misurate con apposite macchine di prova in cui carichi e sollecitazioni vengono applicati secondo protocolli rigidamente normati. Si occupa inoltre della valutazione di specifiche caratteristiche dei sistemi biologici e delle interazioni con essi operate dai materiali.

Biobanche: conservazione di cellule e tessuti umani, in apparecchiature di crioconservazione convalidate, con monitoraggio della temperatura, gestione degli allarmi, programmi di manutenzione GMP compliance.

La Banca delle Cellule e del Tessuto Muscoloscheletrico, la Cell Factory ed il laboratorio di Controllo Qualità e Microbiologia sono certificati per il settore EA 37 per la "Progettazione ed erogazione di eventi formativi, stages, corsi a catalogo, convegni e giornate di studio". Offrono corsi formativi personalizzati; nell' ambito di collaborazioni specifiche, erogano corsi a catalogo concordati con il committente sui seguenti temi:

- implementazione e gestione di camere sterili;
- sviluppo di una struttura GMP compliance per manipolazione cellulare estensiva;
- sviluppo di sistemi qualità integrati ISO-GMP-Norme di settore;
- sviluppo e gestione di un laboratorio di controllo qualità;
- sviluppo e gestione di una banca di cellule e tessuti.

Medicina rigenerativa in chirurgia ortopedica: utilizzo di fattori di crescita, osso di banca a manipolazione non rilevante,, tessuti ingegnerizzati.

Il Laboratorio Prometeo IOR ricerca e sviluppa nuovi prodotti basati su :

- fonti di cellule alternative rispetto a quelle attualmente in uso;
- nuovi biomateriali da utilizzare in combinazione con le cellule staminali per la rigenerazione dell' osso, della cartilagine, dei tendini.

In coordinamento con le strutture di ricerca traslazionale clinica dello IOR e di altri Ospedali Italiani partecipa alle sperimentazioni cliniche sviluppando e fornendo i prodotti per terapia cellulare, i cui protocolli devono essere autorizzati dal comitato etico dell'ospedale sede della sperimentazione; dall'ISS (Istituto Superiore di Sanità). È in via di attivazione un gruppo di esperti dedicato al monitoraggio dei *trials* clinici che prevedono l'utilizzo di medicinali per terapie avanzate.

Risorse tecnologiche rilevanti:

- HVAC (camere sterili) con 4 laboratori di classe A e B.
- Cappe biohazard a flusso unidirezionale.
- Microscopi rovesciati.
- Contacellule.
- Incubatori a CO₂.
- Isolatore (glove box) di classe A con background D.
- Contenitori criobiologici e criogenici di azoto liquido.
- Termociclatore per PCR real time.
- Centrifughe refrigerate.
- Bact Alert 3D.
- Endosafe PTS100 per LAL test.
- Bactec 9050.
- Microscan Walkaway Sistema semiautomatico Mini API per identificazione e antibiogramma di aerobi ed anaerobi.
- Cappe chimiche a filtrazione molecolare.
- Liofilizzatore.
- Sega a nastro.
- Apparecchiatura a controllo alfa-numerico per taglio.
- Tritaosso.
- Mulino ultracentrifugo.
- Termosaldatrici.
- Ultracongelatori a -80°C.
- TMA Tissue Macro Arrays
- Analizzatore di immagini "Gel Logic".

IOR PROMETEO Laboratory

IOR PROMETEO Laboratory undertakes to manage, implement and coordinate regenerative medicine products and tissue engineering in orthopedic manufacturing and research and development.

It provides consultancy and training services at regional, national and international levels in the field of regenerative medicine, tissue engineering in orthopedic and maxillofacial surgery.

IOR PROMETEO Laboratory has the following organizational chart:

Tissue Factory: *authorized by CNT, in compliances with Law 91/99, it is the referent Bank for Emilia-Romagna region for musculoskeletal tissues, with the specific aim of collect, validate, process, manufacture, identify, storage and distribute the drawn tissues, certifying qualification, security and safety. It supplies – for implantation and transplantation purposes, bone segments, tendon and stripes, adequately kept, under microbiological control and deriving from donors whose identity and qualification has been previously evaluated. The processation of tissue undergoes in class A and under controlled contamination ambient. BTM projects and develops news tissutal products, even in collaboration with private companies being them national or international. It collaborates to clinical protocols within regenerative medicine, supplying lyophilized or demineralized tissues to being combined to grow factors.*

Cell Factory: *authorized by AIFA, for extensive cell manipulation within class A controlled contamination ambient; is dedicated to the isolation, expansion and release of autologous chondrocytes and mesenchymal stem cells, applying GMP. It deals with the identification and the development alternative sources for cells with respect to the ones in use and new bio-materials to use in combination with stem cells for the regeneration of bone, cartilage and tendons. It is involved in clinical trials developing and supplying products for cell therapies.*

Quality control and microbiology Laboratory: *authorized by AIFA, performs GMP process tests and releases of products for extensive cell manipulation, carried out within the Cell Factory. It performs microbiological controls on tissues stocked within the Cell and the musculoskeletal tissue Bank and offers microbiological analytical service control and clinical to the operational units of IOR (Istituto Ortopedico Rizzoli). It controls material quality level entering the Cell Factory GMP storage. It is involved in clinical trials developing and supplying quality controls for products for cell therapies. It collaborates with other operational units for the implementation of studies and research activities.*

Laboratory for the analysis and the characterization of tissues or engineered bio-materials: it deals with mechanical and biological study of “hybrid” new materials. It undertakes in the evaluation of mechanical competencies measured through dedicated proof machinery and tools where loads and stresses are applied following protocols in strict compliance with the Law. It deals therefore with evaluation of specific characteristics of biological systems and interactions between them and the used materials.

Biobanks: storage of human tissue and cells, within and through validated cryoconservation tools and machinery, monitoring temperature, alarm manager, GMP compliance programmed services.

The Bank for Cells and Musculoskeletal tissue, the Cell factory and the Quality control and microbiology Laboratory are certificated for the EA 37 sector: “Projecting and supplying of training events, internships, catalogue courses, seminars and study days”. They offer tailored training courses; within the ambit of specific collaborations, they supply catalogue courses agreed with the customer on the following themes:

- implementation and management of sterile rooms
- development of a GMP structure in compliance with extensive cell manipulation requirements
- development of integrated ISO-GMP-sectoral requirement systems
- development and management of quality control laboratories
- development and management of cell and tissue banks

Regenerative medicine in orthopedic surgery: usage of grow factor, non relevant manipulation bank bone, engineered tissues.

IOR Prometeo Laboratory researches and develops new products based upon:

- alternative cell sources with respect to the ones nowadays in use
- new biomaterials to use in combination with stem cells for bone, cartilage and tendon regeneration.

In coordination with IOR and other Italian Hospitals clinical translational research structures, it is involved in clinical trials developing and supplying products for cell therapy, with protocols authorized by Ethic Committee within the hospital housing the trial and by ISS (Istituto Superiore di Sanità).

It is at the point of activation a group of experts dedicated to clinical trials monitoring when using advanced therapy pharmaceutical products.

Technological relevant resources:

- HVAC (sterile rooms) with 4 lass A and B laboratories classe A e B.
- Cappe biohazard a flusso unidirezionale.
- Microscopi rovesciati.
- Contacellule.
- Incubatori a CO2.
- Isolatore (glove box) di classe A con background D.
- Contenitori criobiologici e criogenici di azoto liquido.
- Termociclatore per PCR real time.
- Centrifughe refrigerate.
- Bact Alert 3D.
- Endosafe PTS100 per LAL test.
- Bactec 9050.
- Microscan Walkaway Sistema semiautomatico Mini API per identificazione e antibiogramma di aerobi ed anaerobi.
- Cappe chimiche a filtrazione molecolare.
- Liofilizzatore.
- Sega a nastro.
- Apparecchiatura a controllo alfa-numeric per taglio.
- Tritaosso.
- Mulino ultracentrifugo.
- Termosaldatrici.
- Ultracongelatori a -80°C.
- TMA Tissue Macro Arrays
- Analizzatore di immagini “Gel Logic”.

Partner del Laboratorio Prometeo IOR :

Partner del Laboratorio Prometeo IOR :

La **Struttura di Terapia tissutale dell'A.O. Niguarda** è composta dal Centro di riferimento regionale per la coltura di epidermide umana in vitro (DGR n. 39806 del 24/02/88), dalla Banca per la crioconservazione dei tessuti e dall'ambulatorio ferite difficili e ustioni. Il Centro di coltura di epidermide umana e di crioconservazione dei tessuti ricopre attività che rientrano tra gli obiettivi del Servizio Sanitario Nazionale, sia dal punto di vista clinico (trapianti), sia dal punto di vista tecnico logistico (coordinamento nazionale tra le aziende sanitarie attraverso un sistema informatizzato). I laboratori garantiscono i livelli qualitativi e di sicurezza per i processi di trattamento e conservazione, in conformità alla Direttiva Europea 2004/23/CE.

Le dotazioni comprendono 600 mq di laboratori a contaminazione controllata, secondo le più recenti norme GMP (*Good Manufacturing Practice*) per la manipolazione dei tessuti destinati alla crioconservazione.

In particolare sono trattati tessuti di tipologie differenti:

- cartilagine
- cute
- derma ed epidermide ingegnerizzata
- cellule staminali di derivazione dermica.

L'équipe collabora con il Centro di Nanomedicina e Ingegneria dei Tessuti, mediante un approccio sinergico finalizzato ad individuare nuovi approcci terapeutici per le più diffuse patologie.

La Banca della pelle, con i suoi mille metri quadrati di laboratori, è il più grande centro italiano ad alta sicurezza biologica in cui vengono svolte attività di ingegneria tissutale, cioè coltivazione di cute e cartilagine e crioconservazione dei tessuti. Il centro si pone come riferimento regionale e nazionale, e si avvale della sinergia e della collaborazione con la medicina, la farmaceutica, la chimica dei biomateriali, l'ingegneria biomedica e le biotecnologie. La *cell factory* della banca produce cute e cartilagine.

Grazie alle tecnologie in dotazione ai laboratori, ogni anno vengono prodotti oltre 100.000 cm² di cute ingegnerizzata dalle cellule staminali prelevate dal derma o dall'epidermide di donatori. Nel 1996 è stato eseguito il primo impianto italiano di cartilagine coltivata in vitro. Questa tecnica applicata alla chirurgia del ginocchio ha consentito di curare anche le lesioni più gravi, fino a poco tempo prima giudicate inguaribili. Il legamento artificiale ha, inoltre, permesso di non sacrificare più parti sane per ricostruire, rendendo l'intervento meno traumatizzante e il recupero più rapido. Attraverso l'attività di crioconservazione, la banca raccoglie e conserva campioni di pelle e cartilagine, costituendosi centro di riferimento per tutta la Regione Lombardia. Un software dedicato permette il collegamento diretto con il Centro Nazionale Trapianti, garantendo così una rintracciabilità certa del tessuto donato.

IOR Prometeo Laboratory Partner:

Tissutal therapy Structure within AO Niguarda: *is composed by the regional reference Center for in vitro human epidermis colture (DGR n. 39806 of 24/02/88), by the Bank for cryonconservation of tissues and the deep wounds and burns ambulatory. The Center for human epidermis colture and tissue cryoconservation deals with activity that are considered as purposes of the National Healthcare System, both form clinical (transplants) and technical-logistic standpoints (computerized national coordination between healthcare companies). The laboratories grant qualitative and safety levels for the processes for the treatment and the storage, in compliance with 2004/23/CE. European Directive.*

The equipment comprises 600 sq.meters of controlled contamination laboratory, under the most recent GMP requirements for the manipulation of tissue destined to cryoconservation.

In particular different tissues of different typologies are treated:

- cartilage
- cutis
- derm and engineered epidermis
- dermal derivation stem cells

The equipe collaborates with the Center for Nanomedicine and Tissutal engineering, through a synergic approach finalized to identify new therapeutic solutions among the most spread diseases.

The Epidermis Bank, with its thousands of square meters of laboratories, is the largest Italian high Biosafety which are carried out on tissue engineering, ie cultivation of skin and cartilage and tissue cryopreservation. The center is considered a benchmark at regional and national level, and takes advantage of the synergy and collaboration with medical, pharmaceutical, chemistry, biomaterials, biomedical engineering and biotechnology. The cell factory bank produces skin and cartilage.

Thanks to the technologies supplied to laboratories, more than 100,000 cm² of engineered skin are annually produced from stem cells derived by dermis or epidermis of donors. In 1996, the first Italian plant in vitro cultured cartilage has been performed. This technique applied to the knee surgery has made it possible to treat even the most serious injuries, until shortly before judged incurable. The artificial ligament has also allowed not to sacrifice more healthy parts to rebuild, making the surgery less traumatic and faster recovery. Through the activity of cryopreservation, the bank collects and stores samples of skin and cartilage, constituting a reference center for the whole region Lombardy. Dedicated software allows direct connection with the National Transplant Centre, thus ensuring a degree of traceability of donated tissue.

CMR/CIDSTEM

Il direttore, Michele De Luca, e la sua principale collaboratrice, Graziella Pellegrini, QP e Coordinatrice della Terapia Cellulare, sono considerati leader internazionali nel campo della biologia delle cellule staminali degli epiteli di rivestimento mirata alla loro applicazione clinica in Medicina Rigenerativa e sono responsabili di importanti progressi scientifici nel campo sia della terapia cellulare sia della terapia genica di gravi patologie non altrimenti curabili.

Oltre ad aver sviluppato colture di cellule staminali epidermiche utilizzate per la terapia salva-vita di pazienti con ustioni estese (con centinaia di pazienti trattati in collaborazione con vari enti ospedalieri) e le terapie per la vitiligine stabile e per il piebaldismo (con centinaia di pazienti trattati in Italia), hanno descritto per primi la possibilità di ricostituire in vitro l'epitelio uretrale per l'applicazione clinica in pazienti con grave ipospadia posteriore, nonché di ricostruire l'epitelio della mucosa orale per l'applicazione clinica in pazienti con ampi deficit dello stesso.

Negli ultimi dieci anni, Michele De Luca e Graziella Pellegrini hanno messo a punto il sistema di coltura ed applicazione clinica delle cellule staminali limbo-corneali per la ricostruzione di superfici corneali gravemente lesionate ed il recupero della capacità visiva. Negli ultimi 5 anni, molti centri clinici internazionali hanno riprodotto con successo questi risultati.

Le conoscenze accumulate in questi anni sulla biologia delle cellule staminali dell'epidermide umana e sulla loro applicazione clinica in terapia cellulare hanno consentito al gruppo di lavoro diretto dal Prof. De Luca di acquisire l'esperienza necessaria per correggere in maniera stabile i difetti genetici in cellule staminali di pazienti affetti da malattie genetiche della pelle, quale la Epidermolisi Bollosa. Questo risultato ha portato ad effettuare con successo la prima sperimentazione clinica (approvata dal Ministero della Salute) di terapia genica ex vivo della forma giunzionale della epidermolisi bollosa.

Il CMR/CIDSTEM è un edificio, inaugurato nel 2008, che si sviluppa su 4 piani per una superficie totale di 4.000 mq, di cui 3.000 mq di laboratori e 1.000 mq di piano tecnico.

In particolare, dispone di un laboratorio per la ricerca di base di 1.000 mq, con 5 stanze per colture cellulari e per il trasferimento genico e da laboratori completamente equipaggiati per attività di biochimica, biologia molecolare, microscopia confocale, immunofluorescenza, microdissezione laser, citofluorimetria, istologia, citologia, real-time PCR. Dispone inoltre di centrifughe e altra strumentazione e servizi accessori quali camere fredde, camera calda, criostati, crioconservatori e irraggiatori per cellule.

Dispone inoltre di un'officina farmaceutica di produzione certificata GMP di circa 1.500 mq, con 17 stanze per colture cellulari di classe B (secondo Annex 1 cGMP) indipendenti e interamente dedicate alla preparazione di colture cellulari destinate alle applicazioni cliniche in terapia cellulare e terapia genica e alle sperimentazioni cliniche, controllo qualità e preparazione dei terreni di coltura. Ogni stanza è fornita di incubatori per coltura cellulare a temperatura, umidità relativa e concentrazione di anidride carbonica controllate; frigoriferi e freezer per la conservazione di reattivi; cappe a flusso laminare per la lavorazione di cellule e tessuti in ambiente controllato (classe A secondo Annex 1 cGMP); centrifughe e citocentrifughe, bagnetti termostatici, microscopi. Al di fuori dei laboratori classificati sono presenti attrezzature accessorie quali frigoriferi e freezer Ultra-Low per il precongelo di tessuti, crioconservatori a vapori di azoto liquido, PCR, cappe chimiche, robot per l'esecuzione automatizzata di colorazioni immunohistochimiche e in immunofluorescenza, centrifughe, microscopi, irraggiatore e bilance (analitica e semianalitica). Sono inoltre presenti reparti per la selezione dei materiali in ingresso e in uscita, laboratori di controllo istologico e locali di lavaggio e sterilizzazione e terminali dei sistemi di controllo e monitoraggio.

CMR/CIDSTEM

The director, Michael De Luca, and his main collaborator, Graziella Pellegrini, QP and Coordinator of the Cell Therapy, are considered international leaders in the field of stem cell biology of the epithelial lining targeted to their clinical application in regenerative medicine and are responsible for major scientific advances in the field of cell therapy and gene therapy of serious diseases otherwise un-treatable.

In addition to developing cultured epidermal stem cells used for life-saving therapy for patients with extensive burns (with hundreds of patients in collaboration with several hospitals) and therapy for stable vitiligo and the piebaldism (with hundreds of patients treated in Italy), they first described the possibility to reconstitute in vitro the urethral epithelium for clinical application in patients with severe hypospadias rear, as well as to reconstruct the epithelium of the oral mucosa for clinical application in patients with large deficits of the same.

Over the past decade, Michael De Luca and Graziella Pellegrini have developed a colture system and clinical application of stem cells for the limbo-corneal surface reconstruction corneal severely damaged and recovery of vision. Over the past 5 years, many international clinical centers have successfully reproduced these results.

The recent years acquired knowledge on the biology of human epidermal stem cells and their clinical application in cell therapy have allowed the working group headed by Prof. De Luca to gain the experience needed to correct genetic defects in a stable manner in stem cells from patients with genetic diseases of the skin, such as Epidermolysis Bullosa. This result led to successfully perform the first clinical trial (approved by the Ministry of Health) of ex vivo gene therapy in the form of junctional epidermolysis bullosa.

The CMR / CIDSTEM is a building, which opened in 2008, which is spread over 4 floors with a total area of 4,000 square meters, including 3,000 square meters of workshops and 1,000 square meters of floor technician.

In particular, it has a laboratory for basic research of 1,000 square meters, with 5 bedrooms for cell culture and gene transfer and laboratories are fully equipped to work in biochemistry, molecular biology, confocal microscopy, immunofluorescence, laser microdissection, flow cytometry, histology, cytology, real-time PCR. It also has centrifuges and other equipment and services such as cold rooms, warm room, cryostats, crioconservatori and emitters for cells.

It also has a workshop production of pharmaceutical GMP certified about 1,500 square meters, with 17 rooms for cell culture class B (according to Annex 1 cGMP) independent and fully dedicated to the preparation of cell cultures for clinical application in cell therapy and gene therapy and clinical trials, quality control and preparation of culture media. Each room is equipped with incubators for cell culture temperature, relative humidity and carbon dioxide concentration controlled; refrigerators and freezers for storage of reagents; laminar flow hoods for the machining of cells and tissues in a controlled environment (class A according to Annex 1 cGMP), centrifugal and cytocentrifuges, thermostatic baths, microscopes. Outside laboratories are classified as accessory equipment such as refrigerators and freezers for Ultra-Low precongelo of tissues, crioconservatori in liquid nitrogen, PCR, fume hoods, robots for the automated execution of immunohistochemical staining and immunofluorescence, centrifuges, microscopes, irraggiatore and balances (analytical and semianalitica). There are also departments for the selection of the materials input and output, control laboratories histological and local washing and sterilization and terminals of the control systems and monitoring.

CIRI-SDV, Università di Bologna

La nuova sede del centro, presso i locali della Fondazione IRET-ONLUS, garantiscono la diponibilità di 480mq di laboratori dedicati alla medicina traslazionale per malattie neurologiche. Il laboratorio ha una consolidata esperienza nei seguenti settori:

- neuroanatomia chimica. Il laboratorio studia l'organizzazione neurochimica delle reti nervose, con particolare riferimento alla chimica della trasmissione sinaptica e dei meccanismi del trofismo neuronale. Studia l'interazione fra i diversi tipi cellulari che compongono il tessuto nervoso, anche comparativamente in diverse specie animali; l'effetto di genere e dell'invecchiamento.
- Modelli di malattie neurodegenerative. Il laboratorio realizza e studia modelli in vitro e in vivo di malattie degenerative del sistema nervoso, con riferimento a patologie acute (su base traumatica e vascolare), croniche (sclerosi multipla, demenza di Alzheimer, demenza vascolare, dolore neuropatico) e su base genetica (atassia). I modelli in vitro sono usati per l'indagine dei meccanismi alla base della neurodegenerazione; i modelli in vivo per studi di efficacia di trattamenti farmacologici e non.
- Medicina rigenerativa e tissue engineering. Il laboratorio realizza dispositivi innovativi per medicina rigenerativa, basati sull'uso di scaffolds (biologici e da elettrofilatura) anche funzionalizzati (per via chimica e fisica), associati o non associati a cellule staminali di diversa origine (embrionali, neurali, mesenchimali). Studia inoltre l'influenza di segnali fisici a bassa energia sui processi riparativi.
- Nuovi biomarkes in liquidi biologici. Il laboratorio è impegnato nello studio di nuovi biomarkers per malattie neurodegenerative e infiammatorie, da impiegarsi in studi clinici controllati in medicina veterinaria ed umana.

I laboratori e le facilities comprendono:

- microchirurgia stereotassica e comportamento animale. Il laboratorio dispone della strumentazione e delle competenze per realizzare lesioni stereotassiche chimiche e meccaniche su cervello, midollo spinale, nervi periferici di animali da laboratorio. Dispone inoltre della strumentazione per l'esecuzione e l'analisi di test di apprendimento e memoria (Morris water maze, Contextual Fear Conditioning, Y maze, novel object recognition test) mediante software di video-tracking (AnyMaze, Steolting e Smart, PanLab); di coordinamento motorio (activity cage, Ugo Basile; Rotarod, Ugo Basile; CatWalk, Noldus); di misura della soglia del dolore in animale libero di muoversi (analgesimetro, Ugo Basile; plantar test, Ugo Basile).
- Biologia cellulare. Il laboratorio dispone della strumentazione standard per allestire colture cellulari (cappe a flusso laminare, incubatori a CO₂, microscopi rovesciati). Dispone inoltre di srumentazione per high-content analysis. Lavora su linee cellulari e su colture primarie (neuronal, gliali e di fibroblasti) ottenute da diverse specie animali, ed ha una sezione dedicata alle cellule staminali. Il laboratorio ha prodotto una linea di cellule staminali embrionali di ratto, isola e mantiene in coltura cellule staminali e precursori neurali anche da cervello adulto. Vengono condotti esperimenti di manipolazione genica, per overesprimere o reprimere geni di interesse, ed esperimenti di silenziamento del mRNA.
- Biologia molecolare. Il laboratorio esegue analisi di espressione di mRNA mediante PCR, real-time PCR e mRNA multi-array su materiale di diversa origine. Dispone del microdissettore a cattura laser, per analisi di espressione su cellule singolarmente raccolte, e per regioni anatomiche definite a risoluzione microscopica. Esegue analisi del DNA animale per genotipizzazione.
- Proteomica. Il laboratorio esegue saggi ELISA su liquidi biologici, colture cellulari (lisati e mezzo di coltura) e tessuti. Dispone della strumentazione ed esegue saggi multiparametrici mediante tecnologia Luminex Xmap e MAGPIX.
- Morfologia. Il laboratorio esegue colorazioni in immunofluorescenza singole e multiple, anche mediante tecniche di intensificazione del segnale.
- Microscopia avanzata e analisi di immagine (2D, 3D, 4D). Il laboratorio dispone di microscopi da ricerca a luce trasmessa e fluorescenza, dotati di motorizzazione del piano z e di camere CCD ad alta e altissima risoluzione (raffreddate a -30°C). Dispone di microscopio confocale a scansione laser, configurato anche per esperimenti in time-lapse su punti multipli, modulo FRAP, FRET e di calcium imaging. Il laboratorio dispone di software di analisi morfometrica e microdensitometrica (AIS, Imaging Research; Cell^P, Olympus; Image ProPlus, Media Cybernetics; NIS, Nikon). Dispone inoltre del software Imaris BitPlane per analisi 3D (voxel) e 4D (nel tempo).

Il laboratorio dispone di una rete interna, con server autonomo e back-up certificato dei dati su supporti esterni ed in extra-copie.

CIRI-SDV, University of Bologna

The new location of the center, at the premises of the Foundation IRET-ONLUS guarantee the availability of 480mq of laboratories dedicated to translational medicine for neurological diseases. The laboratory has extensive experience in the following areas:

- Chemical neuroanatomy. *The laboratory studies the neurochemical organization of neuronal networks, with particular reference to the chemistry of synaptic transmission and mechanisms of neuronal tropism. Studies the interaction between the different cell types that make up the nervous tissue, also comparatively in several animal species; the effect of gender and aging.*
- *Models of diseases neurodegenerative. The laboratory develops and studies in vitro and in vivo models of degenerative diseases of the nervous system, with reference to acute (based on traumatic and vascular) diseases (multiple sclerosis, Alzheimer's disease, vascular dementia, neuropathic pain) and genetically based (ataxia). The in vitro models are used for the investigation of the mechanisms of neurodegeneration; models for in vivo efficacy studies of pharmacological and non.*
- *Regenerative medicine and tissue engineering. The laboratory creates innovative devices for regenerative medicine, based on the use of scaffolds (biological and electrospinning) also functionalized (chemically and physically), associated or not associated with stem cells of different origin (embryonic, neural, mesenchymal). He also studied the influence of physical signs in low-energy processes of repair.*
- *New biomarkes in biological fluids. The laboratory is engaged in the study of new biomarkers for neurodegenerative and inflammatory diseases, to be used in controlled clinical trials in veterinary medicine and human.*

The laboratories and facilities include:

- Stereotactic microsurgery and animal behavior. *The laboratory has the equipment and expertise to create chemical and mechanical stereotactic lesions of the brain, spinal cord, peripheral nerves of laboratory animals. There is also the instrument for the execution and analysis of tests of learning and memory (Morris water maze, Contextual Fear Conditioning, Y maze, novel object recognition test) by video-tracking software (AnyMaze, Steolting and Smart PANLAB) , motor coordination (activity cage, Ugo Basile, Rotarod, Ugo Basile, Catwalk, Noldus) Measurement of the pain threshold in animal free to move (analgesimetro, Ugo Basile; Plantar test, Ugo Basile).*
- Cell Biology. *The laboratory has the equipment to set up standard cell cultures (laminar flow hoods, CO2 incubators, inverted microscopes). It also has srumentazione for high-content analysis. Work on cell lines and primary cultures (neuronal, glial and fibroblasts) derived from different animal species, and has a section on stem cells. The laboratory has produced a line of embryonic stem cells from rat island and keeps growing stem cells and neural precursors as well as the adult brain. Are conducted experiments of gene manipulation, for overesprimere or repress genes of interest, and experiments of silencing the mRNA*
- Molecular Biology. *The laboratory performs analysis of mRNA expression by PCR, real-time PCR and mRNA multi-array of materials of different origin. Laser capture microdissection of features for expression analysis of cells collected individually, and anatomical regions defined at microscopic resolution. Performs analysis of animal DNA for genotyping.*
- Proteomics. *The laboratory performs ELISA assays of biological fluids, cell cultures (cell lysates and culture medium) and tissues. Has the equipment and performs multiparameter assays using Luminex Xmap and MAGPIX.*
- Morphology. *The laboratory performs color immunofluorescence in single and multiple, including by means of signal enhancement.*
- Advanced microscopy and image analysis (2D, 3D, 4D). *The laboratory has microscopes from research in transmitted light and fluorescence, equipped with motorization of the plane z of CCD cameras high and very high resolution (cooled to -30 ° C). It has laser scanning confocal microscope, configured for time-lapse experiments on multiple points, form FRAP, FRET and calcium imaging. The laboratory is equipped with*

software and microdensitometric morphometric analysis (AIS, Imaging Research, Cell ^ P, Olympus, Image ProPlus, Media Cybernetics, NIS, Nikon). It also has the software Imaris Bitplane for 3D analysis (voxels) and 4D (in time).

The laboratory is equipped with an internal network, with stand-alone server and back-up certificate data to external media and extra copies.

IGEA

L'azienda IGEA è stata fondata nel 1980 dal dr. Ruggero Cadossi, ematologo dell'Università di Modena e ricercatore nel settore della Biofisica Clinica, con un particolare interesse verso le applicazioni mediche dei campi elettromagnetici e le tecnologie ad ultrasuoni a scopi diagnostici. IGEA è impegnata nella ricerca nel settore della biofisica clinica, con l'obiettivo di sviluppare strumenti innovativi ed efficaci da usare in medicina per la diagnostica preventiva e per scopi terapeutici. IGEA è partner del consorzio ICEMB. L'iniziale specializzazione dell'azienda riguardava i generatori di campi elettromagnetici pulsati per la rigenerazione ossea per accelerare la riduzione delle fratture. In seguito IGEA ha sviluppato il Bone Profiler uno strumento di diagnostica che consente la valutazione densitometrica-strutturale dell'osso attraverso l'analisi di segnali ad ultrasuoni (US). Dal 2000 IGEA si occupa dell'elettroporazione delle membrane cellulari per applicazioni di ricerca e cliniche ed ha partecipato a tre progetti Europei: Cliniporator ed ESOPE (V PQ) e ANGIOSKIN (VI PQ). IGEA è produttore del Cliniporator® per l'elettrochemioterapia di tumori cutanei e subcutanei. Negli ultimi tre anni IGEA ha sviluppato il Cliniporator VITAE per il trattamento di tumori profondi, cofinanziato dal Ministero dello Sviluppo Economico, Legge 46/82 progetto n° A20/1837/00/X06, intitolato: Studio e Sviluppo di una Innovativa Piattaforma Tecnologica per Elettroporazione (PTE) per la Terapia dei Tumori Profondi. I prodotti innovativi di IGEA vengono sviluppati su solide basi scientifiche e tecnologiche, in stretta collaborazione con centri di ricerca accademici e privati, in Europa e in USA. Questi dispositivi utilizzano tecnologia digitale ed analogica, ed avanzate applicazioni informatiche, come logica fuzzy e reti neurali. Tutti i prodotti vengono progettati in modo da fornire agli operatori sanitari strumenti di facile utilizzo per una immediata ed utile applicazione. Il Sistema di Qualità di IGEA è conforme allo standard EN ISO 9001:2000 (CSQ: Certificate N. 9120.IGEA). La dichiarazione di conformità è stata rilasciata dalle FDA per la produzione di strumenti medicali da esportare in USA. IGEA è una azienda certificata, conforme allo standard EN ISO 13485:2000 per la produzione, la vendita e il noleggio di strumenti medicali. L'azienda è registrata IQNet ed è stata certificata per il suo sistema di qualità (Registrazione IQNet N. IT – 1059).

IGEA

The company was founded in 1980 by dr. Roger Cadossi, hematologist at the University of Modena and researcher in the field of Clinical Biophysics, with a particular interest in the medical applications of electromagnetic fields and ultrasound techniques for diagnostic purposes. IGEA is engaged in research in the field of biophysics clinic, with the goal of developing innovative and effective use in medicine for preventive diagnostic and therapeutic purposes. IGEA is a partner of the consortium ICEMB. The initial specialization of the company concerned generators of pulsed electromagnetic fields for bone regeneration to accelerate the reduction of fractures. Following IGEA has developed the Bone Profiler a diagnostic tool that allows the assessment densitometric-structural bone through the analysis of ultrasonic signals (U.S.). Since 2000 IGEA electroporation of cell membranes is responsible for clinical and research applications and has participated in three European projects: Cliniporator and ESOPE (FP) and ANGIOSKIN (VI FP). IGEA Cliniporator ® is the manufacturer of the electrochemotherapy of cutaneous and subcutaneous. Over the past three years IGEA developed Cliniporator VITAE for the treatment of deep-seated tumors, co-financed by the Ministry of Economic Development, Law 46/82 Project No. A20/1837/00/X06, entitled: Study and Development of an Innovative Technology Platform for electroporation (PTE) for the Treatment of Cancer Deep. IGEA innovative products are built on a solid foundation of science and technology, in close collaboration with academic research centers and private, in Europe and in the USA. These devices use digital technology and analog, and advanced computer applications, such as fuzzy logic and neural networks. All products are designed so as to provide health professionals easy to use tools for an immediate and useful application. The Quality System of IGEA complies with EN ISO 9001:2000 (CSQ: Certificate No. 9120.IGEA). The declaration of conformity has been issued by the FDA for the production of medical equipment for export to USA. IGEA is a company certified in accordance with EN ISO 13485:2000 for the manufacture, sale and

rental of medical equipment. The company is registered IQNet and has been certified for its quality system (Registration No. IT IQNet - 1059).

AB MEDICA SPA

AB MEDICA SPA opera nel settore della commercializzazione di prodotti medicali, elettromedicali, protesi, materiale sanitario, apparecchi e strumenti scientifici, sanitari e dispositivi medico-chirurgici in genere. Dal 2004 AB MEDICA è anche un polo produttivo ed un parco scientifico di ricerca e sviluppo, impegnati nell'ideazione e nella realizzazione di una vasta gamma di prodotti e progetti che vanno dai kit procedurali monouso a un'ampia gamma di strumenti per la chirurgia mininvasiva, sino ad arrivare ad ambiziose realizzazioni nel campo delle cellule staminali e della genomica. Grazie alla collaborazione con i più prestigiosi dipartimenti medici e chirurgici del Paese AB MEDICA vanta una lunga lista di primati scientifico-clinici tra i quali l'introduzione del primo catetere multilume in anestesia, la divulgazione delle prime tecniche di neuroradiologia interventistica e il lancio dell'Amplatzer per la cura delle malformazioni cardiache congenite.

AB MEDICA investe ingenti risorse nella Ricerca & Sviluppo ed è attiva nella partecipazione a bandi di finanziamento europei, nazionali e regionali, al fine di sostenere, validare, valorizzare e promuovere le proprie iniziative di ricerca & sviluppo, nell'ambito dell'innovation health, smart communities, medical device ed enabling technology. In quest'ottica di crescita tecnologica costante AB MEDICA sta investendo anche nello sviluppo della medicina rigenerativa, che rappresenta per il gruppo un innovativo campo di applicazione che può nel prossimo futuro rivoluzionare l'approccio terapeutico per talune malattie degenerative, e, in particolare, nello sviluppo di un polimero elastico biocompatibile e degradabile disegnato per applicazioni mediche, colture tissutali e ingegneria tissutale, denominato Degrapol®. Il Degrapol ® è un poliuretano che degrada lentamente, ha proprietà meccaniche variabili e una degradazione cinetica secondo la composizione e la struttura. Il Degrapol nasce nell'ambito dell'ingegneria tissutale visto come progetto multidisciplinare che apre nuove strade soprattutto nella ricerca finalizzata a rigenerare nuovi organi e/o tessuti malati e che ha già dimostrato di essere adatto a rigenerare cellule e tessuti grazie al fatto che è un polimero biodegradabile e biocompatibile le cui caratteristiche meccaniche ed elastiche sono modulabili a seconda del tessuto che si vuole rigenerare.

L'interesse di AB MEDICA è la ricerca di un sistema di polimeri innovativi in grado di controllare la "homing e migrazione" di cellule al fine di favorire la rigenerazione di cellule e tessuti, nonché finalizzare e sperimentare l'applicazione del Degrapol per l'ottenimento di tessuti autologici capaci di favorire la ricrescita, la migrazione e la rigenerazione cellulare, da impiantare ad esempio nell'ambito della rigenerazione del tessuto cardiovascolare e al trattamento endovascolare degli aneurismi.

AB MEDICA è dotata di laboratori e attrezzature all'avanguardia e di personale specializzato in contatto con consulenti scientifici.

AB MEDICA SPA

AB MEDICA SPA operates in the marketing of medical products, electrical equipment, prostheses, medical equipment, scientific apparatus and instruments, health products and medical and surgical devices in general. Since 2004 AB MEDICA SPA is also a production center and a scientific park for research and development, engaged in the design and manufacture of a wide range of products and projects ranging from procedural kits, disposable wide range of instruments for minimally invasive surgery. The reached also ambitious achievements in the field of stem cells and genomics. Thank to collaboration with the most prestigious medical and surgical departments of the country AB MEDICA has a long list of scientific and clinical records including the introduction of the first multilumen catheter in anesthesia, the disclosure of the first techniques of interventional neuroradiology and launch dell'Amplatzer for the treatment of congenital heart diseases.

AB MEDICA invests heavily in R & D, and is active in participating in bids for funding at European, national and regional level in order to support, validate, enhance and promote their initiatives in R & D, like innovation in eHealth, smart communities, medical device and enabling technology. In this constant technological growth AB MEDICA is also investing in the development of regenerative medicine, which represents for the Group an innovative scope of application that in the near future can revolutionize the treatment approach for certain degenerative diseases, and, in particular, in Development of an elastic biocompatible and degradable polymer designed for medical applications, tissue culture and tissue engineering, called Degrapol ®.

The Degrapol ® is a polyurethane that degrades slowly, has variables mechanical properties and a kinetics degradation according to the composition and structure. The Degrapol was born in tissue engineering seen as a multidisciplinary project that breaks new ground, especially in research to regenerate new organs and / or diseased tissues, and has already proven to be suitable to regenerate cells and tissues due to the fact that it is a biocompatible and biodegradable polymer whose mechanical and elastic characteristics are adjustable depending on the tissue that you want to regenerate.

The interest of AB MEDICA is the search for a system of innovative polymers capable of controlling the "homing and migration" of cells in order to encourage the regeneration of cells and tissues, as well as finalize and test the application of Degrapol for obtaining autologous tissues capable of favoring the re-growth, migration and cell regeneration, to be implanted for example in the regeneration of cardiovascular tissue and the endovascular treatment of aneurysms. AB MEDICA is equipped with laboratories, advanced equipment and specialized personnel in contact with scientific advisers

Genomnia srl

Genomnia è una PMI fondata nell'ottobre del 2008 allo scopo di offrire servizi di sequenziamento massivo ed analisi bioinformatica. Genomnia, inoltre, si propone come partner di istituzioni di ricerca pubbliche e private per progetti di ricerca che riguardano i settori della genomica, della trascrittomico e dell'epigenetica. Oltre all'esperienza nel settore della biologia molecolare, le competenze aziendali coprono il settore dell'analisi bioinformatica di dati di sequenziamento massivo applicati ai progetti di biomedicina: analisi qualitativa e quantitativa del trascrittoma, identificazione e profiling di miRNA, identificazione e annotazione di lncRNA, identificazione di mutazioni, risequenziamento mirato ed analisi.

Genomnia has invested significant resources to acquire infrastructure internal bioinformatics analysis, described in a specific card, both in terms of hardware and software in terms of dedicated senior staff with specific expertise in the analysis of massive sequencing data, quantitative analysis and systems management. I nostri laboratori si sviluppano su 300mq di superficie e sono dotati di attrezzature all'avanguardia e di personale specializzato in contatto con consulenti scientifici. Genomnia ha recentemente effettuato l'upgrade della piattaforma di sequenziamento alla versione Applied Biosystems SOLiD™ 5500 XL-s con sistema di arricchimento parallelo EZbead, in grado di generare 180Gb per corsa. E' possibile sequenziare librerie di frammenti con lettura sino a 75bp, o PE fino a 75x35 e librerie Mate Paired sino a 60x60 bp. Il sistema di codifica a due basi (Color Space) e l' utilizzo del modulo ECC (Exact Call Chemistry) permettono di raggiungere livelli di accuratezza sino al 99.99% rendendo il SOLiD™ particolarmente adatto allo studio delle caratteristiche del genoma e in particolare all'identificazione di variazioni, anche presenti a bassa frequenza. L'efficiente sistema di barcoding, fino a 96 consente di completare il sequenziamento di un numero elevato di campioni a condizioni economicamente più vantaggiose senza rischi. Infine, l'ampio range dinamico e l'alta sensibilità rendono questa tecnologia particolarmente adatta all'analisi accurata dei cambiamenti quantitativi a bassi livelli di espressione di RNA.

I laboratori sono specificamente organizzati in conformità alle linee guida di ABI per una facility di sequenziamento massivo con piattaforma SOLiD™ minimizzando i livelli di cross contaminazione con : Laboratorio per la preparazione di librerie, un per Laboratorio E-PCR Laboratorio di Deep Sequencing Unità bioinformatica.

Genomnia ha investito risorse importanti per dotarsi di un'infrastruttura interna di analisi bioinformatica, descritta in una scheda specifica, sia in termini di hardware e software che in termini di personale senior dedicato con esperienza specifica nell'analisi di dati di sequenziamento massivo, analisi quantitativa e di system management. Lo scopo dell'Unità di Bioinformatica di Genomnia è, in primo luogo, quello di fornire ai nostri clienti e collaboratori sequenze SOLiD™ di alta qualità mappate non ambigualmente sul genoma di riferimento, annotate e classificate con il massimo grado di precisione ed informazione e contate con la massima precisione. Le abilità attuali di analisi bioinformatica sono fortemente indirizzate all'identificazione e all'annotazione di sequenze e comprendono l'analisi del trascrittoma sia codificante che non codificante dell'uomo e degli organismi modello; approcci basati sull'analisi del genoma (analisi delle varianti o delle inserzioni – delezioni; predizione e riconoscimento dei promotori; correlazione con la struttura genica; riconoscimento dei segnali nel genoma; analisi dei dati quantitativa (analisi esplorativa dei dati; approcci univariati e multivariate; realizzazione di modelli lineari). E' inoltre disponibile l' analisi bioinformatica di dati di PCR

quantitative. Genomnia offre soluzioni disegnate appositamente per le tue indagini di genomica e di trascrittomica attraverso un servizio di consulenza e sostegno per lo sviluppo del tuo Progetto

Genomnia Srl

Genomnia is an SME established in October 2008 in order to offer services of massive sequencing and bioinformatics analysis. Genomnia also acts as a partner of private and public research institutions for research projects that relate to the areas of genomics, transcriptomics and dell'epigenetica. In addition to experience in the field of molecular biology, the company skills cover the field of bioinformatics data analysis of massive sequencing, applied to biomedicine projects: qualitative and quantitative analysis of the transcriptome, identification and profiling of miRNA identification and annotation of lncRNA, detection of mutations targeted resequencing and analysis.

Our laboratories are spread over 300 square meters of surface area and are equipped with advanced equipment and specialized personnel in contact with scientific advisers. Genomnia has recently upgraded the sequencing platform to version Applied Biosystems SOLiD™ 5500 XL-s with enrichment system parallel EZbead, able to generate 180GB per stroke.

It's possible to sequence fragment libraries with reading up to 75bp, or PE up to 75x35 and 60x60 libraries Mate Paired up to bp. The coding system with two bases (Color Space) and the 'use of the ECC module (Exact Call Chemistry) can reach levels of accuracy up to 99.99%, making the SOLiD™ is particularly suited to the study of the characteristics of the genome and in particular to' identification of variations, also present at low frequency. The efficient system of barcoding, up to 96 allows to complete the sequencing of a large number of samples to economically most advantageous conditions without risks. Finally, the wide dynamic range and high sensitivity make this technology particularly suitable for the analysis of accurate quantitative changes to low levels of expression of RNA. The laboratories are specifically designed in accordance with the guidelines of ABI for a massive sequencing facility with SOLiD™ platform, minimizing the levels of cross contamination: Laboratory for the preparation of libraries, a Laboratory for E-PCR Laboratory of Deep Sequencing Bioinformatics Unit.

Genomnia has invested significant resources to acquire internal infrastructure bioinformatic analysis, described in a specific card, both in terms of hardware and software in terms of dedicated senior staff with specific expertise in the analysis of massive sequencing data, quantitative analysis and system management.

The purpose of the Bioinformatics Unit Genomnia is, first, to provide our customers and employees high-quality sequences SOLiD™ mapped unambiguously on the reference genome, annotated and classified with the highest degree of precision and information and counted with the utmost precision. The ability of current bioinformatics analysis are foremostly addressed the identification and annotation of sequences and include the analysis of the transcriptome encoding is that non-coding human and model organisms; approaches based on the genome (analysis of variants or the adverts - deletions; prediction and recognition of promoters correlate with gene structure, recognition of signals in the genome, analysis of quantitative data (exploratory data analysis, univariate and multivariate approaches, construction of linear models). It 'also available' bioinformatic analysis of quantitative PCR data. Genomnia offers solutions designed specifically for your investigation of genomics and transcriptomics through the provision of advice and support for the development of your project.

AB Tremila srl

AB Tremila è una società innovativa e all'avanguardia, operante nel campo della ricerca e sviluppo sperimentale, nel campo delle scienze naturali, dell'ingegneria e della biotecnologica, con l'obiettivo di sviluppare, produrre e commercializzare prodotti terapeutici e dispositivi medici innovativi e all'avanguardia. Al fine di sviluppare competenze e conoscenze scientifiche, nell'area ricerca e sviluppo, ha avviato delle collaborazioni con con altre imprese e/o organismi di ricerca, tra cui: il Consorzio Tecnopolo di Castel romano, gli istituti ETH di Zurigo e Università di Zurigo e, in particolare, con il Prof. Peter Neuenschwander of Baden, il Consiglio Nazionale delle Ricerche, e in particolare, con l'Istituto di Scienze e Tecnologie Molecolari.

AB Tremila sta investendo nello sviluppo della medicina rigenerativa e, in particolare, nella ricerca finalizzata a rigenerare nuovi organi e/o tessuti malati, a partire anche dai risultati ottenuti dal Degrapol, nonché nella ricerca di un sistema di polimeri innovativi in grado di controllare la "homing e migrazione" di cellule al fine di favorire la rigenerazione di cellule e tessuti. AB TREMILA ha realizzato un importante progetto di ricerca scientifica denominato "Degrapol", a valere sul Bando di finanziamento "Progetto Innovazione 2010" stanziato dalla C.C.I.A.A. di Roma.

AB TREMILA, infine, collabora con AB MEDICA spa nello sviluppo di progetti e iniziative congiunte, caratterizzati da un elevato livello di complessità tecnico-scientifica con l'obiettivo di stipulare futuri accordi di partnership per la commercializzazione dei prodotti/servizi a partire dai risultati conseguiti sui progetti

AB Tremila srl

AB Tremila srl is an innovative and avant-garde company, working in research and experimental development services in natural sciences, engineering and biotechnology, with the objective to develop, manufacture and market therapeutical products and innovative medical devices. In order to develop skills and knowledge in scientific research and development, has entered, into partnerships with other businesses and / or research organizations, including: the Consortium Technopole Castel Roman Institutions ETH Zurich and University of Zurich and, in Particular, with Prof. Peter Neuenschwander of Baden, the National Research Council, and in Particular with the Institute of Molecular Sciences and Technologies.

AB Tremila is investing in the development of regenerative medicine and, in Particular, in research aimed at regenerating new organs and / or diseased tissues, Also starting from the results Obtained from Degrapol, as well as in the search for a system of innovative polymers capable of controlling the "homing and migration" of cells in order to Encourage the regeneration of cells and tissues. THREE THOUSAND AB has made an important scientific research project called "Degrapol" Notice of funding available under the "Innovation Project 2010" Allocated by the Chamber of Commerce of Rome.

AB Tremila finally, working with AB MEDICAL spa in the development of joint projects and Initiatives which Are characterized by a high level of scientific and technical complexity with the aim of concluding future partnership agreements for the marketing of products / services from results on projects .

Maria Pia Hospital del GVM care & research (in breve GVM).

Villa Maria Pia Hospital fa parte del **Gruppo Villa Maria**, holding che opera in sanità, ricerca, industria biomedicale, benessere termale e servizi alle imprese: l'obiettivo è quello di promuovere il benessere e la qualità della vita.

Cuore del Gruppo è la rete integrata di Ospedali di Alta Specialità, Polispecialistici, e Day Surgery con Poliambulatorio privato: un network di strutture e competenze professionali che innerva numerose regioni italiane e si estende anche in Francia e Albania.

Una lunga tradizione, mutuata da un territorio - la Romagna - contraddistinto fino a pochi decenni fa da una fitta rete ospedaliera, ha portato il Gruppo Villa Maria ad accreditarsi come partner del Sistema Sanitario Nazionale pubblico e come polo d'eccellenza - in particolare per il trattamento delle patologie cardiovascolari - rivolgendo sempre di più la sua attenzione alla dignità del malato e giungendo a ideare tecniche diagnostiche e chirurgiche sempre meno invasive, a fianco di protocolli terapeutici su misura del paziente.

Il Gruppo Villa Maria investe annualmente ingenti risorse in tecnologie per elevare la qualità dell'assistenza sanitaria: dei 1700 posti letto complessivi, 160 sono destinati alla terapia intensiva e alla Rianimazione; a questi si affiancano 14 laboratori di emodinamica, 5 acceleratori lineari per la Radioterapia.

Notevoli gli investimenti nella diagnostica: oltre alle 10 RMN e alle 16 TAC, il Maria Pia Hospital del GVM care & research (in breve GVM). è tra i pochissimi centri italiani che dispongono del "Gamma knife", il cosiddetto bisturi a raggi gamma, sofisticata apparecchiatura utilizzata per il trattamento non invasivo (quindi senza intervento chirurgico) della patologie cerebrali, soprattutto neoplasie. Recente anche l'acquisizione di una Tac-Pet, apparecchiatura che "legge" le cellule tumorali consentendo così una diagnosi più completa nei pazienti neoplastici.

Partner Maria Pia Hospital del GVM care & research (in breve GVM).

1) Gruppo di Ricerca BIOMAT

DENOMINAZIONE ATTIVITÀ	
Biopolymers as biomaterials for applications in regenerative medicine	
SOGGETTO ATTUATORE	Università degli Studi di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita
SEDE DI ATTUAZIONE	Via Licio Giorgieri, 5 - 34127 TRIESTE
RIFERIMENTI	biomat@units.it

Il gruppo di ricerca diretto dal Prof. Sergio Paoletti (gruppo BIOMAT) è attualmente impegnato in diverse attività per la progettazione di nuovi biomateriali ingegnerizzati, per applicazioni principalmente nei settori dell'ortopedia, dell'odontoiatria e della chirurgia interna. Tali materiali sono tipicamente basati su biopolimeri, in particolare alginato, chitosano e acido ialuronico. I materiali sviluppati, di c.d. terza generazione, oltre ad essere essi stessi bioattivi su cellule e tessuti di impianto, sono il risultato di un disegno molecolare finalizzato particolarmente al *delivery* di cellule, anche staminali.

Lo sviluppo di tali biomateriali viene effettuato attraverso una caratterizzazione in parallelo degli aspetti propri del materiale e delle risultanti proprietà biologiche in un processo di *feedback* continuo per ottimizzarne le prestazioni complessive. I materiali sono così valutati sulla base delle loro proprietà chimico-fisiche, morfologiche e meccaniche; gli effetti biologici del biomateriale vengono testati prima *in vitro* su cellule eucariotiche (test di citotossicità, proliferazione, differenziazione,...) e su cellule batteriche (efficacia antimicrobica, formazione di biofilm) e infine in modelli *in vivo*.

Nell'ambito del progetto europeo "NEWBONE" (FP6), volto a sviluppare un impianto osseo a base polimerica, il gruppo di ricerca BIOMAT ha concentrato la propria attività di ricerca sulle modificazioni della superficie dell'impianto per dotarlo sia di attività antibatterica e che di proprietà osteoconduttive: a tal fine, sono stati aggiunti alla matrice polisaccaridica (rispettivamente) nanoparticelle di argento e/o nano-idrossiapatite ottenendo costrutti bioattivi in grado di interagire con le cellule nella maniera desiderata.

Sono in corso di sviluppo anche sistemi a base di membrane polisaccaridiche nanocomposite per applicazioni topiche (es. ustioni, ulcere) con l'obiettivo di mantenere il tessuto idratato e allo stesso tempo esercitare attività antimicrobica.

Recentemente il gruppo di ricerca BIOMAT ha iniziato il coordinamento del progetto europeo "AnastomoSEAL" (FP7), con l'obiettivo di sviluppare una membrana bioattiva per la prevenzione della deiscenza anastomotica, una grave complicanza che può verificarsi dopo resezione chirurgica nella regione colo-rettale.

Attività gruppo BIOMAT

L'attività del gruppo BIOMAT dell'Università di Trieste verrà articolata essenzialmente sui punti 1, 3 e 7 delle attività del progetto. In dettaglio;

Attività 1). Il gruppo è attivo da molti anni nella preparazione di strutture tridimensionali per la coltura e l'espansione di cellule primarie e staminali. Tali strutture sono basate sull'utilizzo di biopolimeri (polisaccaridi) altamente biocompatibili, di basso costo e che vengono già prodotti rispettando gli standard GMP. L'esperienza del gruppo spazia dalla caratterizzazione completa (chimico-fisica e meccanica) delle materie prime e delle strutture tridimensionali, alla loro sterilizzazione terminale e al loro utilizzo sperimentale con diversi tipi cellulari e tessuti. In quest'ultimo campo sono state sviluppate e ottimizzate procedure per la valutazione delle attività cellulari all'interno delle matrici biopolimeriche stesse. L'enorme versatilità dei biopolimeri utilizzati e le possibilità offerte da una loro combinazione sinergica permette di ottenere strutture custom –made adattabili alle esigenze delle cellule o dei tessuti con cui vengono a contatto. A seconda della modalità di preparazione, le matrici biopolimeriche possono assumere la funzione di strutture tridimensionali stabili per supportare la crescita e il differenziamento cellulare post- o pre-impianto oppure, grazie alla reversibilità del processo di formazione, esse possono fungere da bireattori facilmente degradabili una volta raggiunta la maturazione cellulare ritenuta opportuna. In questo senso, il gruppo BIOMAT dell'Università di Trieste ha sviluppato scaffold nanocompositi tridimensionali contenenti idrossiapatite per l'ingegneria del tessuto osseo che sono già stati testati su cellule staminali mesenchimali e *in vivo*. Inoltre, il gruppo è attualmente in grado di produrre strutture flessibili, basate su combinazioni di biopolimeri di origine naturale, per la proliferazione e la stimolazione di colonociti e fibroblasti.

La flessibilità dei biopolimeri utilizzati permette inoltre una loro modificazione chimica indirizzata a decorarli con molecole segnale specifiche per la stimolazione cellulare e tissutale. In tal senso, il gruppo possiede le conoscenze per introdurre, sulla catena biopolimerica, strutture peptidiche di adesione (es. RGD) o oligosaccaridiche.

Attività 3). L'offerta formativa del gruppo BIOMAT dell'Università di Trieste si focalizza sull'approfondimento delle tematiche legate all'utilizzo dei biomateriali per l'ingegneria tissutale che coprono le attività wet bench e in vitro. Per quel che riguarda la prima attività, l'offerta si concentra sul fornire le competenze chimico-fisiche e ingegneristiche per la caratterizzazione estensiva dei biomateriali e la loro sterilizzazione. Per quel che riguarda l'offerta formativa per la caratterizzazione in vitro dei biomateriali, il gruppo mette a disposizione le competenze acquisite nel capo delle colture cellulari e tissutali su strutture di supporto tridimensionali sia in forma di idrogeli, compresa l'incapsulazione cellulare, che di scaffold rigidi che di membrane a diversa porosità.

Attività 7). Il gruppo BIOMAT di Trieste è disponibile per la fornitura di consulenze in outsourcing, in particolare a partner industriali, nel solca di una collaudata esperienza.

Publicazioni rilevanti

“The role of Galectin-1 in the interaction between chondrocytes and a lactose-modified chitosan” P. Marcon, E. Marsich, A. Vetere, P. Mozetic, C. Campa, I. Donati, F. Vittur, A. Gamini, S. Paoletti. *Biomaterials* 26, **2005**, 4975–4984.

“The aggregation of pig articular chondrocyte and synthesis of extracellular matrix by a lactose-modified chitosan” I. Donati, S. Stredanska, G. Silvestrini, A. Vetere., P. Marco, E. Marsich, P. Mozetic, A. Gamini, S. Paoletti, F. Vittur. *Biomaterials* 26, **2005**, 987–998.

“Alginate/lactose-modified chitosan hydrogels: A bioactive biomaterial for chondrocyte encapsulation.” E. Marsich, M. Borgogna, I. Donati, P. Mozetic, B. L. Strand, S. Gomez Salvador, F. Vittur, S. Paoletti *J Biomed Mater Res* 84a, **2008**, 364–376.

“Alginate/Hydroxyapatite Biocomposite For Bone Ingrowth: A Trabecular Structure With High And Isotropic Connectivity” G. Turco, E. Marsich, F. Bellomo, S. Semeraro, I. Donati, F. Brun, M. Grandolfo, A. Accardo, and S. Paoletti. *Biomacromolecules* 10, **2009**, 1575–1583.

“Non-cytotoxic Silver Nanoparticle-Polysaccharide Nanocomposites with Antimicrobial Activity” Andrea Travan, Chiara Pelillo, Ivan Donati, Eleonora Marsich, Monica Benincasa, Tommaso Scarpa, Sabrina Semeraro, Gianluca Turco, Renato Gennaro, and Sergio Paoletti. *Biomacromolecules* 10, **2009**, 1429–1435.

Surface Modification and Polysaccharide Deposition on BisGMA/TEGDMA Thermoset. Andrea Travan, Ivan Donati, Eleonora Marsich, Francesca Bellomo, Satish Achanta, Mila Toppazzini, Sabrina Semeraro, Tommaso Scarpa, Vittorio Spreafico, and Sergio Paoletti. *Biomacromolecules* 11, **2010**, 583–592.

Brevetti

Donati, I.; Marsich, E.; Paoletti, S.; *“Polymer mixtures of anionic and cationic polysaccharides and use thereof”*. Brevetto italiano No. PD2006A000202 con estensione PCT, Patent Application WO/2007/135116A1; US20090197832; EP2021408A1

Donati, I.; Marsich, E.; Paoletti, S.; *“Hydrogels of polysaccharides mixtures for tissue engineering and as carriers of active compounds”*. Brevetto italiano No. PD2006A000203 con estensione PCT, Patent Application WO/2007/135114A1; US20090202640; EP2021408A1; EP2029629B1

Donati, I.; Marsich, E., Travan, A.; Paoletti, S.; *“Nanocomposite materials based on metallic nanoparticles stabilized with branched polysaccharides”*. Deposito italiano No. PD2008A000219 con estensione PCT, Patent Application WO 2010/010122

Donati, I., Marsich, E., Travan, A.; Paoletti, S. *“Three-dimensional nanocomposite materials consisting of a polysaccharidic matrix and metallic nanoparticles, preparation and use thereof”*. Deposito italiano No. PD2008A000220 con estensione PCT, Patent Application WO 2010/010123

MARIA PIA HOSPITAL DEL GVM CARE & RESEARCH (IN BREVE GVM).

Villa Maria Pia Hospital is part of the **Villa Maria Group**, a holding company that operates in healthcare, research, biomedical industry, wellness spa and business services: the goal is to promote the well-being and quality of life. **Heart Group** is the integrated network of **High Specialty Hospitals, Polispecialistici and Day Surgery Clinic** with private: a network of facilities and professional skills that innervates several Italian regions and extends into France and Albania.

A long tradition, borrowed from a territory - Romagna - marked until a few decades ago by a network hospital, has led **Villa Maria Group** to establish itself as partner of the NHS and public as a center of excellence - in particular for the treatment of cardiovascular diseases - turning more and more of his attention to the dignity of the patient and reaching to devise diagnostic and surgical techniques less invasive, alongside treatment protocols tailored to the patient. **Villa Maria Group** invests heavily in technology to improve the quality of health care: the 1700 beds in total, 160 are intended for intensive care and resuscitation; these are flanked by 14 laboratories of hemodynamics, 5 linear accelerators for radiotherapy.

Considerable investment in diagnostics: in addition to the 10 MRI and 16 CT scans, **Villa Maria Group** is one of the few Italian cities that have the "Gamma knife", the so-called gamma knife, sophisticated equipment used for the non-invasive treatment (ie without surgery) of brain disease, especially cancer. Recently also the acquisition of a Tac-Pet, device that "reads" the cancer cells allowing a more complete diagnosis in cancer patients.

Villa Maria Pia Hospital partner

1 BIOMAT Research group

ACTIVITY DESCRIPTION	
<i>Biopolymers as biomaterials for applications in regenerative medicine</i>	
PROPONENT	Trieste University Life Science Department
LOCATION	Via Licio Giorgieri, 5 - 34127 TRIESTE
REFERENCES	biomat@units.it

The research group led by Prof. Sergio Paoletti (BIOMAT group) is currently engaged in various activities for the design of new biomaterials engineered for applications primarily in the fields of orthopedics, dentistry and internal surgery. These materials are typically based on biopolymers, in particular alginate, chitosan and hyaluronic acid. The materials developed, C.D. third generation, besides being themselves bioactive on cells and tissues of the plant, are the result of a molecular design aimed particularly to the delivery of cells, including stem.

The development of these biomaterials characterization is done through a parallel aspects of their material and biological properties resulting in a process of continuous feedback to optimize the overall performance. The materials are thus assessed on the basis of their chemical-physical, morphological and mechanical properties; the biological effects of the biomaterial are first tested in vitro on eukaryotic cells (cytotoxicity assay, proliferation, differentiation, ...) and of bacterial cells (efficacy antimicrobial, biofilm formation), and in in vivo models.

Within the European project "NEWBONE" (FP6), aimed at developing a bone implant polymer-based, the research group BIOMAT has focused its research on surface modifications of the system to provide it with both antibacterial activity and of osteoconductive properties: to that end, have been added to the polysaccharide matrix (respectively) nanoparticles of silver and / or nano-hydroxyapatite obtaining bioactive constructs able to interact with cells in the desired manner.

Systems based nanocomposite membranes polysaccharide for topical applications (eg burns, ulcers) with the objective of maintaining the hydrated tissue are also under development and at the same time exert antimicrobial activity.

Recently, the research group BIOMAT began the coordination of the European project "AnastomoSEAL" (FP7), with the aim of developing a bioactive membrane for the prevention of anastomotic leak, a serious complication that can occur after surgical resection in the region colorectal .

Relevant Publications

“The role of Galectin-1 in the interaction between chondrocytes and a lactose-modified chitosan” P. Marcon, E. Marsich, A. Vetere, P. Mozetic, C. Campa, I. Donati, F. Vittur, A. Gamini, S. Paoletti. *Biomaterials* 26, **2005**, 4975–4984.

“The aggregation of pig articular chondrocyte and synthesis of extracellular matrix by a lactose-modified chitosan” I. Donati, S. Stredanska, G. Silvestrini, A. Vetere, P. Marco, E. Marsich, P. Mozetic, A. Gamini, S. Paoletti, F. Vittur. *Biomaterials* 26, **2005**, 987–998.

“Alginate/lactose-modified chitosan hydrogels: A bioactive biomaterial for chondrocyte encapsulation.” E. Marsich, M. Borgogna, I. Donati, P. Mozetic, B. L. Strand, S. Gomez Salvador, F. Vittur, S. Paoletti *J Biomed Mater Res* 84a, **2008**, 364–376.

“Alginate/Hydroxyapatite Biocomposite For Bone Ingrowth: A Trabecular Structure With High And Isotropic Connectivity” G. Turco, E. Marsich, F. Bellomo, S. Semeraro, I. Donati, F. Brun, M. Grandolfo, A. Accardo, and S. Paoletti. *Biomacromolecules* 10, **2009**, 1575–1583.

“Non-cytotoxic Silver Nanoparticle-Polysaccharide Nanocomposites with Antimicrobial Activity” Andrea Travan, Chiara Pelillo, Ivan Donati, Eleonora Marsich, Monica Benincasa, Tommaso Scarpa, Sabrina Semeraro, Gianluca Turco, Renato Gennaro, and Sergio Paoletti. *Biomacromolecules* 10, **2009**, 1429–1435.

Surface Modification and Polysaccharide Deposition on BisGMA/TEGDMA Thermoset. Andrea Travan, Ivan Donati, Eleonora Marsich, Francesca Bellomo, Satish Achanta, Mila Toppazzini, Sabrina Semeraro, Tommaso Scarpa, Vittorio Spreafico, and Sergio Paoletti. *Biomacromolecules* 11, **2010**, 583–592.

Patents

Donati, I.; Marsich, E.; Paoletti, S.; “Polymer mixtures of anionic and cationic polysaccharides and use thereof”. Brevetto italiano No. PD2006A000202 con estensione PCT, Patent Application WO/2007/135116A1; US20090197832; EP2021408A1

Donati, I.; Marsich, E.; Paoletti, S.; “Hydrogels of polysaccharides mixtures for tissue engineering and as carriers of active compounds”. Brevetto italiano No. PD2006A000203 con estensione PCT, Patent Application WO/2007/135114A1; US20090202640; EP2021408A1; EP2029629B1

Donati, I.; Marsich, E., Travan, A.; Paoletti, S.; “Nanocomposite materials based on metallic nanoparticles stabilized with branched polysaccharides“. Deposito italiano No. PD2008A000219 con estensione PCT, Patent Application WO 2010/010122

Donati, I., Marsich, E., Travan, A.; Paoletti, S. “Three-dimensional nanocomposite materials consisting of a polysaccharidic matrix and metallic nanoparticles, preparation and use thereof“. Deposito italiano No. PD2008A000220 con estensione PCT, Patent Application WO 2010/010123

BIOMAT group activities

The group's activity BIOMAT University of Trieste will be divided mainly on points 1, 3 and 7 of the project activities. In detail;

Activity 1). The group has been active for many years in the preparation of three-dimensional structures for culturing and expansion of primary cells and stem. Such structures are based on the use of biopolymers (polysaccharides) highly biocompatible, of low cost and that are already produced in compliance with GMP standards. The experience of the group ranges from complete characterization (physico-chemical and mechanical) of raw materials and three-dimensional structures, their terminal sterilization and their experimental use with different cell types and tissues. In the latter field have been developed and optimized procedures for the evaluation of cellular activities within the

matrices biopolimeriche same. The enormous versatility of biopolymers used and the possibilities offered by their synergistic combination allows to obtain structures custom-made adaptable to the needs of the cells or tissues with which they come in contact. Depending on the mode of preparation, the matrices biopolimeriche can assume the function of three-dimensional structures stable to support the growth and cell differentiation post-or pre-installation or, thanks to the reversibility of the formation process, they may serve as bioreactors easily degradable. Once you reach the cellular maturation deemed appropriate. In this sense, the group BIOMAT University of Trieste has developed three-dimensional scaffold nanocomposites containing hydroxyapatite for bone tissue engineering that have already been tested on mesenchymal stem cells and in vivo. Furthermore, the group is currently capable of producing flexible structures, based on combinations of biopolymers of natural origin, for the proliferation and stimulation of colonocytes and fibroblasts.

The flexibility of biopolymers used also allows their chemical modification addressed to decorating them with specific signaling molecules to stimulate cell and tissue. In this sense, the group has the knowledge to introduce biopolimerica chain, peptide structures of Accession (eg RGD) or oligosaccharide.

Activity 3). The training group BIOMAT University of Trieste focuses on the deepening of the issues related to the use of biomaterials for tissue engineering activity covering the wet bench and in vitro. With regard to the first task, the offer focuses on providing the skills physico-chemical and engineering for extensive characterization of biomaterials and their sterilization. With regard to the provision of training for the in vitro characterization of biomaterials, the group provides the skills acquired in the head of the cell and tissue cultures of three-dimensional structures of support in the form of hydrogels, including cell encapsulation, which rigid scaffold that of membranes with different porosity.

Activity 7). The group BIOMAT of Trieste is available for providing expertise in outsourcing, particularly to industrial partners in the furrows of proven experience.

UNIGE

Breve descrizione dell'organizzazione e delle sue infrastrutture

Il Laboratorio di Medicina Rigenerativa diretto dal Prof. Cancedda, sia da parte del Dipartimento di Medicina Sperimentale (DIMES) dell'Università degli Studi di Genova e l'IRCCS AOU San Martino - IST Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova svolge attività di alta specializzazione nel settore della Ingegneria dei tessuti e medicina rigenerativa in conformità con la ricerca regionale e programmazione sanitaria in stretta connessione con i programmi di ricerca nazionali ed internazionali e le iniziative.

Il laboratorio Medicina Rigenerativa si trova a Genova nel Palazzo Centro di Biotecnologie Avanzate, nella zona della città / università Ospedale S. Martino e si estende su 500 metri quadrati. E 'completamente attrezzata per il lavoro sperimentale in biologia cellulare e molecolare. Attrezzature e servizi includono: la cultura avanzata dei tessuti e strutture istologia, attrezzature di biologia molecolare e in tempo reale PCR e microarray istituito, Cellula / tessuto attrezzature morfologiche studi nonché microscopi ottici, fluorescenza e deconvoluzione, strutture animali.

Scientific Background

Dalla metà degli anni '80 le condizioni di coltura sono stati sviluppati nel Laboratorio di Medicina Rigenerativa del DIMES (diretta dal prof. R. Cancedda) per l'espansione in vitro di cheratinociti umani e il loro impiego per la ricostruzione in vitro di epitelii trapiantabili (epidermide, mucosa uretrale , epitelio corneale). Nell'ambito di questa ricerca epitelii coltura sono stati utilizzati per la prima volta al mondo per ricostruire una nuova uretra in pazienti affetti da ipospadia gravi (New England Journal of Medicine, 1990). Inoltre, colta epitelii permesso la sostituzione dell'epitelio corneale in pazienti con ustioni drammatici alcalini (Lancet, 1994). Da allora, il Laboratorio è impegnato da diversi anni in progetti di progenitori mesenchimali isolate dallo stroma del midollo sia scienza di base e gli aspetti applicativi. I principali progetti di ricerca svolte hanno riguardato la biologia cellulare delle cellule stromali del midollo osseo (potenziale di differenziazione, plasticità, senescenza), biologia molecolare delle cellule stromali del midollo osseo (identificazione di geni espressi dai progenitori mesenchimali, l'identificazione di geni espressi e regolati durante il

differenziamento da progenitori mesenchimali), midollo stroma e il suo rapporto con l'ematopoiesi (microambiente del midollo, chemio-radioterapia tossicità). Successivamente l'attenzione del laboratorio si è spostata verso la rigenerazione e la riparazione dei tessuti scheletrici: cioè cartilagine e dell'osso, con l'aiuto delle cellule espanse ex vivo ottenuti rispettivamente da una biopsia di cartilagine articolare e da aspirato di midollo osseo e l'associazione di differenti biomateriali riassorbibili. Prendendo in considerazione l'esperienza acquisita con le indagini pre-cliniche che hanno dimostrato l'applicabilità di questo approccio il laboratorio ha iniziato per la prima volta al mondo uno studio clinico per la ricostruzione ossea in pazienti con difetti critici ossei segmentali a seguito di traumi gravi. Questa ricerca avviata nel giugno 1998 ei risultati sono stati pubblicati nel febbraio 2001 su New England Journal of Medicine. Attualmente il Laboratorio sta cercando di sviluppare nuovi protocolli e le procedure che considerano le cellule staminali mesenchimali derivate dal midollo osseo, adiposo o liquido amniotico come "medicinali" le cellule per riattivare meccanismo endogeno di rigenerazione per i tessuti scheletrici. Le cellule staminali mesenchimali, o terreni di coltura condizionato dalle cellule staminali mesenchimali, sono presentati al tessuto danneggiato associato a scaffold idonei e in alcuni casi insieme ad piastrine componenti derivati.

Precedente partecipazione a progetti R & S: In Unige passato è stato coordinatore o partner in numerosi progetti di ricerca finanziati da organismi internazionali e nazionali, tra cui la Commissione Europea, Nazionale e agenzie spaziali europea, organizzazioni di beneficenza, come AIRC e Telethon, Governo (Università, Sanità e Industria ministeri), dell'Università di Pittsburgh, Regione Liguria. In particolare in Europa 6 ° PQ e 7 ° PQ Unige è stato o è ancora partner del progetto Marie Curie "JOIN (a cura di) T", la Rete di Eccellenza "EXPERTISSUES", il progetto "Purstem", il progetto "Angioscaff" e il "GAMBA "progetto.

I progetti di ricerca attualmente svolta

Quello che segue è una descrizione dei principali progetti di ricerca attualmente svolte dal Laboratorio:

- 1) Biologia delle cellule staminali mesenchimali / progenitrici dal midollo osseo e altri tessuti connettivi tra cui anche liquido amniotico (differenziazione, plasticità, senescenza)
- 2) Biologia molecolare del liquido amniotico e mesenchimali derivate cellule staminali / progenitrici (identificazione di marcatori geni degli stadi di differenziazione precoce e di geni espressi durante la differenziazione cellulare)
- 3) Risposta dell'ospite a trapianto allogenico di cellule staminali in animali immunocompetenti
- 4) Ingegneria dei tessuti per la cartilagine e la riparazione ossea
 - (i) a. Attivi polimeri sintetici e naturali e co-polimeri che possono essere colonizzato da cellule condrogeniche ed impiantato. Idrogel iniettabili seminati con cellule condrogeniche e fattori di crescita.
 - (i) b. Scaffold a base di ceramica che possono essere colonizzati dalle cellule osteogeniche e impiantato. Riassorbibili bioceramiche porosi. Cocultures 3D deposito di ossa e ossa cellule riassorbimento
 - (ii) c. Riparazione e rigenerazione di cartilagine e tessuto osseo: modelli animali piccoli e grandi.
 - (iii) d. Analisi strutturale e biomeccanica dei tessuti ingegnerizzati.
 - (iv) e. Cartilagine e rigenerazione ossea: nuove indicazioni per l'impiego di tessuti ingegnerizzati in studi di fase I e di fase II clinici.
- 5) La nicchia ossea rigenerativa: infiammazione, attivazione piastrinica, l'angiogenesi, reclutamento di cellule endogene
- 6) La riparazione dei tessuti / rigenerazione da un approccio Medicina Rigenerativa. Induzione di endogeni rigenerativi / riparazione meccanismi. Ruolo dei componenti delle piastrine. Attivazione del processo per l'impianto di cellule staminali o trattamento con terreno condizionato di **cellule staminali. Adozione di scaffold bioattivi**

Principal Investigator:

Ranieri Cancedda, MD è un professore di Biologia Cellulare presso l'Università di Genova, Italia. Si serve anche come Capo del Laboratorio di Medicina Rigenerativa della AOU IRCCS San Martino-IST National Cancer Research Institute, Genova. Un 1969 magna cum laude laureato dell'Università degli Studi di Genova Facoltà Medica. Prof. Cancedda ha continuato a completare una formazione post-dottorato in Nigeria e negli Stati Uniti. E 'stato Professore Associato di Biologia Generale e Presidente del Dipartimento di Biochimica Cellulare e Molecolare, Facoltà di Medicina e Chirurgia 2, Università degli Studi di Napoli, Italia. A metà degli anni 80 si trasferisce a Genova, dove è stato Professore di Biologia Generale, Facoltà di Odontoiatria, Università degli Studi di Genova e Direttore Vice Scientific del Cancer Institute Nazionale dal 2001 al 2004. Egli è membro affiliato del Mc Gowan Institute for Regenerative Medicine, Pittsburgh University, USA

I principali campi di ricerca del Professor Cancedda possono essere riassunti come segue:

- Biologia molecolare e cellulare della cartilagine e dell'osso
- ingegneria dei tessuti e medicina rigenerativa del tessuto scheletrico
- Osteobiology in condizioni di microgravità

Il Prof. Cancedda ha trascorso la maggior parte della sua carriera professionale nello studio e sviluppo di metodi di ricostruzione dei tessuti che utilizzano cellule staminali, biomateriali e biomolecole attive, come i fattori di crescita e molecole angiogenici ed è considerato negli ambienti accademici come uno dei padri di ingegneria dei tessuti. E 'stato invitato come oratore principale e docente in molti congressi e meetings internazionali, è autore di oltre 270 pubblicazioni su riviste scientifiche e inventore di 7 brevetti.

Unige

Brief description of the organization and its infrastructure

The Laboratory of Regenerative Medicine directed by Prof. Cancedda, part of both the Department of Experimental Medicine (DIMES) of the Genova University and the IRCCS AOU San Martino – IST National Institute for Cancer Research, Genova carries out highly specialised activities in the field of Tissue Engineering and Regenerative Medicine in compliance with the regional research and health planning in close connection with national and international research programmes and initiatives.

The Regenerative Medicine laboratory is located in Genova in the Advanced Biotechnology Center Building, within the area of the city/university S. Martino Hospital and extends over 500 square meters. It is fully equipped for experimental work in cell and molecular biology. Equipments and facilities include: Advanced tissue culture and histology facilities, Molecular biology equipments as well as Real time PCR and Microarrays set up, Cell/tissue morphological studies equipments as well as optical, fluorescence and deconvolution microscopes, Animal facilities

Scientific Background

Since the mid 80's culture conditions have been developed in the Laboratory of Regenerative Medicine of the DIMES (directed by prof. R. Cancedda) for the in vitro expansion of human keratinocytes and their employment for in vitro reconstruction of transplantable epithelia (epidermis, urethral mucosa, corneal epithelium). Within this research cultured epithelia have been used for the first time in the world to reconstruct a new urethra in patients affected by severe hypospadias (New England Journal of Medicine, 1990). Furthermore, cultured epithelia allowed the substitution of corneal epithelium in patients with dramatic alkali burns (Lancet, 1994). Since then, the Laboratory has been involved for several years in projects involving mesenchymal progenitors isolated from the marrow stroma on both basic science and applicative aspects. The main research projects carried out have regarded cell biology of the bone marrow stromal cells (differentiation potential, plasticity, senescence), molecular biology of the bone marrow stromal cells (identification of genes expressed by mesenchymal progenitors, identification of genes expressed and regulated

during differentiation by mesenchymal progenitors), marrow stroma and its relationship with the hematopoiesis (marrow microenvironment, chemo-radiotherapy toxicity). Subsequently the attention of the Laboratory has moved towards the regeneration and repair of skeletal tissues: i.e. cartilage and bone, with the aid of cells expanded *ex vivo* derived respectively from a biopsy of articular cartilage and from bone marrow aspirate and the association of different reabsorbable biomaterials. Taking into consideration the experience built with pre-clinical investigations that showed the great applicability of this approach the laboratory began for the first time in the world a clinical trial to reconstruct bone in patients with critical bone segmental defects as a consequence of severe traumas. This research initiated in June 1998 and the results have been published in February 2001 on *New England Journal of Medicine*. Presently the Laboratory is trying to develop new protocols and procedures that will consider the mesenchymal stem cells derived from bone marrow, adipose or amniotic fluid as “medicinal” cells to reactivate endogenous mechanism of regeneration for the skeletal tissues. Mesenchymal stem cells, or culture medium conditioned by the mesenchymal stem cells, are presented to the damaged tissue associated to suitable scaffolds and in some cases together with platelet derived components.

Previous participation in R&D projects: In the past Unige has been coordinator or partner in several research projects funded by international and national agencies, including EU commission, National and European Space Agencies, Charities such as AIRC and Telethon, Government (University, Health and Industry ministries), University of Pittsburgh, Regione Liguria. In particular in the EU FP6 and FP7 Unige has been or still is partner in the Marie Curie project “JOIN(ed)T”, the Network of Excellence “EXPERTISSUES”, the “Purstem” project, the “Angioscaff” project and the “GAMBA” project.

Research projects presently carried on

The following is an outline of the main research projects presently carried on by the Laboratory:

- 1) Biology of mesenchymal stem/progenitor cells from bone marrow and other connective tissues including also amniotic fluid (differentiation, plasticity, senescence)
- 2) Molecular biology of mesenchymal and amniotic fluid derived stem/progenitor cells (identification of genes markers of the early differentiation stages and of genes expressed during cell differentiation)
- 3) Host response to allogeneic stem cell transplant in immunocompetent animals
- 4) Tissue engineering for cartilage and bone repair
 - a. Active synthetic and natural polymers and co-polymers that can be colonized by chondrogenic cells and implanted. Injectable hydrogels seeded with chondrogenic cells and growth factors.
 - b. Ceramic based scaffolds that can be colonized by osteogenic cells and implanted. Resorbable porous bioceramics. 3D cocultures of bone depositing and bone resorbing cells
 - c. Repair and regeneration of cartilage and bone tissue: small and large animal models.
 - d. Structural and biomechanical analysis of engineered tissues.
 - e. Cartilage and bone regeneration: new indications for the employment of engineered tissues in phase I and phase II clinical trials.
- 5) The bone regenerative niche: inflammation, platelet activation, angiogenesis, endogenous cell recruitment
- 6) Tissue repair/regeneration by a Regenerative Medicine approach. Induction of endogenous regenerative /repair mechanisms. Role of platelet components. Activation of the process by implantation of stem cells or treatment with stem cell conditioned medium. Adoption of bioactive scaffolds

Principal Investigator:

Ranieri Cancedda, M.D. is a Professor of Cell Biology at the University of Genova, Italy. He also serves as Head of the Laboratory of Regenerative Medicine of the IRCCS AOU San Martino-IST National Cancer Research Institute, Genova. A 1969 magna cum laude graduate of the University of Genova Medical School. Prof. Cancedda went on to complete a postdoctoral training in Nigeria and in the USA. He was Associate Professor of General Biology and Chairman, Department of Cellular and Molecular Biochemistry, 2nd Faculty of Medicine, University of Naples, Italy. In the middle of the 80's moved to Genova where he has been Professor of General Biology, Dental School, University

of Genova and Vice-Scientific Director of the National Cancer Institute from 2001 to 2004. He is Affiliate Member of the Mc Gowan Institute for Regenerative Medicine, Pittsburgh University, USA

Professor Cancedda's main research fields can be summarized as follows:

- *Molecular and cell biology of cartilage and bone*
- *Tissue engineering and regenerative medicine of skeletal tissue*
- *Osteobiology in microgravity*

Professor Cancedda has spent most of his professional career in studying and developing methods of tissue reconstruction using stem cells, biomaterials and active biomolecules such as growth factors and angiogenic molecules and is considered in academic circles as one of the forefathers of tissue engineering. He has been invited as keynote speaker and lecturer at many international congress and meetings, is the author of more than 270 publications in scientific journals and inventor in 7 patents.

Università di Torino-Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC)

L'Università di Torino è una tra le più antiche università italiane, offre un ampio panorama di Corsi di Laurea (oltre 190), di primo livello e specialistici, Master di primo e secondo livello e altre attività didattiche e formative. Nell'ambito dell'Università di Torino verranno coinvolti in questo progetto due centri: il Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC).

Nel Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC) si svolgono attività formative, di ricerca, di supporto alla ricerca (Centri di alta tecnologia) e di trasferimento tecnologico (Incubatore di idee imprenditoriali). Nel MBC operano gruppi di ricerca che già da anni collaborano tra di loro. I ricercatori che lavorano al MBC hanno esperienza nei campi della Biologia cellulare e molecolare, nella Chimica, nella Genetica molecolare e nell'Ematologia e di fatto le singole unità di ricerca sono già ampiamente coinvolte in attività nel campo delle biotecnologie e molte delle loro ricerche hanno portato al deposito di brevetti ed al loro sfruttamento pratico in collaborazione con numerose società interessate al loro sviluppo. Un'integrazione più intensa ed un continuo scambio di esperienze scientifiche sono il presupposto per l'evoluzione di una moderna ricerca che può portare come ricaduta ad applicazioni biotecnologiche negli argomenti di frontiera della conoscenza.

Il Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC) 5000 mq di laboratori a cui si aggiungono 400 mq di Cell Factory con 4 camere sterili per la manipolazione cellulare per la pratica clinica.

Per la sperimentazione preclinica abbiamo a disposizione uno stabulario di animali da esperimento, la manipolazione genetica a livello P3 in vitro e in vivo, l'imaging molecolare in vivo ed in vitro, la produzione di anticorpi poli e monoclonali, un servizio di istologia e centro cellule staminali, un'unità di bioinformatica.

Università di Torino-Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC)

L'Università di Torino è una tra le più antiche università italiane, offre un ampio panorama di Corsi di Laurea (oltre 190), di primo livello e specialistici, Master di primo e secondo livello e altre attività didattiche e formative. Nell'ambito dell'Università di Torino verranno coinvolti in questo progetto due centri: il Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC).

Nel Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC) si svolgono attività formative, di ricerca, di supporto alla ricerca (Centri di alta tecnologia) e di trasferimento tecnologico (Incubatore di idee imprenditoriali). Nel MBC operano gruppi di ricerca che già da anni collaborano tra di loro. I ricercatori che lavorano al MBC hanno esperienza nei campi della Biologia cellulare e molecolare, nella Chimica, nella Genetica molecolare e nell'Ematologia e di fatto le singole unità di ricerca sono già ampiamente coinvolte in attività nel campo delle biotecnologie e molte delle loro ricerche hanno portato al deposito di brevetti ed al loro sfruttamento pratico in collaborazione con numerose società interessate al loro sviluppo. Un'integrazione più intensa ed un continuo scambio di esperienze scientifiche sono il presupposto per l'evoluzione di una moderna ricerca che può portare come ricaduta ad applicazioni biotecnologiche negli argomenti di frontiera della conoscenza.

Il Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC) 5000 mq di laboratori a cui si aggiungono 400 mq di Cell Factory con 4 camere sterili per la manipolazione cellulare per la pratica clinica.

Per la sperimentazione preclinica abbiamo a disposizione uno stabulario di animali da esperimento, la manipolazione genetica a livello P3 in vitro e in vivo, l'imaging molecolare in vivo ed in vitro, la produzione di anticorpi poli e monoclonali, un servizio di istologia e centro cellule staminali, un'unità di bioinformatica.

University of Turin-Center for Molecular Biotechnologies (MBC)

The University of Turin is one of the oldest Italian universities, offers a wide panorama of degree courses (over 190), and first-level specialist, Master of first and second level and other educational activities. Within the University of Turin will be involved in this project two centers: the Center for Molecular Biotechnology (MBC).

In Molecular Biotechnology Center (MBC) held training activities, research, research support Centres (high technology) and technology transfer (incubator business ideas). In MBC operating research groups for years collaborated with each other. Researchers working at the MBC have experience in the fields of cell and molecular biology, in chemistry, in Molecular Genetics and hematology and in fact the individual research units are already extensively involved in activities in the field of biotechnology and many of their research has resulted in the filing of patents and their practical exploitation in collaboration with a number of companies interested in their development. A more intense and continuous exchange of scientific experience is a prerequisite for the evolution of a modern research that can lead to relapse as biotechnological applications in the arguments of the frontiers of knowledge.

The Center for Molecular Biotechnology (MBC) 5000 square meters of laboratories in addition to 400 square meters of Cell Factory with 4 bedrooms sterile for cell manipulation for clinical practice.

For the preclinical testing we have available a facility of experimental animals, genetic manipulation at the level P3 in vitro and in vivo molecular imaging in vivo and in vitro, the production of antibodies poly and monoclonal antibodies, a service center and histology stem cells, a unit of bioinformatics.

CNR Roma e Napoli

CNR, Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia, Roma.

L'Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia del CNR, con sede a Roma, è nato a dicembre 2010 dall'unione di gruppi di ricerca dell'INMM (Istituto di Neurobiologia e Medicina Molecolare), dell'IBC (Istituto di Biologia Cellulare) - entrambi fondati dal Premio Nobel Rita Levi Montalcini - e dell'Istituto di Neuroscienze, con l'obiettivo di superare le tradizionali barriere disciplinari e sviluppare un sistema innovativo di scambio tra ricercatori provenienti da differenti background scientifici. Le attività dell'Istituto sono rivolte alla ricerca di base nelle scienze biologiche e mediche e includono la neurobiologia, studi comportamentali, l'immunologia, la genetica e l'oncologia, per lo studio dei meccanismi molecolari che regolano le funzioni cellulari (proliferazione, differenziamento e morte cellulare). Particolare attenzione è dedicata allo studio dei fattori di crescita cellulare, dai recettori di membrana alle vie di trasduzione del segnale, con ricerche sulle patologie dello sviluppo e del differenziamento dei sistemi nervoso e muscolare. L'Istituto ospita la sezione italiana dell'infrastruttura europea EMMA (European Mouse Mutant Archive) per la produzione, preservazione e distribuzione internazionale di ceppi murini mutanti quali modelli in vivo di patologie genetiche e multifattoriali umane (www.emmanet.org - www.emma.cnr.it).

L'Istituto ha un'ampia e documentata esperienza nell'ambito delle culture cellulari, in particolare di cellule muscolari e nervose, e nello studio del differenziamento e della regolazione dell'espressione genica. Più recentemente l'IBCN ha sviluppato competenze nell'ambito dello studio delle cellule staminali e delle cellule iPS. Dal punto di vista tecnologico, i laboratori dell'IBCN sono perfettamente equipaggiati per l'analisi high throughput degli acidi nucleici (quantitative PCR e microarrays), per la citofluorimetria e per la microscopia confocale.

Nel progetto l'IBCN sarà in collaborazione con l'Istituto CNR di Genetica e Biofisica "Adriano Buzzati Traverso" di Napoli. L'IGB è stato fondato nel 1963 da Adriano Buzzati-Traverso, noto genetista e scienziato italiano. La missione dell'IGB è la ricerca in campo genetico delle macromolecole di interesse biologico, in organismi modello procariotici ed eucarioti tramite un approccio multidisciplinare integrato da studi morfologici e molecolari, strutturali e funzionali. In particolare, l'interesse dell'istituto verte su tre tematiche di ricerca: i. i meccanismi patogenetici delle malattie e la genetica umana; ii. la biologia dello sviluppo e delle cellule staminali, e iii. gli approcci molecolari e genetici alla

biologia di base. Di particolare rilevanza per questo progetto è l'impegno nello studio della biologia delle cellule staminali e dei progenitori cellulari con attenzione alle possibili applicazioni in medicina rigenerativa.

CNR Rome and Naples

CNR, Institute of Cell Biology and Neurobiology, Rome.

The Institute of Cell Biology and Neurobiology of CNR, based in Rome, was born in December 2010 by the union of the research groups of the INMM (Institute of Neurobiology and Molecular Medicine), IBC (Institute of Cell Biology) - both founded by Nobel Prize winner Rita Levi Montalcini - and the Institute of Neurosciences, with the aim to overcome the traditional disciplinary boundaries and develop an innovative system of exchange between researchers from different scientific backgrounds.

The Institute's activities are focused on basic research in the biological and medical sciences and include neurobiology, behavioral studies, immunology, genetics and oncology, the study of the molecular mechanisms that regulate cell functions (proliferation, differentiation and cell death). Particular attention is devoted to the study of cell growth factors from membrane receptors to signal transduction pathways, with research on diseases of the development and differentiation of the nervous and muscular systems.

The Institute is home to the Italian section of a European EMMA (European Mouse Mutant Archive) for the production, preservation, and international distribution of mutant mouse strains such as in vivo models of human genetic diseases and multifactorial (www.emmanet.org - www.emma.cnr.it).

The Institute has an extensive and proven experience in the field of cell culture, especially muscle and nerve cells, and in the study of differentiation and regulation of gene expression. More recently, the IBCN has developed expertise in the study of stem cells and iPS cells. From the technological point of view, IBCN laboratories are perfectly fitted for the high throughput analysis of nucleic acids (quantitative PCR and microarrays), for flow cytometry and confocal microscopy.

In IBCN the project will be in collaboration with the CNR Institute of Genetics and Biophysics "Adriano Buzzati Traverso" in Naples. The IGB was founded in 1963 by Adriano Buzzati-Traverso, known geneticist and an Italian scientist. The mission of IGB is the genetic research of biological macromolecules, in prokaryotic and eukaryotic model organisms through an integrated multidisciplinary approach to study morphological and molecular, structural and functional. In particular, the interest of the institute focuses on three research areas: i. the pathogenic mechanisms of diseases and human genetics, ii. developmental biology and stem cells, and iii. molecular and genetic approaches to basic biology. Of particular relevance to this project is the commitment to study the biology of stem cells and progenitor cells with attention to the potential applications in regenerative medicine.

Among the advanced technology platforms hosted at the IGB, is comprised of the Stem Cell Fate Lab (www.igb.cnr.it/scfl/). The SCF is equipped with a robotic platform for "high throughput screening" HTS Cellomics (Hamilton), a unit of innovative automation assembled in-house called Cell-Maker. This allows the standardization of time consuming tasks as microplate coating, planting, cleaning and changing means of cell culture; also is equipped with a multi-signal (fluorescence, chemiluminescence, and absorbance). Its configuration, including hardware (pipetting unit and integrated instrumentation) and software components, has been adapted to handle correctly the ES cells and driving their differentiation. The screening platform is able to process collections of compounds, such as chemical libraries (individual compounds or mixtures combinatorial) simultaneously.

POLITO (Politecnico di Torino)

Il Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale (DIMEAS) del Politecnico di Torino è la struttura di riferimento dell'Ateneo nell'area culturale che riguarda un ampio spettro di settori legati alle manifatture tipiche di una

società industriale avanzata, con attività che spaziano dai domini più classici a quelli di frontiera nelle aree della meccanica, dell'aeronautica e dell'ingegneria biomedica.

Il DIMEAS promuove, coordina e gestisce la ricerca fondamentale e quella applicata, la formazione, il trasferimento tecnologico e i servizi al territorio con riferimento agli ambiti autoveicolistico, aeronautico, ferroviario, tessile, agroalimentare, dell'esplorazione dello spazio, dell'ingegneria dei sistemi e dell'ingegneria biomedica.

Il gruppo di Bioingegneria Industriale, presso il Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale (DIMEAS), è costituito da tre Professori Ordinari, un Professore Associato e da un numero superiore a 24 tra dottorandi (PhD) e Post-doc. Il gruppo di Bioingegneria Industriale partecipa a programmi di ricerca nazionali e internazionali nel campo della ingegneria dei tessuti e della medicina rigenerativa, dei sistemi molecolari bioattivi, del design biomolecolare, della modellazione multiscala e multifisica applicata a sistemi biologici, artificiali e bioartificiali, della fluidodinamica cardiovascolare, della sintesi polimerica, del design e caratterizzazione di sistemi di drug delivery, della ideazione, realizzazione e sviluppo di bioreattori attivi.

Le strutture di ricerca del gruppo sono articolate in due unità principali, una orientata a studi di biomeccanica sperimentale e computazionale e una orientata allo studio di biomateriali e bionanotecnologie, attraverso diversi tipi di attività sperimentali.

Il gruppo dispone di diversi codici commerciali e opensource nel campo della fluidodinamica computazionale (Fluent, OpenFoam), meccanica e dinamica molecolare (Hyperchem, Gromacs, Material Studio), codici multiphysics (COMSOL), matematica (Matlab, Mathematica), meccanica strutturale (Abaqus, Ansys, Nastran), size and shape optimization (OPTISTAT), analisi delle immagini (IMAGE PRO PLUS).

Le attrezzature hardware includono: un cluster SUN costituito da 1 rack quad core Workstation SunFire X4450 e sei Quad-core rack workstations SunFire X4450 per un totale di 106 CPU; un Nanoindenter/Nanoscratch Testing System per la caratterizzazione di superfici con una risoluzione del nanometro; bioreattori per applicazioni di ingegneria tessutale.

Il gruppo beneficia anche di risorse di calcolo dal consorzio CILEA in base ad un accordo ufficiale tra il DIMEAS e il CILEA. Inoltre il gruppo di bioingegneria industriale è dotato di un laboratorio sperimentale con le seguenti apparecchiature: cromatografo per esclusione molecolare (HPLC 1200 Series, Agilent Technologies); calorimetro differenziale a scansione (Spectrum100, Perkin Elmer); analizzatore di nano particelle (Zetasizer Nano S90, Malvern Instruments); spettrofotometro UV/Vis (Lambda 25, Perkin Elmer); fluorimetro (LS55, Perkin Elmer); microscopio elettronico a scansione (VP 1400 Series, LEO Instruments); Freeze dryer (Coolsafe, Scanvac), strumentazione per sensorizzazione e controllo di bioreattori, pompe, filtri e dispositivi per circuiti biofluidodinamici.

Negli ultimi 5 anni il gruppo ha contribuito alla ricerca scientifica con più di 100 articoli peer reviewed su riviste internazionali, invited review su international books e più di 80 presentazioni a conferenze internazionali.

Di seguito sono elencati i brevetti del gruppo:

Patent No.	Designated States	Title
03078293.2-2318, 724889 EUROPAT	AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI NL PT SE	A device for the pulsed pumping of liquids, particularly blood
2.168.836	Canada	A device for the pulsed pumping of liquids, particularly blood
5.728.069	USA	A device for the pulsed pumping of liquids, particularly blood
283850 EUROPAT	DE, FR, UK, SP	Device for the extra-corporeal oxygenation of blood and for cardiovascular assistance
170294	Denmark	Indretning til cirkulation af blod uden for legemet ved kardiovaskulaer assistance
1202689	Italy	Procedimento e dispositivo per ECC del sangue e per assistenza cardiovascolare
1.317.843	Canada	Method and device for the ECC of blood and for

		cardiovascular assistance
5.110.548	USA	Apparatus for concurrently oxygenating and pumping blood ECC in cardiovascular systems
US 2006/0089722 A1	USA	Bone Prosthesis with Multilayer Interface
TO 2007 A 000880	Italy	Dispositivo di sutura per un tendine o un legamento
PCT/IT2012/000090	International	Microgravity Generating Device
N.PCT/IB2011/053787	International	Dispositivo protesico impiantabile e procedimento di solvent casting per la fabbricazione
TO 2011 A 000549	Italy	Cemento polimerico biomimetico e biodegradabile

POLITO (Politecnico of Turin)

The Department of Mechanical and Aerospace (DIMEAS) of the Polytechnic of Turin is the frame of reference of the University in the cultural area that covers a broad spectrum of areas related to manufacturing typical of an advanced industrial society, with activities ranging from the domains more classics to the border areas of mechanics, aeronautics, and biomedical engineering.

The DIMEAS promotes, coordinates and manages the basic research and applied research, training, technology transfer and services to the area with reference to the areas of automotive, aviation, railway, textile, food, space exploration, systems engineering and Biomedical Engineering.

The group of Industrial Bioengineering, Department of Mechanical and Aerospace (DIMEAS), consists of three Professors, one Associate Professor and a number of more than 24 doctoral students (PhD) and Post-doc. The group of Industrial Bioengineering participates in national and international research programs in the field of tissue engineering and regenerative medicine, molecular bioactive systems, design biomolecular modeling of multiscale and multiphysics applied to biological systems, artificial and bioartificial, cardiovascular fluid dynamics of polymer synthesis, design and characterization of drug delivery systems, the design, layout and development of bioreactors active.

The research facilities of the Group are divided into two main units, one directed to studies of experimental and computational biomechanics and oriented towards the study of biomaterials and bionanotechnology, through a variety of experimental activities.

The group has different commercial and open source in the field of CFD (Fluent, OpenFOAM), mechanics and molecular dynamics (HyperChem, Gromacs, Material Studio), multiphysics code (COMSOL), mathematics (Matlab, Mathematica), structural analysis (Abaqus, Ansys, Nastran), size and shape optimization (OPTISTAT), image analysis (IMAGE PRO PLUS).

Hardware equipment include: A cluster consists of one rack SUN Workstation SunFire X4450 quad core and six Quad-core workstations SunFire X4450 rack for a total of 106 CPU, a nanoindenter / Nanoscratch Testing System for the characterization of surfaces with nanometer resolution; bioreactors for tissue engineering applications. The group also benefits from computing resources from the CILEA consortium on the basis of a formal agreement between the DIMEAS and CILEA. Furthermore, the group of industrial bioengineering is equipped with an experimental laboratory with the following equipment: for molecular exclusion chromatograph (HPLC 1200 series, Agilent Technologies); differential scanning calorimeter (Spectrum100, Perkin Elmer); analyzer nano particles (Zetasizer Nano S90, Malvern Instruments); spectrophotometer UV / Vis (Lambda 25, Perkin Elmer); fluorimeter (LS55, Perkin Elmer); scanning electron microscope (VP 1400 Series, LEO Instruments); Freeze dryer (CoolSAFE, Scanvac), instrumentation for sensing and control bioreactors, pumps, filters and devices for circuits biofluidodinamici.

Over the past 5 years the group has contributed to scientific research with more than 100 peer-reviewed articles in international journals, invited review of international books and more than 80 presentations at international conferences.

Listed below are the patents of the group:

Patent No.	Designated States	Title
03078293.2-2318, 724889 EUROPAT	<i>AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI NL PT SE</i>	<i>A device for the pulsed pumping of liquids, particularly blood</i>
2.168.836	<i>Canada</i>	<i>A device for the pulsed pumping of liquids, particularly blood</i>
5.728.069	<i>USA</i>	<i>A device for the pulsed pumping of liquids, particularly blood</i>
283850 EUROPAT	<i>DE, FR, UK, SP</i>	<i>Device for the extra-corporeal oxygenation of blood and for cardiovascular assistance</i>
170294	<i>Denmark</i>	<i>Indretning til cirkulation af blod uden for legemet ved kardiovaskulaer assistance</i>
1202689	<i>Italy</i>	<i>Method and device for ECC of the blood and for cardiovascular assistance</i>
1.317.843	<i>Canada</i>	<i>Method and device for the ECC of blood and for cardiovascular assistance</i>
5.110.548	<i>USA</i>	<i>Apparatus for concurrently oxygenating and pumping blood ECC in cardiovascular systems</i>
US 2006/0089722 A1	<i>USA</i>	<i>Bone Prosthesis with Multilayer Interface</i>
TO 2007 A 000880	<i>Italy</i>	<i>Suturing device for a tendon or a ligament</i>
PCT/IT2012/000090	<i>International</i>	<i>Microgravity Generating Device</i>
N.PCT/IB2011/053787	<i>International</i>	<i>Implantable prosthetic device and solvent casting process for the manufacture</i>
TO 2011 A 000549	<i>Italy</i>	<i>Biomimetic and biodegradable polymer concrete</i>

UNIMI (Università degli Studi di Milano)

UNIMI (Università degli Studi di Milano)

L'Università degli Studi di Milano partecipa al progetto con 2 unità:

- 1) Scuola di Specializzazione in Chirurgia Plastica Università degli Studi di Milano
U.O.C. di Chirurgia della Mano - H San Giuseppe Milano / IRCCS MultiMedica
Direttore Prof Giorgio Pajardi

L'attività chirurgica e ambulatoriale è articolata su 22 sale operatorie e 220 ore di ambulatorio alla settimana, con una casistica annuale di 6.800 interventi chirurgici

Patologia pediatrica: malformazioni congenite dell'arto superiore e inferiore (sindattilia, simbrachidattilia, polidattilia, agenesie, camptodattilia, epidermolisi bollosa, ipoplasie, artrogriposi ecc), sindrome da costrizione, patologia

traumatica. Patologie di polso: fratture, pseudoartrosi, lussazioni, lesioni legamentose, artrosi. Patologie del sistema nervoso: paralisi di plesso traumatiche ed ostetriche, sindromi compressive del sistema nervoso periferico (sd del tunnel carpale, compressione del nervo ulnare al gomito ed al Guyon, outlet toracico).

Emiplegia: paresi spastiche in esiti di ictus, traumi e Paralisi Cerebrali Infantili. Microchirurgia: reimpianti degli arti superiori e inferiori, ricostruzioni complesse con lembi liberi in patologie post-traumatiche, metaboliche o infettive. Patologie infiammatorie: dita a scatto, morbo di De Quervain, epicondilita, tenosinoviti. Morbo di Dupuytren: trattamento con collagenasi o chirurgico.

La nostra U.O.C. dispone inoltre di un Servizio di riabilitazione specialistico dedicato

L'organico è così composto:

Chirurghi: 7 strutturati e 8 specializzandi

Terapisti: 18 fisioterapisti e 8 terapisti occupazionali

Amministrative: 1 coordinatrice universitaria, 1 coordinatrice di reparto, 10 amministrative

SEDE SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN CHIRURGIA PLASTICA RICOSTRUTTIVA ED ESTETICA –
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

OSPEDALE SAN GIUSEPPE

Via San Vittore 26 – 20123 Milano

0224209683 – graziella.nichetti@multimedica.it

UNIMI (University of Milan)

The University of Milan takes part in the project with 2 units:

1) School of Plastic Surgery, University of Milan

U.O.C. Surgery of the Hand - H St. Joseph Milano / IRCCS MultiMedica

Director Prof Giorgio Pajardi

The activity is organized and ambulatory surgical operating rooms of 22 and 220 clinic hours per week, with an annual series of 6,800 surgical procedures

Pediatric disease: congenital malformations of the upper and lower limb (syndactyly, simbrachidattilia, polydactyly, agenesis, camptodactyly, epidermolysis bullosa, hypoplasia, arthrogryposis, etc.), constriction syndrome, traumatic pathology. Pathologies of wrist: fractures, pseudoarthrosis, dislocations, ligament injuries, osteoarthritis. Nervous system disorders: traumatic plexus palsy and midwives, compressive syndromes of the peripheral nervous system (sd carpal tunnel syndrome, compression of the ulnar nerve at the elbow and the Guyon, thoracic outlet).

Hemiplegia: results of spastic paresis in stroke, trauma and cerebral palsy.

Microsurgery: replanting of upper and lower limbs, complex reconstructions with free flaps in post-traumatic disorders, metabolic or infectious.

Inflammatory diseases: trigger finger, De Quervain's disease, epicondylitis, tenosynovitis. Dupuytren's disease: collagenase treatment or surgery.

Our U.O.C. There is also a dedicated specialist rehabilitation service

The number of employees is as follows:

Surgeons: 7 and 8 structured graduate

Therapists: 18 8 physiotherapists and occupational therapists

Administrative Coordinator 1 university, 1 coordinator of the department, 10 administrative

ISMETT

Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione (ISMETT) è il primo ospedale in Italia progettato e realizzato esclusivamente per le attività di trapianto e cura delle insufficienze terminali di organi vitali. Presso l'Istituto, che ha avviato la sua attività clinica nel 1999, si eseguono oggi tutti i tipi di trapianto di organi solidi (fegato, rene, pancreas, cuore e polmone), sia in pazienti adulti che - nel caso di fegato, rene e polmone - su pazienti pediatrici.

ISMETT nasce come progetto di sperimentazione gestionale (art. 9 bis DL 502/92) nel 1997, grazie ad una partnership tra la Regione Siciliana, attraverso le Aziende Ospedaliere di Palermo "ARNAS Civico" e "Vincenzo Cervello", ed UPMC (University of Pittsburgh Medical Center). L'Istituto fa parte del Sistema Sanitario Regionale della Sicilia (SSR), al pari di qualsiasi altra struttura ospedaliera pubblica. Grazie a team di specialisti e al continuo trasferimento di conoscenze dall'Università di Pittsburgh sono stati raggiunti risultati in linea con i migliori centri trapianti, che hanno consentito ad Ismett di diventare un centro riconosciuto e apprezzato a livello internazionale.

ISMETT rappresenta il risultato di un progetto di partenariato pubblico-privato che ha dimostrato come la collaborazione e il partenariato tra l'esigenza pubblica di fornire salute a tutti i cittadini e le capacità di gestione e organizzative di un partner privato internazionale leader nella specialità quale UPMC possano dare risultati di eccellenza anche in contesti difficili come quello siciliano, con impatti significativi anche sull'economia e sull'immagine della Regione e del resto del Paese.

ISMETT è la prima struttura ospedaliera del Sud Italia ad aver ottenuto l'accreditamento da parte della Joint Commission International, riconoscimento dell'impegno dell'Istituto verso un processo di eccellenza della cura perseguito in tutti questi anni, sia sul piano dei risultati clinici sia sul fronte organizzativo, gestionale e della ricerca.

Nel corso dell'attività di ISMETT è divenuto sempre più evidente che i trapianti d'organo non possono essere l'unica risposta terapeutica alle insufficienze terminali di organi vitali. Infatti, se i trapianti forniscono ottimi risultati clinici, lo squilibrio tra disponibilità e necessità di organi è tale che diventa indispensabile identificare altre strategie terapeutiche. A partire dal 2006, ISMETT ha intensificato il proprio impegno nella ricerca biomedica clinica e di base e nello sviluppo di nuove tecnologie e terapie avanzate come alternativa al trapianto. Presso ISMETT sono stati realizzati i primi laboratori di produzione cellulare della Sicilia, operanti secondo le norme di buona fabbricazione (Good Manufacturing Practices) e interamente dedicati allo sviluppo di approcci innovativi di terapia cellulare. Inoltre i laboratori di ricerca preclinica rappresentano una realtà unica in Sicilia e una delle poche presenti nel centro-sud dove vengono perfezionate nuove strategie diagnostiche e terapeutiche. E' da rilevare che per le sue caratteristiche peculiari ISMETT costituisce un centro ideale per lo sviluppo di progetti di ricerca traslazionale in campo biomedico, e di medicina rigenerativa in particolare, dal momento che può portare in clinica i prodotti dell'attività di laboratorio a causa della tipologia assai selezionata dei pazienti trattati. Per tale motivo ISMETT fa parte del network europeo EATRIS di infrastrutture per le terapie avanzate.

Nell'ambito progettuale ISMETT può contare su:

- **Unità di Medicina Rigenerativa e Tecnologie Biomediche**, facente parte del Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Biotecnologie Avanzate nell'ambito del quale viene supportata dal Laboratorio di Patologia Clinica, Microbiologia e Virologia di ISMETT che copre la diagnostica di biochimica clinica, immunologia clinica, citofluorimetria, microbiologia sierologia e virologia molecolare. L'Unità comprende

- **Laboratori Sperimentali**: attrezzati per studi di biologia cellulare, immunologia sperimentale, biologia molecolare, molecular cloning, proteomica e genomica.
- **GMP Facility**, per produzione di prodotti cellulari a scopo terapeutico. E' suddiviso in 3 laboratori indipendenti, di cui uno a pressione negativa per permettere la manipolazione anche di campioni infetti.
- **Laboratorio di Controllo Qualità e Microbiologia**, per l'effettuazione dei controlli di qualità attestanti la sterilità e i requisiti di qualità ed efficacia dei prodotti cellulari per uso clinico. Il laboratorio effettua anche i controlli microbiologici ambientali necessari per attestare la classe dei laboratori GMP. E' corredato anche da una unità di irradiazione cellulare necessaria per protocolli di immunoterapia adottiva.

- **Laboratorio di Ricerca Preclinica e Chirurgia Sperimentale.** Il Laboratorio sviluppa attualmente modelli di chirurgia sperimentale e patogenetici sul grande animale (maiale) riguardanti le patologie epatiche e polmonari. E' in fase di costruzione - coordinata dalla Fondazione RiMED in accordo con ISMETT, Istituto Zootecnico e Istituto Zooprofilattico della Sicilia - l'**Istituto di Sperimentazione Preclinica e Molecular Imaging**, progetto vincitore di un finanziamento PON-MIUR per attività infrastrutturali. L'Istituto sarà dotato di stabulario per animali di piccola e grossa taglia patogen-free, laboratori di biologia cellulare e molecolare, area molecular imaging e aree di chirurgia sperimentale.

L'attività di ISMETT nel campo della Medicina Rigenerativa è supportata anche dalla Fondazione RiMED sia attraverso personale di ricerca che fondi specificamente dedicati ai progetti in corso.

Al momento attuale le principali aree di ricerca e sviluppo dell'Unità di Medicina Rigenerativa e Tecnologie Biomediche nel campo delle terapie cellulari riguardano:

- Protocolli di immunoterapia adottiva nei confronti di infezioni virali post-trapianto e di tumori
- Applicazioni di cellule fetali (da placenta, organo-specifiche) per programmi di rigenerazione/riparazione epatica e della cute
- Utilizzo di cellule staminali mesenchimali di varia origine per il trattamento di patologie infiammatorie croniche del fegato e del polmone

ISMETT

Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione (ISMETT) is the first hospital in Italy designed and built exclusively for the activities of transplantation and treatment of end-stage failure of vital organs. At the Institute, which launched its clinical activity in 1999, is today perform all types of solid organ transplant (liver, kidney, pancreas, heart and lung) in adult patients, and - In the case of liver, kidney and lung - in pediatric patients.

ISMETT is a project for experimental management (Article 9 bis of Law Decree 502/92) in 1997, thanks to a partnership between the Region of Sicily, through the hospitals of Palermo "ARNAS Civic" and "Vincent Brain," and UPMC (University of Pittsburgh Medical Center). The Institute is part of the Regional Health System of Sicily (SSR), like any other public hospital. With a team of specialists and the continuous transfer of knowledge from the University of Pittsburgh results were achieved in line with the best transplant centers, which allowed Ismett to become a center recognized and appreciated internationally.

ISMETT is the result of a proposed public-private partnership that has demonstrated how collaboration and partnership between the need to provide public health of all citizens and the ability of management and organization of a private partner leading international specialties such as UPMC can give excellent results even in difficult situations such as Sicily, with significant impacts on the economy and the image of the region and the rest of the country. ISMETT is the first hospital in Southern Italy to be awarded accreditation by the Joint Commission International, recognizing commitment of the Institute towards a process of excellence care pursued in all these years, both in terms of clinical outcomes both in terms of organization, management and research.

During the course of ISMETT has become increasingly evident that organ transplants can not be the only therapeutic response to end-stage failure of vital organs. In fact, if the transplants provide excellent clinical results, the imbalance between availability and need for organs is such that it becomes essential to identify other therapeutic strategies. Since 2006, ISMETT has intensified its efforts in basic and clinical biomedical research and development of new technologies and advanced therapies as an alternative to transplantation. ISMETT were made at the first laboratories of cellular production of Sicily, operating according to good manufacturing practices (Good Manufacturing Practices) and entirely dedicated to the development of innovative approaches to therapy phones. In addition, preclinical research laboratories represent a unique situation in Sicily and one of the few in the south-central where are improved, new diagnostic and therapeutic strategies. It 'should be noted that for its peculiar characteristics ISMETT constitutes an ideal center for the development of translational research projects in the biomedical field, and regenerative medicine in particular, since it can bring in clinical products of the laboratory due the type of highly selected patients. For this reason ISMETT is part of the European network EATRIS infrastructure for advanced therapies.

Within the project ISMETT can count on:

- *Units of Regenerative Medicine and Biomedical Technologies, part of the Department of Laboratory Medicine and Advanced Biotechnologies in which is supported by the Laboratory of Clinical Pathology, Microbiology and Virology ISMETT covering bichimica clinical diagnostics, clinical immunology, flow cytometry, microbiology, serology and molecular virology. The unit includes*
 - *Experimental Laboratory: equipped for the study of cell biology, immunology, experimental, molecular biology, molecular cloning, proteomics and genomics.*
 - *GMP Facility, for production of cellular products for therapeutic purposes. E 'divided into 3 independent laboratories, including one in negative pressure to allow the manipulation of samples also infected.*
 - *Quality Control Laboratory and Microbiology, for performing quality control and sterility requirements attesting to the quality and effectiveness of cellular products for clinical use. The laboratory also carries out microbiological*

environmental controls necessary to certify the class of GMP laboratories. It 'also accompanied by a unit of irradiation necessary for cellular adoptive immunotherapy protocols.

• Laboratory of Preclinical Research and Experimental Surgery. The Laboratory is currently developing models and pathogenesis of experimental surgery on large animal (pig) on the liver and lung. E 'under construction - coordinated by the Foundation in accordance with rimed ISMETT Livestock Institute and Institute Zooprofilattico of Sicily - the Institute of Experimental Preclinical and Molecular Imaging, winning project funding PON-MIUR for infrastructure activities. The Institute will be equipped with enclosures for animals of small and large size patogen-free, cellular and molecular biology laboratories, molecular imaging area and areas of experimental surgery.

The activity of ISMETT in the field of Regenerative Medicine is also supported by the Foundation rimed and through personal research funds specifically dedicated to ongoing projects.

At present the main areas of research and development Unit Regenerative Medicine and Biomedical Technologies in the field of cell therapy include:

- protocols of adoptive immunotherapy against viral infections post-transplant and cancer*
- Applications of fetal cells (from placenta, the organ-specific) programs for regeneration / repair liver and skin*
- Use of mesenchymal stem cells of various origins for the treatment of chronic inflammatory diseases of the liver and lung*

Chiesi Farmaceutici

Chiesi Farmaceutici ha recentemente inaugurato un moderno centro ricerche a Parma, in cui raccoglie tutte le discipline necessarie per lo sviluppo di farmaci, dalla ricerca chimica, alla farmacologia, galenica, clinica ed affari regolatori.

Con i suoi oltre 22.000 mq, 181 uffici, 254 laboratori e 2 officine produttive in GMP, in cui operano oltre 350 persone, è dotato di moderne tecnologie e di un efficiente organizzazione secondo i più elevati standard qualitativi.

Per entrare nel campo delle Terapie Avanzate, Chiesi ha scelto di collaborare con l'Università di Modena e Reggio Emilia ed i suoi ricercatori esperti nel campo delle cellule staminali epiteliali con la creazione di Holostem Terapie Avanzate Srl, uno spin-off universitario sito presso il Centro di Medicina Rigenerativa "Stefano Ferrari" dell'Università di Modena e Reggio Emilia (CMR).

Holostem ha per oggetto sociale la ricerca, lo sviluppo, la produzione e la commercializzazione di farmaci per terapia avanzata e gestisce l'officina produttiva in GMP del CMR.

La Mission di Holostem è di portare ai pazienti soluzioni efficaci per problemi medici gravi, dove il ricorso alla medicina rigenerativa risulta essere l'unica o la migliore alternativa terapeutica (tale quindi da giustificare il ricorso), attraverso eccellenza scientifica ed etica.

Il Gruppo Chiesi è da anni impegnato nel settore delle patologie rare e di nicchia, dove tra il resto ha raggiunto la posizione di leadership a livello mondiale con Curosurf, surfattante sintetico per la sindrome da distress respiratorio del neonato prematuro sviluppato in collaborazione col Karolinska Institutet di Stoccolma.

Nel settore delle malattie respiratorie inoltre Chiesi vanta una pluriventennale esperienza nello sviluppo di nuove molecole e formulazioni e nella progettazione di nuovi dispositivi di somministrazione e loro combinazione con i principi attivi.

L'aggiunta di Holostem al Gruppo completa la gamma di expertise a disposizione dello sviluppo di un nuovo armamentario terapeutico per compiere balzi significativi nella cura di patologie gravi ed invalidanti.

Chiesi utilizza metodi formativi completi per la formazione del personale, da corsi specifici organizzati internamente con personale docente interno, a corsi organizzati dall'azienda erogati da fornitori esterni convenzionati, all'iscrizione corsi specialistici "ad hoc", per finire con l'affiancamento sul lavoro ed il training "on the job".

Chiesi Farmaceutici

Chiesi has recently opened a modern research center in Parma, which includes all the activities necessary for the development of drugs from research chemistry, pharmacology, Galen, clinical and regulatory affairs.

With more than 22,000 square meters, 181 offices, 254 laboratories and 2 manufacturing factories in GMP, where there are over 350 people, is equipped with modern technologies and an efficient organization to the highest quality standards.

To enter the field of advanced therapies, Chiesi has chosen to collaborate with the University of Modena and Reggio Emilia and its experienced researchers in the field of epithelial stem cells by creating Holostem Advanced Therapies Srl, a spin-off site at the Centre for Regenerative Medicine "Stefano Ferrari" of the University of Modena and Reggio Emilia (CMR).

Holostem corporate object is research, development, production and marketing of drugs for advanced therapy and manages the GMP production workshop of CMR. The Mission of Holostem is to bring effective solutions to patients to serious medical problems, where the use of regenerative medicine is to be the only or the best therapeutic option (this therefore justifies the application), through scientific excellence and ethics.

Chiesi has for years been engaged in the field of rare and niche diseases, where among other things he reached the position of global leadership with Curosurf, synthetic surfactant for respiratory distress syndrome in the premature neonate developed in collaboration with Karolinska Institutet Stockholm.

In the field of respiratory diseases Chiesi also has more than twenty years experience in the development of new molecules and formulations and in the design of new delivery devices and their combination with the active ingredients.

The addition of Group Holostem complete the range of expertise available to the development of a new therapeutic armamentarium to accomplish significant leaps in the treatment of serious diseases and disabling.

Chiesi usesfull training methods for the training of personnel, specific courses organized internally with internal teaching staff, and courses organized by the company and provided by external suppliers, enrollment in specialist "ad hoc" courses ", ending with the coaching in the workplace and training "on the job".

7) RESPONSABILE DEL PROGETTO

Dati anagrafici, titolo di studio, rapporti con l'impresa richiedente. Esperienza in relazione al sistema produttivo e scientifico. Allegare, inoltre, in separata sezione il relativo curriculum vitae in formato euro pass (max 5 pag.)

7) RESPONSIBLE FOR THE PROJECT

Personal data, education, business with the applicant. Experience in relation to the production system and scientific. Attach also a separate section in its curriculum vitae euro pass (max 5 p.)

8) OBIETTIVI, ATTIVITÀ E TEMPISTICA

8.1 STRUTTURA DEL PRODOTTO/PROCESSO/SERVIZIO

8.1.1 Descrizione del servizio offerto dall'IRMI e della struttura organizzativa

Scopo del servizio erogato dall'IRMI sarà quello di supportare tutti i partners del consorzio durante l'iter di sviluppo ed approvazione di prodotti innovativi di Medicina Rigenerativa, facilitando il complicato processo di traslazione dei risultati dalla ricerca scientifica alla pratica clinica.

A tal fine, l'infrastruttura lavorerà a stretto contatto con i soggetti consorziati che richiedano assistenze specifiche, sia, ove possibile, fornendo loro direttamente la soluzione richiesta, sia ponendoli in contatto con partners in grado di sviluppare per loro un determinato processo, o condurre una determinata ricerca. L'IRMI, inoltre, fornirà consulenze in tema di interpretazione normativa aggiornandosi costantemente su quanto disposto nel settore, anche a livello internazionale. Tale supporto consentirà ai consorziati di avviare le proprie ricerche, o processi produttivi, senza dispersione né di tempo, né di risorse, avendo già chiari i requisiti "legali" che il prodotto dovrà soddisfare.

Nel breve-medio termine, l'IRMI intende aprire il proprio servizio anche a soggetti terzi che decidano di entrare nel campo della medicina rigenerativa, e che richiedano supporto anche solo per una singola fase dell'iter produttivo. La rete di contatti che l'IRMI creerà nel tempo, unita alla profonda conoscenza normativa acquisita, renderanno il consorzio un'imprescindibile crocevia per ogni nuova impresa che intenda cominciare la propria attività di produzione di prodotti per terapie avanzate in Italia. Concretamente, infatti, l'IRMI sarà in grado sia di facilitare l'insediamento della nuova impresa sul territorio, mettendola in contatto con le realtà già attive nel settore, sia di armonizzarne l'attività con quella degli altri partners del consorzio, incanalandola in grossi progetti di sviluppo già attivi, o in fase di avviamento; sarà altresì compito dell'IRMI la promozione al meglio dei nuovi prodotti e servizi, tramite, ad esempio, il loro inserimento nel sito web ed in tutti i programmi di diffusione delle attività inerenti l'infrastruttura.

Grazie all'intensa attività di *networking*, il progetto metterà in moto un processo di specializzazione che porterà vantaggi sia a tutte le tipologie di soggetti afferenti al consorzio, sia più in generale a tutti gli operatori del settore, sia che si tratti di soggetti privati, sia di soggetti pubblici.

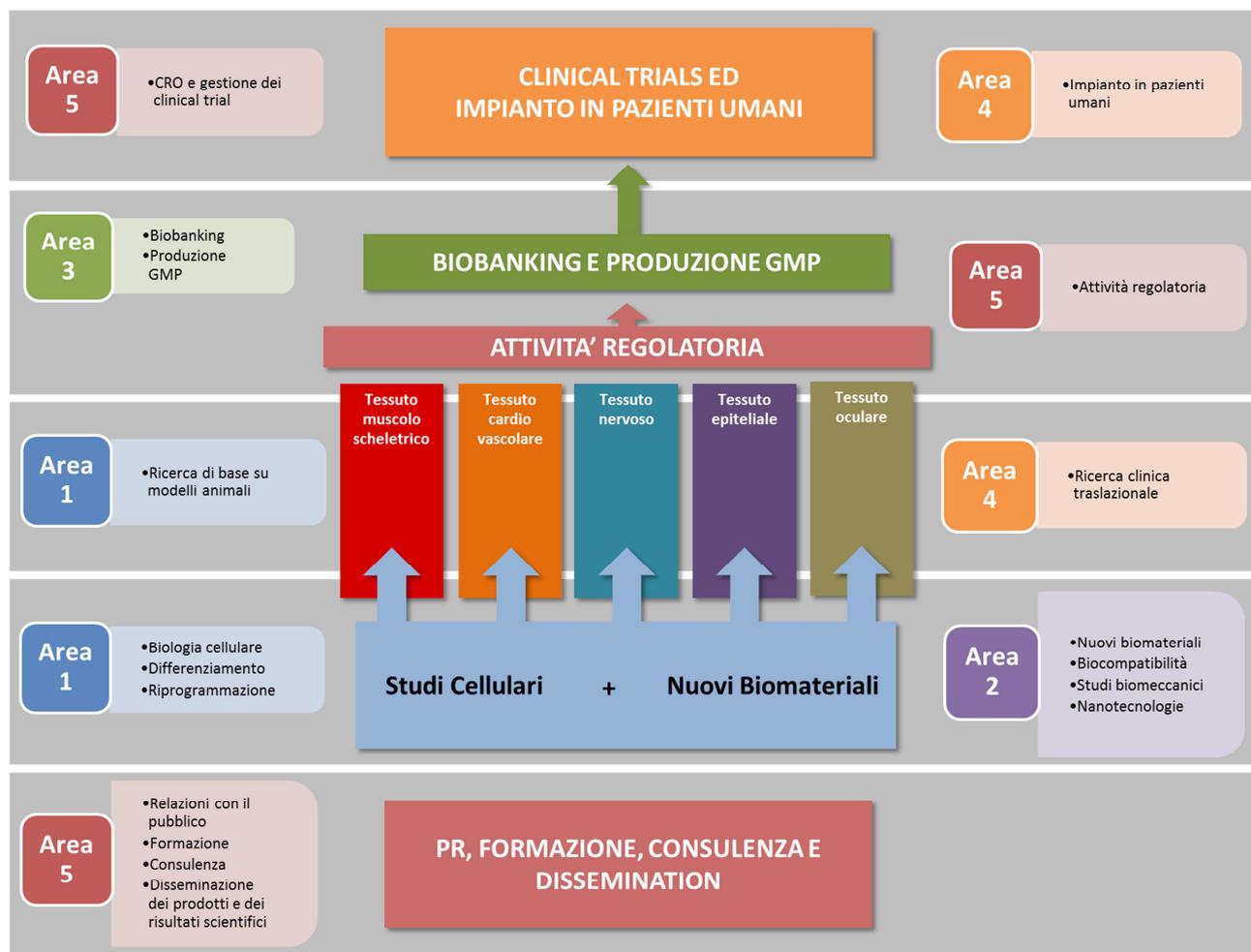
Inoltre, grazie a:

- aumento del numero di consorziati
- una competenza acquisita che assicurerà all'IRMI visibilità ed appetibilità per nuovi investitori
- partecipazione mirata a bandi di ricerca nazionali ed internazionali, forte di una massa critica che raccoglie le massime competenze italiane in materia

l'IRMI sarà in breve in grado di autofinanziarsi, non gravando sullo Stato ed altresì creando nuovi posti di lavoro e promuovendo borse di studio e di Dottorato di Ricerca.

Per assicurare un elevato livello di qualità di erogazione del servizio in combinazione con una performance efficiente, risultati rapidi e una completa adattabilità alle esigenze dei richiedenti, le attività dei consorziati verranno suddivise in cinque aree di attività. Nell'ambito dei progetti che verranno sviluppati all'interno dell'IRMI, suddette aree svolgeranno attività complementari, rendendo fruibili le scoperte scientifiche ai partners coinvolti.

Figura 3: struttura organizzativa di IRMI



Area 1

Nell'Area 1 convergeranno i partners che si occuperanno principalmente di ricerca di base. Le ricerche effettuate in quest'area riguarderanno i meccanismi alla base della rigenerazione tissutale, il differenziamento cellulare, il rilascio paracrino di fattori trofici ed immunomodulatori, la riprogrammazione e gli studi preliminari di terapia genica. In un secondo tempo, i dati ottenuti *in vitro*, verranno utilizzati per testare preliminarmente i prodotti di medicina rigenerativa *in vivo*, in modo da valutare efficacia e tossicità sul modello animale.

Area 2

Nell'Area 2 convergeranno i partners che si occuperanno di produzione ed analisi di biocompatibilità di nuovi polimeri per l'ingegneria dei tessuti. Convergeranno in quest'area anche i partner che intendano applicare le nanotecnologie a devices medici per le terapie avanzate, come ad esempio lo studio della nanotopografia delle superfici per la produzione di scaffold innovativi; gli studi biomeccanici e reologici dei materiali ricadranno anch'essi in quest'area.

Area 3

Nell'Area 3 convergeranno le strutture di biobanking e le strutture autorizzate per la manipolazione in GMP (Cell Factory e strutture dotate di *clean room*). Le strutture afferenti a quest'area avranno il compito di stoccare a lungo

termine cellule e tessuti umani per uso autologo ed allogenico. Afferiranno a quest'area anche le strutture dove verranno effettuate tutte le manipolazioni di tessuti e cellule per uso terapeutico.

Area 4

Nell'Area 4 convergeranno le strutture dove verrà eseguita la ricerca biomolecolare pre-clinica per produrre risultati rapidamente trasferibili all'attività clinica, al fine di favorire l'integrazione tra la attività di ricerca sperimentale e la pratica clinica. Afferiranno a quest'area anche le strutture ospedaliere autorizzate ad impiantare in pazienti umani, prodotti basati su cellule e tessuti per i quali è stato proposto ed approvato un *clinical trial*.

Area 5

Quest'area riguarderà gli aspetti di tipo organizzativo, regolatorio e di gestione delle risorse umane dell'IRMI. Quest'area si occuperà di:

- creare e aggiornare il sito web;
- curare le relazioni con il pubblico;
- curare le relazioni e i contratti con i partner del consorzio;
- curare la formazione di nuove figure professionali;
- erogare borse di studio e di Dottorato di Ricerca;
- organizzare eventi;
- dare risalto all'operato dell'infrastruttura;
- fornire consulenza di tipo scientifico ed amministrativo;
- fornire consulenza in materia normativa;

Afferirà a quest'area anche la CRO che si occuperà di gestire eventuali *clinical trial* che verranno proposti ed attivati nell'ambito del progetto.

8) AIMS, ACITIVITY AND TIMING

8.1 Structure of the product/process/service

Description of the service supplied by IRMI and its organizational structure.

The purpose of the service provided by IRMI shall be to support all partners of the consortium during the process of development and approval of innovative products for Regenerative Medicine, facilitating the complicated process of translation of results from scientific research to clinical practice.

For this reason, this structure will work closely with the consortium subjects that require specific assistance, and, where possible, providing them directly the required solution, both by placing them in contact with partners able to develop them for a particular process, or to conduct a given search. Therefore IRMI will provide advices regarding the interpretation of laws with an updating in this area also with reference to the international sector. This support will enable the consortium to undertake their own research, or production processes, without loss of time or resources, through the explanation of the "legal" requirements that the product shall meet

In the short /medium term, the IRMI also intends to provide its service to third parties who decide to enter in the regenerative medicine area and require the support even for a single step of production. Thanks to the IRMI network, combined with the knowledge of rules and regulations, the consortium will be an essential crossroads for each new subject who intends to start its own business for the production of advanced therapy products in Italy. In fact, IRMI will be able to facilitate the establishment of a new company in the territory,

putting it in contact with the companies already active in this field and to harmonize its activities with those of the other consortium partners, directing all the efforts toward important projects already active or in a start-up phase. IRMI shall develop the promotion of the new products and services, through, for example, their inclusion in the website and all the developing programs for the activity of this structure.

Thanks to the networking, the project will develop a specific activity with benefits for the partners of the consortium and for any private or public entities.

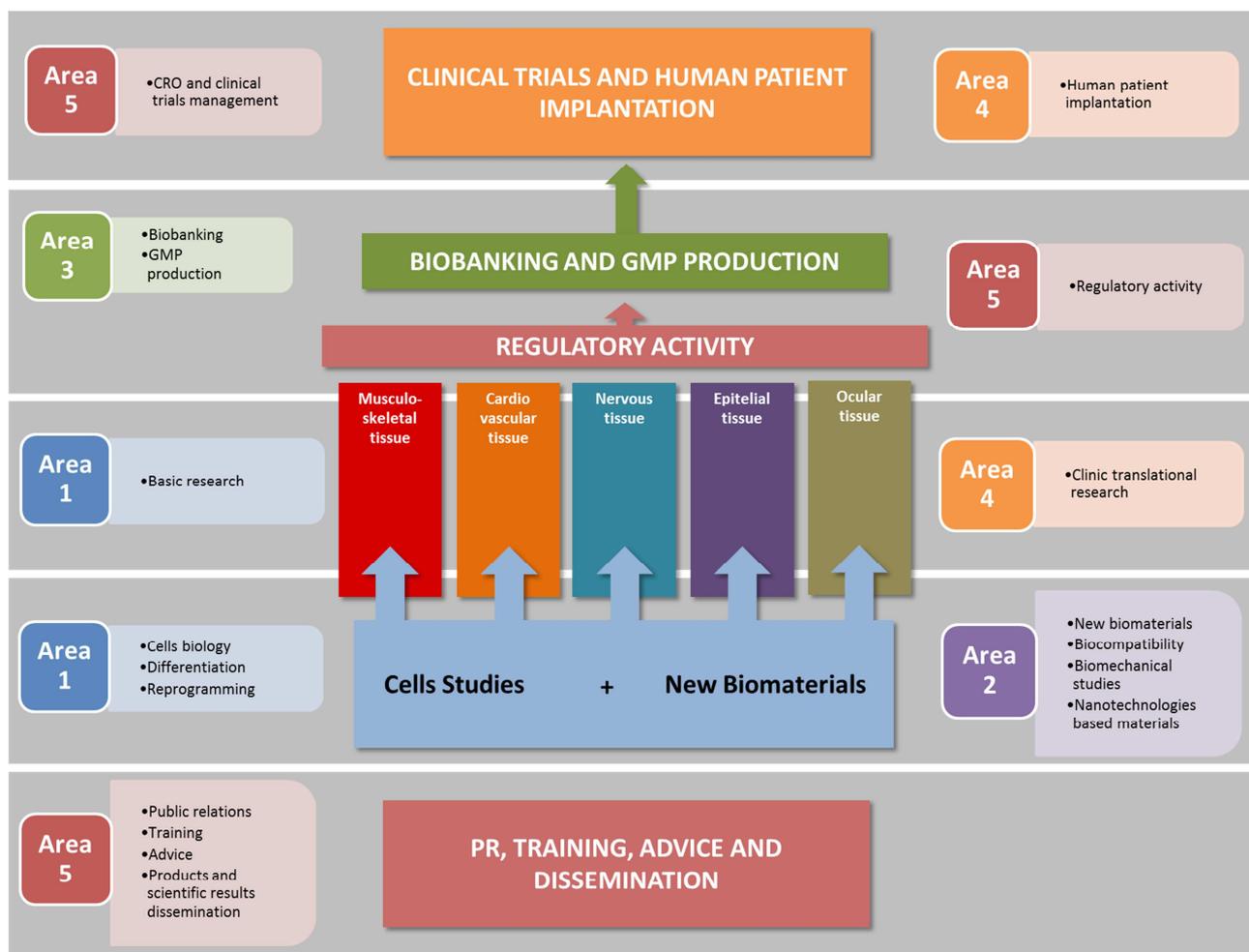
Therefore thanks to:

- Increase of the number of associates of the consortium;
- An acquired skill that will ensure to IRMI visibility and attractiveness to new investors;
- Participation to national or international calls, with a strong knowledge regarding the expertise in this field.

IRMI shall be able to finance itself and to create new jobs and to promote scholarship and PhD.

The activities of the consortium will be divided into five areas of activity to ensure a high level of quality of the services provided and an efficient performance, quick results and a complete adaptability to the needs of applicants.

Fig. 3: organizational structure of IRMI



Area 1

In Area 1 shall be directed the efforts of the partners with focus on the basic research. The research carried out in this area concern the mechanisms of the tissue regeneration, cell differentiation, the paracrine release

of paracrine trophic factors and immunomodulators, reprogramming and preliminary studies of gene therapy. Subsequently the data obtained in vitro, will be used to test preliminarily products of regenerative medicine in vivo, in order to evaluate the efficacy and toxicity in animal models.

Area 2

In Area 2 shall be directed the efforts of the partners in the production and analysis of the biocompatibility of new polymers for tissue engineering. In this area there are also the partners who wish to apply nanotechnology in medical devices for advanced therapies, such as the study of nanotopografia surface for the production of innovative scaffold.

Area 4

In Area 4 shall be directed the efforts of the entities to carry out the biomolecular pre-clinical research to produce results quickly transferable to clinical activity, in order to promote the integration of the experimental research and clinical practice. In this area are included also hospitals facilities authorized to implant in human patients, products based on cells and tissues for which it was proposed and approved a clinical trial.

Area 5

This area will cover all the organizational, regulatory and human resource sectors of IRMI. This area shall:

- Create and update the website;*
- Take care the public relations;*
- Take care the relationship and agreements with the partners of the consortium;*
- Ensure the training of new professionals;*
- Provide scholarships and PhD;*
- Organize all the events;*
- To highlight the work of the structure;*
- Provide advice on scientific and administrative matters;*
- Provide advice on relevant legislation.*

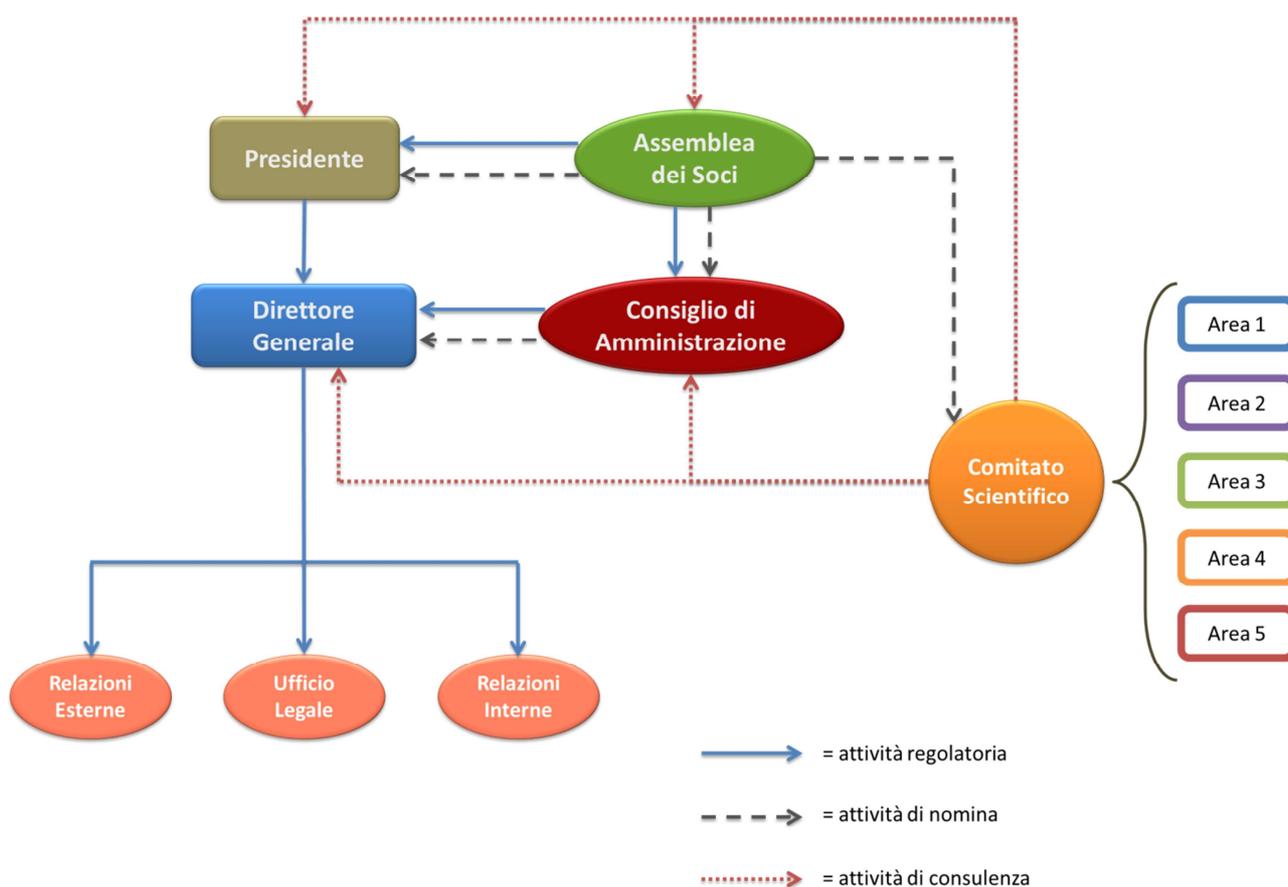
In this area there will be also the CRO who manages all the clinical trial regarding the project.

8.1.2 Governance

Obiettivo organizzativo ultimo dell'IRMI è il raggiungimento di un modello strutturale a rete federale, comprendente organizzazioni regionali, o multi-regionali, che coinvolgano al loro interno le realtà di coordinamento locali, quali distretti, e le associazioni/fondazioni che promuovono la ricerca e lo sviluppo industriali.

Nei primi 3 anni di progetto verranno create le condizioni perché suddetta organizzazione di tipo federale si realizzi; a tal fine, verrà costituito un organo di coordinamento in grado di garantire la realizzazione, il monitoraggio e la rendicontazione dell'IRMI, favorendo le attività di sviluppo proposte nell'ambito del presente progetto e preservando l'autonomia decisionale dei singoli Soci Proponenti, che si organizzeranno secondo il seguente modello di *governance*.

Figura 4: modello gestionale dell'IRMI



Il primo gruppo che si formerà sarà l'Assemblea dei Soci.

All'**Assemblea dei Soci** afferranno dirigenti e altri rappresentanti e di aziende e strutture pubbliche, con un limite massimo di un rappresentante per socio proponente della infrastruttura. L'Assemblea dei Soci si riunirà due volte l'anno e avrà le seguenti funzioni:

- redige e modifica lo Statuto della Infrastruttura;
- nomina, ed eventuale revoca, il Presidente dell'IRMI, che dovrà essere scelto all'interno dei membri dello stesso Comitato; la durata della carica di Presidente è di 3 anni;
- nomina, ed eventuale revoca, i rappresentanti del Consiglio di Amministrazione (Amministratori), che potranno essere scelti anche all'esterno dei membri del Consiglio di Amministrazione, purchè suddetti membri afferiscano ad uno dei soci proponenti;

- delibera sull'azione di responsabilità contro Presidente e Amministratori;
- nomina, ed eventualmente revoca, dei componenti del Comitato Scientifico;
- nomina, ed eventualmente revoca, il responsabile della formazione;
- delibera in merito alla associazione di nuovi soggetti che presentino regolare richiesta e documento di intenzione;
- proporre la nomina a soci di organizzazioni nazionali, od internazionali, di particolare rilievo, od eccellenza;
- delibera in ordine ai piani strategici e industriali della Società, ed in generale ai programmi triennali e annuali di attività ed alle relazioni integrate consuntive e previsionali;
- presentazione di relazioni semestrali riguardanti le attività dell'IRMI;

Il **Comitato Scientifico** sarà composto dai rappresentanti delle cinque aree di attività ed ha il compito di fornire consulenza scientifica a tutti i membri e i comitati dell'IRMI. A tal fine, i componenti del Comitato Scientifico dovranno tenersi costantemente aggiornati sulle nuove scoperte ed introduzioni nel campo della Medicina Rigenerativa ed altresì sulle tendenze del relativo mercato.

Il **Consiglio di Amministrazione** sarà costituito da cinque delegati facenti necessariamente parte di soggetti consorziati:

- un rappresentante dell'ATI delle grandi imprese;
- un rappresentante dell'ATI delle PMI;
- due rappresentanti degli enti pubblici consorziati;
- il responsabile della formazione;

Il Consiglio di Amministrazione svolge funzioni di indirizzo e controllo con particolare riferimento alle scelte strategiche e alla valorizzazione del Patrimonio della infrastruttura

A questo fine, il Consiglio:

- nomina, ed eventualmente revoca, il Direttore Generale dell'IRMI;
- indirizza la Direzione sulle linee strategiche su base annuale e pluriennale, dettate dall'Assemblea dei Soci;
- monitora lo svolgimento dei progetti e l'impiego dei fondi erogati;
- esprime parere sul bilancio preventivo e sul bilancio di esercizio;
- esprime parere sulle proposte di modifica degli assetti organizzativi e/o strutturali dell'Istituto;
- esprime parere sui provvedimenti di costituzione o partecipazione a società, consorzi, associazioni, ecc.;
- esprime parere sullo Statuto e sul regolamento di organizzazione e funzionamento;
- esprime parere sulle determinazioni di alienazione del patrimonio;
- formula valutazioni circa il raggiungimento degli obiettivi di ricerca industriale e sviluppo sperimentale in coerenza con le risorse assegnate;
- formula pareri sugli argomenti strategici della infrastruttura, quali sinergia con altri Cluster internazionali di medicina rigenerativa, centri di ricerca, Università ed imprese, e il trasferimento dei risultati della ricerca industriale e dello sviluppo sperimentale;
- fornisce pareri sulle modalità di collaborazione su progetti di ricerca, tra Soci della infrastruttura e con soggetti esterni alla associazione;
- formula pareri vincolanti sulle decisioni intraprese dal Direttore Generale;

L'espressione del parere avviene entro 30 giorni dalla data di ricevimento. Il parere si intende favorevole se non espresso entro il termine su indicato.

Al Consiglio possono partecipare, senza diritto di voto, il Presidente, il Direttore Generale e il Responsabile della Formazione.

Il Consiglio di Amministrazione definisce un proprio regolamento di funzionamento, tenendo in considerazione che suddetto regolamento deve essere approvato dal Presidente, come legale rappresentante dell'Assemblea dei Soci.

Il Presidente dell'IRMI

Il Presidente è il responsabile della strategia e della *vision* della infrastruttura.

Il Presidente ha la rappresentanza legale della Associazione, con firma libera, anche per la esecuzione di tutte le deliberazioni del Consiglio di Amministrazione.

Rappresenta la Società in giudizio con facoltà di promuovere azioni ed istanze giudiziarie ed amministrative per ogni grado di giurisdizione ed anche per giudizi di revocazione e cassazione con facoltà di nominare avvocati e procuratori. Conferisce deleghe o procure ad amministratori della Società, a dipendenti, o a terzi per l'esecuzione di singoli atti deliberati dal Consiglio di Amministrazione e può nominare procuratori *ad negotia* per determinati atti o categorie di atti e procuratori speciali.

Convoca le Assemblee, su delibera del Consiglio di Amministrazione, ne accerta la regolare costituzione e le presiede.

Sovrintende al regolare andamento della Società. In caso d'assenza o impedimento, il Presidente è sostituito ad ogni effetto dal Vice Presidente o dall'Amministratore Delegato, se nominati, o dal Consigliere Anziano.

Il Direttore dell'IRMI

Il Direttore Generale, nominato dal Consiglio di Amministrazione, assicura il perseguimento della missione avvalendosi dell'attività degli organismi e delle strutture organizzative. Egli garantisce la gestione complessiva dell'Istituto, secondo quanto disposto dal Presidente e dal Consiglio di Amministrazione.

Il Direttore Generale presidia lo svolgimento di tutte le funzioni necessarie alla direzione, all'organizzazione e all'attuazione dei compiti nel rispetto dei principi di imparzialità e trasparenza nonché dei criteri di efficacia, di efficienza e di economicità della gestione.

Il Direttore Generale nomina, ed eventualmente revoca, il responsabile e i componenti dell'Ufficio Relazioni Esterne e dell'Ufficio Relazioni Interne; della nomina, inoltre, egli nomina, ed eventualmente revoca, il revisore legale responsabile dell'Ufficio Legale e la Società incaricata del controllo legale dei conti e delle delibere, e ne determina il compenso.

In particolare, egli è responsabile:

- della gestione finanziaria, tecnica e amministrativa dell'Istituto incluse l'organizzazione e la gestione del personale;
- della verifica delle determinazioni e delle delibere in ordine alla realizzazione dei piani e dei programmi adottati;
- del raggiungimento, ove possibile, degli obiettivi strategici decisi dal Presidente e dalla Assemblea dei Soci;
- della attività dell'Ufficio Relazioni Esterne, Industriali e dell'Ufficio Legale;

Il Direttore Generale, attraverso il coordinamento di tutte le articolazioni organizzative aziendali, assicura il recepimento degli indirizzi delle Imprese e degli enti istituzionali associati, mantiene la complessiva coerenza dell'azione di governo dell'Infrastruttura e cura le relazioni interaziendali.

Il Direttore Generale per lo svolgimento delle sue funzioni si avvale dei tre uffici previsti e dei poteri organizzativi e gestionali attribuitigli.

L'**Ufficio Relazioni Esterne** sarà composto da un responsabile ed altri due membri non necessariamente facenti parte di uno dei soggetti associati. Mansioni di tale Ufficio saranno:

- promozione dell'IRMI e dei suoi servizi e preparazione di materiale informativo, come *flyers* e manuali tematici;
- curare il sito web;
- curare i contatti con imprese e enti pubblici esterni all'IRMI che si interfacciano con la infrastruttura;
- organizzazione di eventi, come congressi, o seminari;

- preparazione delle relazioni semestrali;
- gestione dei rapporti con partner esteri e le altre infrastrutture internazionali;
- trovare partner all'interno dell'IRMI alle Imprese e agli enti esterni che richiedano tale servizio;
- gestione dell'organizzazione dei progetti di ricerca congiunti, nazionali ed internazionali;
- tenere i contatti con la stampa;
- gestione del rapporto con le CRO;

L'**Ufficio Legale** sarà composto da un revisore legale responsabile dell'Ufficio Legale e da una Società incaricata del controllo legale dei conti e delle delibere.

Mansioni di tale Ufficio saranno:

- rendicontazione;
- preparazione delle convenzioni;
- redazione delle delibere;
- fornire consulenza legale a tutti i Soci riguardo le nuove normative nei campo della terapie avanzate, cellulari ed della ingegneria tissutale;
- fornire approfondimenti ed aggiornamenti a tutti i Soci riguardo le nuove normative nei campo della terapie avanzate, cellulari ed della ingegneria tissutale;
- tutela brevettuale dei nuovi prodotti dei Soci della infrastruttura;
- tutela legale della infrastruttura.

L'**Ufficio Relazioni Interne** sarà composto da un responsabile ed un altro membro non necessariamente facente parte di uno dei soggetti associati. Mansioni di tale Ufficio saranno:

- divulgazione delle nuove scoperte e conoscenze acquisite all'interno della rete dei Soci;
- armonizzazione delle attività di sviluppo sperimentale e di ricerca industriale all'interno della rete dei Soci, in maniera che non vi siano inutili ripetizioni delle medesime attività;
- rispondere a imprese e ad enti pubblici soci dell'IRMI che richiedano di usufruire dei servizi della infrastruttura;
- trovare partner all'interno dell'IRMI, alle Imprese e agli enti soci della infrastruttura che richiedano tale servizio;

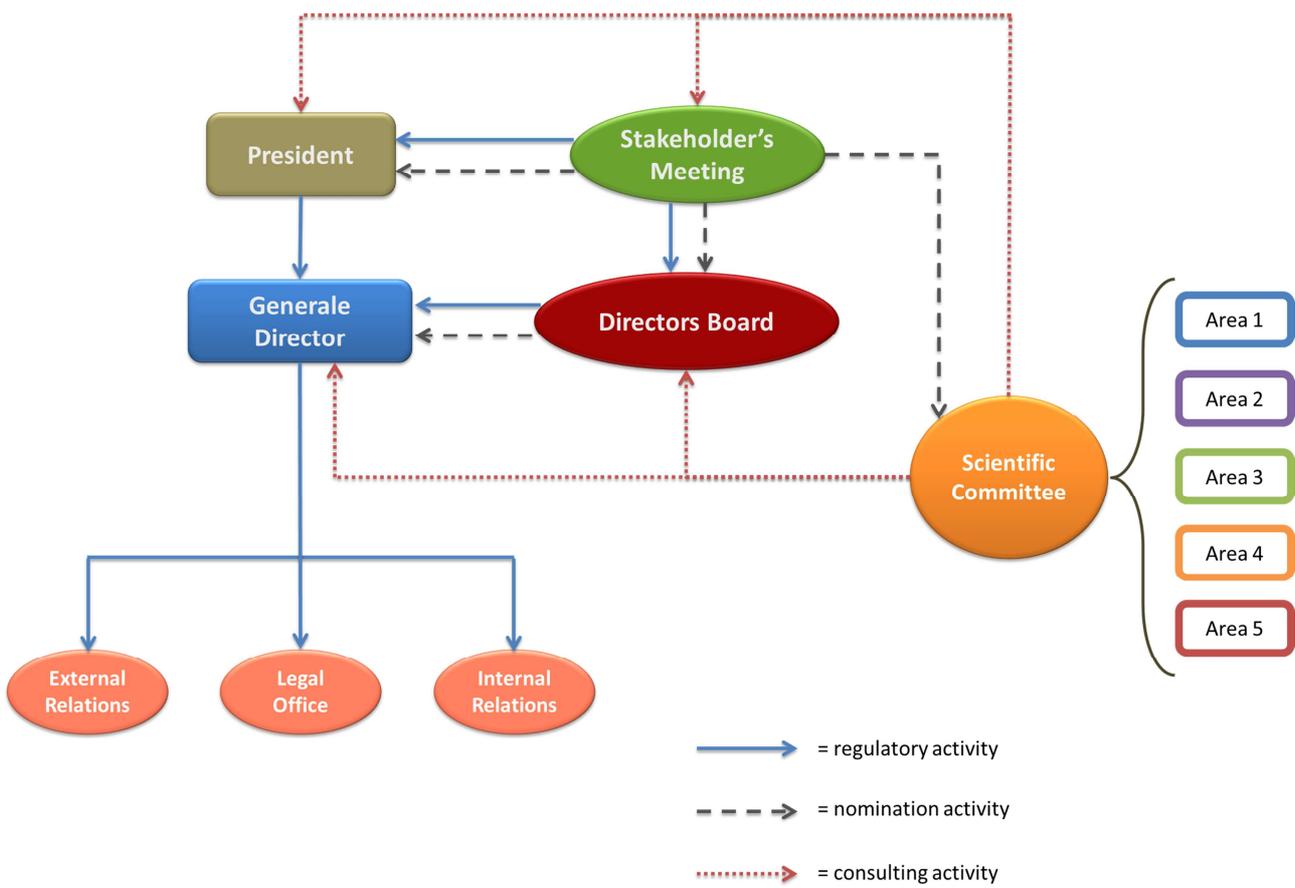
8.1.2 Governance

Governance

The IRMI final organizational goal is to create a structural model with a federal network, but with regional or multi-regional organizations, involving local entities such as districts, and associations / foundations that promote research and industrial development.

During the first three years the conditions for carrying out the federal above mentioned entities shall be realized; it will set up a coordinating body that can ensure the implementation, monitoring and reporting of IRMI, encouraging the development activities proposed in this project and maintaining the decisional autonomy of the single shareholders; the same shareholders shall be organized according to the following model of governance.

Fig. 4: Management chart of Irmí



Shareholders' meeting will be the first group set up

The members of the **shareholders' meeting** will be the managers and all the representative of the public and private companies, with the limitation of one representative for each shareholder. The Shareholders' Meeting will meet twice a year and will have the following duties:

- To draft and to amend the memorandum of association;
- To appoint and to remove the President of IRMI; the President shall be appointed from the members of the Committee and the term for the President shall be three years;
- To appoint and to remove the members of the Board of Directors; the members could be chosen out the structure but connected with the shareholder;
- To decide the claim for damages against the President or the members of the Board of Directors;
- To appoint and to remove the members of the scientific committee;
- To appoint and to remove the training manager;
- To decide regarding the association of new member in particular with reference to the documents and the letter of intent;
- To propose the appointment of members of national or international of particular importance or excellence;
- To decide with reference to the strategic and industrial plans of the company, and in general to three-year programs and annual reports of activities and integrated consuntive and forecasting reports;
- To introduce the half-yearly reports on the activities of IRMI.

*The **Scientific Committee** consists of one representatives of the five areas of activity and its role consists of provide scientific advice to all members and committees of IRMI. The Scientific Committee members must keep up to date about new discoveries and introductions in the field of Regenerative Medicine and also the new trends of this market.*

*The **Board of Directors** consists of five delegates and each of them is part of each member of the consortium:*

- *One representative of the ATI of the great company;*
- *One representative of the ATI of the PMI;*
- *Two representatives of the public entities of the consortium;*
- *The training manager.*

The Board of Directors performs a role of guidance and control with particular reference to the strategic choices and the exploitation of the properties of structure

In particular the Board of Directors shall:

- *Appoint and remove the General Manager of IRMI;*
- *Direct the management regarding the strategic and long-term plans on an annual basis, recommended by the shareholders;*
- *Express its opinion on the budget and on the financial statements;*
- *Express its opinion on the proposed changes of the organization and / or structure of the Institute;*
- *Express its opinion about the incorporation of new companies or the holding in companies, consortia or associations;*
- *Express its opinion regarding the memorandum of association and any rules;*
- *Express its opinion about transfer or assignment of the assets;*
- *Make judgments about the achievement of industrial research and experimental development on the basis of the resources allocated;*
- *Make opinions about the strategic matters, such as synergy with other international Cluster of regenerative medicine, centers of research, universities and companies, and regarding the transfer of the results of industrial research and experimental development;*
- *Make advising regarding the cooperation between the members of this structure or external subjects with reference to the projects;*
- *Make binding opinions with reference to the decisions of the General Manager;*

The opinion of the Board of Directors shall be until 30 days from the date of receiving; after this term the opinion is considered favourable.

The President, the general Manager and the training manager participate to the meeting of the Board of Directors but without the right to vote.

The Board of Directors defines its own rules of procedure, but this rules shall be approved by the President, as the legal representative of the Shareholders.

The President of IRMI

The President is responsible for the strategy and vision of the structure.

The President is the legal representative of the Association,; he has the power to make all resolutions of the Board of Directors.

The President represents the Company in the court with the power to bring actions and judicial request and administrative proceedings at all levels of jurisdiction and also for revocation and at the Supreme Court with the power to appoint lawyers and attorneys. The President gives the powers of attorney to directors of the Company, employees, or third parties to perform specific acts approved by the Board of Directors; he may appoint attorneys for certain acts or categories of acts and special prosecutors. He calls the meeting, by resolution of the Board of Directors, he shall ascertain the regular convocation and he chairs the meeting.

The President the regular trend of the Company. In case of absence or impediment, the President shall be replaced for all purposes by the Vice Chairman or the Managing Director, if appointed, or by the oldest member of the Board of Directors.

The General Manager of IRMI

The General Manager is appointed by the Board of Directors and he ensures the achievement of the mission using the activity of the organizational structures. He ensures the total activity of the Institute in accordance to the provisions of the President and the Board of Directors.

The General Manager oversees the performance of all the functions needed in the management, organization and implementation of tasks in accordance to the principles of impartiality and transparency as well as the criteria of effectiveness, efficiency and economy of operations.

The General manager appoints and, if any, remove the head and the members of the Public Relations Department and of the Internal Relations department; therefore he appoints and if any remove the head of the Legal Department and the company for the legal auditing of the accounts and he settles the fee.

In particular the General Manager is responsible for:

- *The financial, technical and administrative management of the Institute including the organization and management of the human resources;*
- *check of the decisions and resolutions in accordance with the implementation of plans and programs adopted;*
- *The achievement, where possible, of the strategic goals decided by the President and the Shareholders' Meeting;*
- *The activities of the Public Relations Dpt, Industrial activities and Legal Dpt;*

The General Manager through the coordination of all the Departments of the company, ensures the knowledge of the provisions of companies and institutional entities associated, he keeps the overall coherence of the management of the structure and the relationships.

The General Manager for the performance of its functions makes use of the three departments and he utilizes all the powers provided.

*The **Public Relations Department** consists of the head of the Dpt and two members who can be external to the consortium; this department shall:*

- *Promote IRMI and its services and prepare all the information material, such as flyers and thematic handbooks;*
- *Take care of the website;*
- *Maintain relationships with companies and public bodies outside of IRMI ;*
- *Organize the events, such as conferences or seminars;*
- *Prepare the monthly reports;*
- *Management of the relationships with foreign partners and other international facilities;*
- *find possible partners for IRMI for the companies or external entities that require such service;*
- *Management of the organization of , national and international joint research projects;*
- *management of the relationships with the press;*
- *Managing the relationship with the CRO;*

*The **Legal Department** consists of a legal auditor as the head of the Dpt and a company for the audit of the accounts and of the decisions.*

Duties of this Department are:

- *Reporting and make a state of accounts;*
- *Drawing up all the agreements;*
- *Drafting of resolutions;*
- *Providing legal advice to all members about the new laws and regulations in the field of advanced*

therapies and cellular and tissue engineering;

- *Providing insights and updates to all members about the new regulations in the field of advanced therapies and cellular and tissue engineering;*
- *Patent protection of new products of the members of the structure;*
- *Legal protection of the structure.*

*The **Public Relations Department** consists of an head of the Dpt and one member who can be an external subject. Duties of this Department are:*

- *Communication and information about the new discoveries within the network of the members;*
- *Harmonization of experimental development and industrial research within the network of members, so that there is no duplication of the same activities;*
- *Respond to companies and public bodies that require to IRMI members to use the services of this structure;*
- *Find partners within IRMI and all the members of this structure that require this service;*

8.1.3 Obiettivi realizzativi e prodotti di Medicina Rigenerativa supportati dall'IRMI

La compagine di IRMI costituita al momento della presentazione del Bando da 6 imprese proponenti, tutte in collegamento con altre imprese, e da 6 Enti di ricerca proponenti, ai quali devono essere aggiunti altri 5 gruppi scientifici di assoluto valore internazionale, è in grado di proporre numerosi progetti scientifici con ricadute di interesse industriale a breve ed a medio termine. L'ambizione di IRMI, d'altra parte, è quella di costituire un'infrastruttura capace di operare in una prospettiva di medio-lungo termine. I progetti contenuti in IRMI, quindi, hanno differenti tempistiche di trasferibilità industriale, legati alle caratteristiche dei prodotti, al livello delle attività di ricerca già eseguite, alle necessità regolatorie ed alle potenzialità di mercato.

Alcuni di questi obiettivi, che, nell'arco del triennio di durata del progetto, siano trasferibili per l'impiego industriale, sono stati prioritariamente individuati e sono contenuti nell'elenco a seguire 8.1.3.1.

Gli altri obiettivi, di altissimo interesse scientifico ed applicativo, la cui trasferibilità supera la durata del progetto sono contenuti nell'elenco 8.1.3.2.

8.1.3 Development objectives and Regenerative Medicine products supported by IRMI

Actually IRMI consists of 6 proposer companies, connected to others companies and 6 proposer research institutions, in addition to 5 international scientific group; IRMI is able to propose many scientific projects with scientific impact of industrial interest in the short and medium term. The aim of IRMI is to create an entity who is able to operate in the medium or long term. So the IRMI projects are different timing for the transfer to the industrial system because of the characteristics of the products, the level of research activities carried out, regulatory requirements and market potential.

Some of these objectives, which, over the three-year duration of the project, are transferable for industrial use, primarily have been identified and are in the list to follow 8.1.3.1.

Other objectives of the highest scientific interest and application, whose transferability exceeds the duration of the project are contained in the list 8.1.3.2.

8.1.3.1 OBIETTIVI REALIZZATIVI PIU' RAPIDAMENTE TRASFERIBILI A LIVELLO INDUSTRIALE

OR At Grade srl 1:

Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) di prodotti di terapia avanzata costituiti da cellule allogene (da donazione) espanse in vitro e seminate su scaffolds tridimensionali

OR At Grade srl 2:

Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) di prodotti di terapia avanzata costituiti da cellule autologhe espanse in vitro e mantenute in sospensione

OR Laboratorio PROMETEO BCTM 1:

Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione ed immissione in commercio di paste osteoinduttive.

OR Laboratorio PROMETEO BCTM 2:

Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione e commercializzazione di derivati ossei che richiedono lavorazioni ad elevata precisione, mediante utilizzo di un sistema di taglio automatizzato.

OR Laboratorio PROMETEO BCTM e Ospedale Niguarda:

Messa a punto di un nuovo processo di ricerca industriale per l'ottenimento di frazioni cellulari purificate di cellule staminali mesenchimali da tessuto adiposo processato tramite sistema Lipostem®, in regime di manipolazione non rilevante e ottenimento delle autorizzazioni obbligatorie per impiego delle suddette cellule in trials clinici.

OR CMR/CIDSTEM 1:

Sperimentazioni cliniche di terapia cellulare basate su colture di cellule staminali uretrali.

OR CMR/CIDSTEM 2:

Sperimentazioni cliniche di terapia cellulare basate su colture di cellule staminali buccali.

OR CIRI-SDV, Università di Bologna 1:

Certificazione BPL del laboratorio, per prove di neurotossicità e biocompatibilità in vitro e in vivo (animale da laboratorio).

OR CIRI-SDV, Università di Bologna 2:

Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione ed immissione in commercio di elettrofilati di polimeri naturali e sintetici biocompatibili a diversa geometria, da impiegarsi anche associati a cellule staminali mesenchimali autologhe per la riparazione di lesioni neurologiche.

OR CIRI-SDV, Università di Bologna e PROMETEO BCTM:

Definizione di un profilo di congruità delle proprietà autocrine di cellule mesenchimali autologhe per il controllo della neuroinfiammazione e neuroprotezione (best practice protocol)

OR GENOMNIA-CNR:

Utilizzo di tecniche di sequenziamento massivo degli acidi nucleici (Next Generation Sequencing, NGS) per il controllo qualità e sicurezza nell'uso terapeutico di cellule staminali

OR CNR:

Implementazione di sistemi HTS per l'identificazione di nuove molecole regolatrici della proliferazione e del differenziamento delle cellule staminali.

OR GENOMNIA-CNR:

Identificazione e sviluppo di nuove strategie di ingegneria tissutale: implementazione di biomatrici in grado di controllare il differenziamento di cellule staminali verso fenotipo muscolare striato, modulando l'ambiente cellulare ed extracellulare, e stimolare l'angiogenesi

OR AB MEDICA e AB TREMILA:

Progettazione, prototipizzazione e sperimentazione di scaffold in Degrapol® per applicazioni di ingegneria tissutale

OR POLITO 1

Fabbricazione di matrici tridimensionali (scaffold) biomimetiche per l'ingegneria dei tessuti. Ottimizzazione delle caratteristiche morfologiche, chimico-fisiche, meccaniche e superficiali dello scaffold al fine di realizzare un substrato adatto alla proliferazione e al differenziamento delle cellule staminali.

OR POLITO 2

Messa a punto di gel termosensibili e facilmente iniettabili a temperature ambiente ed in grado di formare un gel in condizioni fisiologiche (37°C), da utilizzare per la preparazione di paste osteoinduttive e per il mantenimento in coltura di cellule staminali.

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 1:

Sviluppo e mantenimento di un servizio di comunicazione nei confronti dei soggetti non professionali e in particolare modo della pubblica amministrazione dei privati cittadini per:

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 2:

Sviluppo di un programma di formazione dedicato a operatori sanitari e operatori della Comunicazione, inserito all'interno del Piano di Formazione.

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 3:

Progettazione e Implementazione di infrastrutture di un centro ambulatoriale di medicina rigenerativa

8.1.3.1 Development objectives more quickly transferable to the industrial sector

OR At Grade srl 1:

Clinical trial and submission of the dossier for registration as a drug at the EMA (European Medicines Agency) for advanced therapy medicinal products consist of allogeneic cells (by donation) expanded in vitro and seeded onto three-dimensional scaffolds.

OR At Grade srl 2:

Clinical trial and submission of the dossier for registration as a drug at the EMA (European Medicines Agency) for advanced therapy medicinal products consisting of autologous cells expanded in vitro and maintained in suspension.

OR Laboratory PROMETEO BCTM 1:

Design, prototyping, testing, manufacturing and marketing of pasta osteoinductive.

OR Laboratory PROMETEO BCTM 2:

Design, prototyping, testing, manufacturing and marketing of derivatives bone that require working with high precision by using an automated cutting system.

OR Laboratory PROMETEO BCTM e Ospedale Niguarda:

Development of a new process of industrial research to obtain cellular fractions of purified mesenchymal stem cells from adipose tissue processed through Lipostem ® system, under the manipulation and not relevant regulatory approvals required for use of these cells in clinical trials .

OR CMR/CIDSTEM 1:

Clinical trials of cell therapy based on stem cell cultures urethra.

OR CMR/CIDSTEM 2:

Clinical trials of cell therapy based on stem cell cultures buccal.

OR CIRI-SDV, Bologna University 1:

GLP certification of the laboratory tests for neurotoxicity and biocompatibility in vitro and in vivo (laboratory animal).

OR CIRI-SDV, Bologna University 2:

Design, prototyping, testing, manufacturing and marketing of electrospun polymers of natural and synthetic biocompatible different geometry, to be used also associated with autologous mesenchymal stem cells for the repair of neurological injuries.

OR CIRI-SDV, Bologna University and PROMETEO BCTM:

Definition of a profile of congruity of autocrine properties of mesenchymal cells autologous to the control of neuroinflammation and neuroprotection (best practices protocol).

OR Group AB Medica 1:

Using techniques of massive sequencing of nucleic acids (Next Generation Sequencing, NGS) for quality control and safety in therapeutic use of stem cells

OR Group AB Medica 2:

Implementation of HTS systems for the identification of new regulatory molecules of the proliferation and differentiation of stem cells.

OR Group AB Medica 3:

Identification and development of new strategies for tissue engineering: Implementing biomatrices able to control the differentiation of stem cells into striated muscle phenotype by modulating the cellular and extracellular environment, and stimulate angiogenesis.

OR Group AB Medica 4:

Design, prototyping and testing of scaffold Degrapol ® for tissue engineering applications.

OR POLITO 1:

Manufacture of three-dimensional matrices (scaffolds) for biomimetic tissue engineering. Optimization of the morphological, chemical-physical, mechanical and surface of the scaffold in order to achieve a suitable substrate to the proliferation and differentiation of stem cells.

OR POLITO 2:

Development of thermosensitive gels and injectable easily at ambient temperatures and capable of forming a gel under physiological conditions (37 ° C), to be used for the preparation of pastes osteoinductive and for the maintenance of stem cells in culture.

OR Villa Maria Hospital (GVM) 1:

Development and maintenance of a communication service in respect of non-professional actors, and especially the government of private citizens by

OR Villa Maria Hospital (GVM)2:

Development of a training program dedicated to healthcare professionals and communicators, embedded within the Training Plan.

OR Villa Maria Hospital (GVM)3:

Design and Implementation of the infrastructure of an outpatient center for regenerative medicine.

8.1.3.2 OBIETTIVI REALIZZATIVI DEI GRUPPI CHE ADERISCONO AD IRMI, LA CUI TRASFERIBILITA' SUPERA LA DURATA TRIENNALE DEL PROGETTO.

OR CMR/CIDSTEM 3:

Sperimentazioni cliniche di terapia genica basate su colture di cellule staminali epidermiche geneticamente modificate.

OR POLITO 3

Messa a punto e ottimizzazione dei processi di espansione cellulare mediante bioreattori in condizioni di null gravity.

OR POLITO 4

Messa a punto e ottimizzazione dei processi di espansione cellulare/tessutale in bioreattori mediante ambiti funzionalizzanti .

OR POLITO 5

Messa a punto e ottimizzazione dell'handling dei costrutti.

OR UNITO-MBC Proff. Altruda/Silengo/Camussi:

Sperimentazioni precliniche di terapia cellulare basata su colture di cellule staminali spermatogoniali differenziate in epatociti. Differenziazione delle cellule staminali spermatogoniali indotta da microvescicole. Dalla preclinica alla clinica

OR UNITO-MBC Proff. Tarone/Brancaccio/Hirsch:

Differenziazione delle cellule staminali spermatogoniali in cardiomiociti.

Produzione di protocolli sperimentali di differenziamento e loro validazione.

Analisi e caratterizzazione approfondita delle caratteristiche dei cardiomiociti ottenuti.

Sperimentazione preclinica con cellule staminali spermatogoniali differenziate in cardiomiociti in modelli animali di scompenso cardiaco (infarto).

OR UNITO-MBC Prof. Tarella:

Organizzazione di un laboratorio che sia il Centro di riferimento in Italia per la valutazione del telomero, come parametro di senescenza cellulare, su campioni di cellule staminali; messa a punto di un bancaggio con aliquote di campioni di cellule staminali, che provengono da: a) campioni di materiale pre-trapianto; b) campioni di materiale ottenuto in varie fasi post-trapianto; c) campioni di soggetti sani, di diversa età

OR MBC Prof. Aime:

Messa a punto di nuovi composti e protocolli per il labelling cellulare, sia per internalizzazione che per ancoraggio della sonda per imaging all'esterno della membrana citoplasmatica

Messa a punto di metodi per l'inclusione di sonde per imaging cellulare/molecolare, eventualmente responsive a parametri microambientali, in 'scaffold' polimerici per il trapianto di cellule sotto forma di aggregati cellulari tessuto-mimetici.

OR 1 UNIMI

Immissione in commercio di prodotti per terapia cellulare: processamento, stoccaggio e distribuzione di epidermide/derma (cheratinociti e fibroblasti).

8.1.3.2 Development objectives GROUPS PARTICIPATING IN IRMI, WHOSE TRANSFERABILITY EXCEEDS THE DURATION OF THE THREE-YEAR PROJECT.

OR CMR/CIDISTEM 3

Clinical trials of gene therapy based on cultures of genetically modified epidermal stem cells.

OR POLITO 3:

Development and optimization of cell expansion through bioreactors under conditions of null gravity.

OR POLITO 4:

Development and optimization of cell expansion / tissue in bioreactors by functionalizing areas.

OR POLITO 5:

Development and optimization dell'handling constructs.

OR UNITO-MBC Proff Altruda/Silengo/Camussi:

Preclinical cell therapy based on cultures of spermatogonial stem cells differentiated into hepatocytes. Spermatogonial stem cell differentiation induced by microvesicles. From preclinical to clinical

OR UNITO-MBC Proff Tarone/Brancaccio/Hirsch:

Spermatogonial stem cell differentiation into cardiomyocytes. Production of experimental protocols of differentiation and their validation. Analysis and in-depth characterization of the features of cardiomyocytes obtained. Preclinical testing with spermatogonial stem cells differentiated into cardiomyocytes in animal models of heart failure (heart attack).

OR UNITO-MBC Prof. Tarella:

Organization of a laboratory that is the center of reference in Italy for the evaluation of the telomere, as parameter of cellular senescence, on samples of stem cells; development of a bancaggio with aliquots of samples of stem cells, which come from: a) Samples of material pre-transplantation; b) samples of material obtained in various stages post-transplant c) samples from healthy subjects of different ages.

OR UNITO-MBC Prof. Aime:

Development of new compounds and protocols for cell labeling, both for internalisation that for anchoring of the probe for imaging the outside of the cytoplasmic membrane.

Development of methods for the inclusion of probes for imaging cellular / molecular, possibly responsive to microenvironmental parameters, in 'scaffold' polymer for the transplantation of cells in the form of cell aggregates tissue-mimetics.

8.2 OBIETTIVI REALIZZATIVI E ATTIVITÀ

8.2.1 OBIETTIVI REALIZZATIVI PIU' RAPIDAMENTE TRASFERIBILI A LIVELLO INDUSTRIALE

8.2.1 Development objectives more quickly transferable at an industrial level

OR At Grade srl 1: Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) di prodotti di terapia avanzata costituiti da cellule allogeniche (da donazione) espanso in vitro e seminate su scaffolds tridimensionali

Realizzazione di uno studio di sperimentazione clinica e presentazione del dossier per la registrazione presso l'EMA (European Medicines Agency) un supporto medico chirurgico complesso, che contenga in sé più componenti coinvolte nel wound-healing. In pratica si propone lo sviluppo clinico e la sottomissione del dossier di registrazione come farmaco di scaffolds a base di acido ialuronico esterificato e cellule (cheratinociti e Fibroblasti di origine allogenica) che possano ricreare i presupposti di microambienti atti alla sopravvivenza cellulare, alla migrazione e proliferazione nonché alla liberazione di fattori trofici (es. fattori di crescita quali KGR e FGF) che agevolino il processo di riparazione. Tale approccio è tanto più interessante se si considera che recenti studi dimostrano che l'uso di tessuti prelevati dal paziente stesso (tessuto adiposo) e usati come trattamento delle ulcere hanno dato risultati incoraggianti.

L'utilizzo di scaffold contenenti cellule è quindi un passo decisivo verso una terapia innovativa nel trattamento delle ulcere. Inizialmente l'uso delle cellule in scaffolds di acido ialuronico era limitato all'autotrapianto, ovvero all'uso di cellule prelevate dal paziente e quindi espanso in vitro e seminate su scaffold da impiantare al paziente. Questa procedura ha l'indubbio vantaggio di non presentare alcun rischio di incompatibilità ma ha anche il problema del tempo richiesto alla espansione cellulare in vitro che richiede almeno 4 settimane.

La possibilità di avere a disposizione elementi cellulari da donazione offre notevoli vantaggi industriali e clinici: di avere un supporto cellulare immediatamente disponibile senza alcun rischio di rigetto in quanto la procedura di congelamento/scongelo di cellule riduce il loro potenziale immunologico e il fatto che le cellule siano inserite in una struttura tridimensionale impedisce loro di migrare ed entrare in contatto con le cellule deputate alla risposta immunitaria.

Attività previste:

- (i) **SS1:** valutazione del progetto di registrazione dei farmaci e preparazione della documentazione necessaria per le attività di realizzazione del protocollo di studio e reclutamento pazienti (previsti 150) (0-3 mesi)
- (ii) **SS2:** start-up delle attività. Approvazione protocolli, CRF, consensi informati, brochure, identificazione dei centri coinvolti, approvazione dell'Autorità competente.(4-9 mesi)
- (iii) **RI1:** inizio attività di arruolamento e valutazione, visite di monitoraggio. Familiarizzazione strumenti a supporto (CRF, Database, ecc...). Data Management (10-20 mesi)
- (iv) **RI2:** Biostatistica. Preparazione piano di analisi statistica, grafici e valutazione finale. (21-24 mesi)
- (v) **RI3:** Redazione del Clinical Study Report e presentazione. (25-30 mesi)

TOTALE: 30 mesi

Location:

Laboratori At Grade c/o AO Niguarda –

“Centro di Riferimento Regionale per la coltura di epidermide umana in vitro e Banca per la crioconservazione dei tessuti”

Pad. 16 Rossini

Soggetto attuatore AtGrade

Soggetto terzo A.O: Niguarda

OR At Grade srl 1: Clinical trial and submission of the dossier for registration as a drug at the EMA (European Medicines Agency) for advanced therapy medicinal products consist of allogeneic cells (by donation) expanded in vitro and seeded onto three-dimensional scaffolds

Implementation of a clinical trial and the filing for registration with the EMA (European Medicines Agency) of a complex medical surgical support, which in itself contains several components involved in wound-healing. In practice, it is proposed clinical development and submission of the registration dossier as drug scaffolds based on hyaluronic acid esterified and cells (keratinocytes and fibroblasts of allogeneic origin) that can recreate the conditions of micro-environments suitable for cell survival, migration and proliferation as well as to the release of trophic factors (eg, growth factors such as FGF and KGR) to facilitate the repair process. This approach is all the more interesting considering that recent studies show that the use of tissues taken from the patient himself (adipose tissue) and used as a treatment of ulcers have given encouraging results.

The use of scaffolds containing cells is therefore a crucial step towards an innovative therapy in the treatment of ulcers. Initially the use of cells in scaffolds of hyaluronic acid was limited to autograft, namely the use of cells taken from the patient and then expanded in vitro and seeded onto scaffolds to be implanted to the patient. This procedure has the obvious advantage of not present any risk of incompatibility, but also has the problem of the time required for cell expansion in vitro and requires at least 4 weeks.

The possibility to have available cellular elements from donation offers considerable advantages industrial and clinical: to have a cellular support immediately available without any risk of rejection because the procedures of freezing / thawing of cells reduces their potential immunologic and the fact that the cells are inserted in a three-dimensional structure prevents them to migrate and come in contact with the cells responsible for the immune response

Planned activities:

- (i) SS1: project evaluation of drug registration and preparation of documentation required for the realization of the study and patient recruitment protocol (under 150) (0-3 months)*
- (ii) SS2: start-up of activities. Approval of protocols, CRFs, informed consent, brochures, identification of the centers involved, approval of the competent authority. (4-9 months)*
- (iii) RI1: Start of recruitment and assessment, monitoring visits. Familiarization support tools (CRF, Database, etc ...). Data Management (10-20 months)*
- (iv) RI2: Biostatistics. Preparing statistical analysis plan, charts, and final evaluation. (21-24 months)*
- (v) RI3: Preparation of Clinical Study Reports and presentation. (25-30 months)*

TOTAL: 30 months

location:

Workshops At Grade c / o AO Niguarda -

"Regional Reference Center for the culture of human skin in vitro and the Bank for the cryopreservation of tissues"

Rossini Hall 16

Piazza Ospedale Maggiore 3 - 20162 Milan

Implementing body AtGrade

OR At Grade srl 2: Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) di prodotti di terapia avanzata costituiti da cellule autologhe espanse in vitro e mantenute in sospensione

Realizzazione di uno studio di sperimentazione clinica e presentazione del dossier per la registrazione presso l'EMA (European Medicines Agency) di un supporto medico chirurgico complesso, che contenga in sé più componenti coinvolte nella rigenerazione del derma profondo. In pratica si propone lo sviluppo clinico e la sottomissione del dossier di registrazione come farmaco di un cellule autologhe espanse in vitro imputate alla rigenerazione del tessuto dermale (Fibroblasti) e mantenute in una sospensione (fase liquida) di siero autologo che agevoli il processo di riparazione. Tale procedura è atta alla riparazione dei danni dermali dovuti ad importanti alterazioni morfo-strutturali causati da esiti chirurgici o traumatici o patologie degenerative.

Attività previste:

- (i) **SS1:** valutazione del progetto di registrazione dei farmaci e preparazione della documentazione necessaria per le attività di realizzazione del protocollo di studio e reclutamento pazienti (previsti 150) (0-3 mesi)
- (ii) **SS2:** start-up delle attività. Approvazione protocolli, CRF, consensi informati, brochure, identificazione dei centri coinvolti, approvazione dell'Autorità competente.(4-9 mesi)
- (iii) **RI1:** inizio attività di arruolamento e valutazione, visite di monitoraggio. Familiarizzazione strumenti a supporto (CRF, Database, ecc...). Data Management (10-20 mesi)
- (iv) **RI2:** Biostatistica. Preparazione piano di analisi statistica, grafici e valutazione finale. (21-24 mesi)
- (v) **RI3:** Redazione del Clinical Study Report e presentazione. (25-30 mesi)

TOTALE: 30 mesi

Location:

Laboratori At Grade c/o AO Niguarda –

“Centro di Riferimento Regionale per la coltura di epidermide umana in vitro e Banca per la crioconservazione dei tessuti”

Pad. 16 Rossini

P.zza Ospedale Maggiore 3 – 20162 Milano

Soggetto attuatore AtGrade

Soggetto terzo A.O: Niguarda

OR At Grade srl 2: Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) of advanced therapy products consisting of cellule autologhe espanse in vitro e mantenute in sospensione

Implementation of a clinical trial and the filing for registration with the EMA (European Medicines Agency) of a complex medical surgical support, which in itself contains several components involved in the regeneration of the

dermis. In practice, it is proposed clinical development and submission of the registration dossier as a drug of autologous cells expanded in vitro charged to the regeneration of dermal tissue (fibroblasts) and kept in a suspension (liquid phase) of autologous serum that facilitates the repair process. This procedure is suitable for the repair of the dermal damaged derived from important morpho-structural outcomes caused by surgery or trauma or degenerative diseases.

Planned activities:

- (i) SS1: evaluation of the project registration of drugs and preparation of the necessary documentation for the work to complete the study protocol and patient recruitment (under 150) (0-3 months)
- (ii) SS2: start-up of activities. Approval protocols, CRFs, informed consent, brochures, identification of the centers involved, approval of the competent authority. (4-9 months)
- (iii) RI1: Start of operation recruitment and assessment, monitoring visits. Familiarization support tools (CRF, Database, etc ...). Data Management (10-20 months)
- (iv) RI2: Biostatistics. Preparing statistical analysis plan, charts, and final evaluation. (21-24 months)
- (v) RI3: Preparation of Clinical Study Reports and presentation. (25-30 months)

TOTAL: 30 months

location:

Workshops At Grade c / o AO Niguarda -

"Regional Reference Center for the culture of human skin in vitro and the Bank for the cryopreservation of tissues"

Rossini Hall 16

Piazza Ospedale Maggiore 3 - 20162 Milan

Implementing body AtGrade

Third party: A. Ó Niguarda

OR LABORATORIO PROMETEO BCTM 1: PROGETTAZIONE, PROTOTIPIZZAZIONE, SPERIMENTAZIONE, PRODUZIONE ED IMMISSIONE IN COMMERCIO DI PASTE OSTEOINDUTTIVE

Formulazione di una miscela contenente matrice ossea demineralizzata umana (DBM), chips di osso corticospongioso umano liofilizzato, collagene equino e polimero biocompatibile termoplastico. Immissione in commercio con indicazione di riempitivo osteoinduttivo in chirurgia ortopedica ed odontoiatrica.

In LABORATORIO PROMETEO BCTM vengono già prodotti:

- DBM: polvere d'osso finemente tritata che viene demineralizzata al fine di esporre i fattori rigenerativi contenuti nella matrice ossea, quali: proteine osteoinduttive, (BMP-2, -7 e -4), fattori chemiotattici per il reclutamento dei progenitori tissutali (TGF- β e IGF-1) e fattori angiogenici (VEGF).
- Chips di corticospongiosa liofilizzati: osso corticospongioso morcellizzato, al fine di ottenere particelle di 1mm di diametro che vengono successivamente ripulite dalla componente organica e liofilizzate;

Attività previste:

- (i) SS1. Perfezionamento della formulazione della pasta. La ricerca si focalizzerà soprattutto nella scelta del polimero che dovrà avere due concomitanti caratteristiche: biocompatibilità e termoplasticità (capacità di indurirsi a 37 °C) (6 mesi);
- (ii) SS2. Prototipizzazione, validazione e sperimentazione (12 mesi);
- (iii) RI1. *scaling-up* della procedura (2 mesi);
- (iv) RI2. implementazione della *process validation*, dei batch record e del materiale documentale ed informativo e del packaging (2 mesi);
- (v) IC immissione in commercio (2 mesi).

TOTALE: 24 mesi

Location e soggetto attuatore:

Laboratorio Prometeo IOR Banca del Tessuto Muscoloscheletrico (BTM)

Istituto Ortopedico Rizzoli

Via G.C. Pupilli 1

40136 Bologna

OR LABORATORY PROMETEO BCTM 1: DESIGN, PROTOTYPING, EXPERIMENTATION, PRODUCTION AND COMMERCIALIZATION OF OSTEOINDUCTIVE PASTE

Formulation of a mixture, constituted of a demineralized bone matrix (DBM), human corticocancellous freeze-dried bone, equine collagen and thermoplastic biocompatible polymer. Commercialization with the indication of an osteoinductive filler in orthopedic and dental surgery.

At the Laboratory PROMETEO BCTM are produced:

- *DBM: demineralized bone dust finely chopped. It is demineralized in order to display the regenerative factors, included in the bone matrix, such as: osteoinductive proteins (BMP-2, -7 and -4), chemotactic factors for the recruitment of tissue progenitors (TGF- β and IGF-1) and angiogenic factors (VEGF).*
- *Freeze-dried corticocancellous chips: morcelizes corticoconcellous bone, useful to obtain 1mm diameter particles, that are consequently cleaned out of organic and freeze-dried components.*

Scheduled activities:

- SS1. Improvement of the paste formulation. The research will focus above all on the polymer choice, that should have two necessary features: biocompatibility and thermo-plasticity (capacity to induce to 37°C) (6 months);*
- SS2. Prototyping, validation and experimentation (12 months);*
- RI1. Scaling-up of the procedure (2 months);*
- RI2. Implementation of the process validation of batch records, documental and informative material and packaging;*
- IC. Commercialization. (2 months).*

TOTAL: 24 months.

Location and implementing subject

Laboratorio Prometeo IOR e Banca del Tessuto Muscoloscheletrico (BTM)

Istituto Ortopedico Rizzoli

Via G.C. Pupilli 1

40136 Bologna.

OR LABORATORIO PROMETEO BCTM 2: PROGETTAZIONE, PROTOTIPOIZZAZIONE, SPERIMENTAZIONE, PRODUZIONE E COMMERCIALIZZAZIONE DI DERIVATI OSSEI CHE RICHIEDONO LAVORAZIONI AD ELEVATA PRECISIONE, MEDIANTE UTILIZZO DI UN SISTEMA DI TAGLIO AUTOMATIZZATO.

Implementazione di un sistema di taglio automatizzato che utilizza software CAD/CAM. Suddetto sistema è in grado di modellare l'osso con elevatissima precisione grazie ad una fresa movimentata da una macchina di lavorazione. La fresatrice impiegata per il taglio dell'osso, è in grado di operare in condizioni di sterilità ed è adatta a lavorare in

camera sterile, grazie all'assenza di parti meccaniche esposte; essa riproduce dettagliatamente modelli 3D disegnati tramite software CAD partendo da stecche di ossa lunghe. Grazie a questa tecnologia sarà in breve possibile produrre derivati ossei che richiedono una precisione di sagomatura che eccede le naturali possibilità umane. In particolare, verranno sviluppati:

- cage intervertebrali ossee. Le *cage* sono piccoli spaziatori che vengono utilizzati in chirurgia vertebrale nella tecnica di fusione intervertebrale, operazione necessaria per trattare soggetti affetti da invalidante degenerazione discale. La fusione intervertebrale permette una stabilizzazione immediata del tratto lombare degenerato; passaggio critico di questa tecnica è rappresentato dall'introduzione della *cage* nello spazio compreso tra due vertebre, il cui ruolo è quello di innescare la produzione di osso che nel tempo sostituisce il disco. Storicamente prodotte in materiali sintetici, quali fibre di carbonio, o polimeri biocompatibili (PEEK), grazie alla possibilità di impiegare sistemi robotizzati per il taglio di precisione, sono oggi già presenti sul mercato americano *cage* ottenute da osso corticospongioso umano. Le *cage* in osso, per loro natura, hanno il vantaggio di essere totalmente biointegrabili, a tal punto da non essere più individuabili tramite TAC una volta che le due vertebre si sono fuse tra di loro. Le *cage* in osso non sono attualmente prodotte in Europa.
- lamine di osso corticale. Le lamine sono stecche di osso della lunghezza compresa tra 5 e 8 cm e dello spessore di 1mm. Sono troppo sottili per essere ricavate mediante taglio manuale. Suddette lamine corticali verranno introdotte in commercio per essere utilizzate nella tecnica di chirurgia odontoiatrica, nota con il nome di *box-technique*. La *box-technique* è una delle tecniche di ricostruzione orizzontale del seno mascellare di maggior successo clinico; tuttavia, a causa della eccessiva morbidità del prelievo osseo autologo mascellare, questa tecnica è stata un po' abbandonata negli ultimi anni. Grazie alla disponibilità delle lamine corticali da donatore cadavere, un prodotto completamente innovativo, sarà possibile rilanciare la *box-technique*, in quanto non sarà più necessario prelevare una elevata quantità di osso autologo dal paziente. Il LABORATORIO PROMETEO BCTM sarebbe la prima Banca del Tessuto al mondo a commercializzare questo prodotto.

In LABORATORIO PROMETEO BCTM è già presente una fresatrice a controllo numerico per camera sterile, gestita tramite software CAM, prodotta dalla Delta Macchine di Rieti.

Attività previste:

- (i) SS1. Progettazione e disegno dei tessuti tramite software CAD (6 mesi);
- (ii) SS2. ottimizzazione della fresatrice a controllo numerico (3 mesi);
- (iii) SS3. ottimizzazione della procedura di sagomatura dell'osso automatizzata (3 mesi);
- (iv) SS4. Prototipizzazione, validazione e sperimentazione (12 mesi);
- (v) RI1. implementazione della *process validation*, dei batch record e del materiale documentale ed informativo e del packaging (2 mesi);
- (vi) IC.immissione in commercio (2 mesi).

TOTALE: 28 mesi

Location e soggetto attuatore:

Laboratorio Prometeo IOR e Banca del Tessuto Muscoloscheletrico (BTM)

Istituto Ortopedico Rizzoli

Via G.C. Pupilli 1

40136 Bologna

OR Laboratory Prometo BCTM 2: DESIGN, PROTOTYPING, EXPERIMENTATION, PRODUCTION AND COMMERCIALIZATION OF BONE DERIVATIVES THAT REQUIRE HIGH-PRECISION MANUFACTURING, THROUGH THE USE OF A COMPUTERIZED CUTTING SYSTEM.

Implementation of a computerized cutting system that uses a CAD/CAM software. This system is able to model the bone with high precision thanks to a moving milling cutter of a machine. The milling cutter used to cut the bone, is able to operate under conditions of sterility and is adequate to work in a sterile room, thanks to the absence of exposed mechanical components; it fully replicates 3D models, designed through software CAD, starting from long stick bone. Thanks to this technology, in the next future, it will be possible to produce bone derivatives that requires a shaping so precise that overcomes the natural human possibilities. In particular, the following will be developed:

- *Intervertebral bone cage. Cages are small spacer that are used in vertebral surgery under the intervertebral fusion technique. This operation is necessary to treat subjects affected by invalidating disc deterioration. The intervertebral fusion allows an immediate stabilization of the degenerative of the deteriorated lumbar segment; critical passage of the technique is represented through the cage introduction in the space between two discs, whose role is to trigger off the production of the bone that shall substitute the disc. Actually, in the American market, there are cages, obtained from the human corticocancellous bone. Before, they were made of synthetic material, like carbon fibers or biocompatible polymers (PEEK), thanks to the use of robotized cutting systems. The bone cage, for its nature, have the advantage to be so absolutely biodegradable, that they are not even detectable through TAC, once discs melt into each other. The bone cage are not actually produced in Europe.*
- *Bone cortical sheets. Sheets are stick bones with length between 5 and 8 cm and thickness 1mm. They are indeed too thick to be made through manual cut. These cortical sheets shall be commercialized to be used for dental surgery, known as box –technique. The box-technique is a horizontal construction technique of the most successful jawbone bay in a clinical area; nevertheless, thanks to an excessive softness of the autologous jawbone sample, the technique has been abandoned in the last years. Thanks to the availability of the cortical sheets given by a corps donator, a really innovative product, it will be possible to boost the box-technique, because it won't be necessary to take a sample of a big quantity of the patient autologous bone. The LABORATORY PROMOTEO BCTM would be the first Tissue Bank in the world, that will commercialize this product.*

At LABORATORY PROMETEO BCTM there's already a miller with a numerical control for a sterilized room, managed by a software CAM, produced by Delta Machine in Rieti.

Scheduled activities:

- (i) *SS1. Design and drawing of the tissues through software CAD (6 months);*
- (ii) *SS2. Optimization of the miller with a numerical control (3 months);*
- (iii) *SS3. Optimization of the computerized shaping procedure for the bone (3 months);*
- (iv) *SS4. Prototyping, validation and experimentation (12 months);*
- (v) *R11. Implementation of the process validation, of the batch record, documents and informative material and packaging (2 months);*
- (vi) *IC. Commercialization (2 months).*

Total: 28 months

Location and implementing subject

Laboratorio Prometeo IOR e Banca del Tessuto Muscoloscheletrico (BTM)

Istituto Ortopedico Rizzoli

Via G.C. Pupilli 1

OR LABORATORIO PROMETEO BCTM E NIGUARDA: MESSA A PUNTO DI UN NUOVO PROCESSO DI RICERCA INDUSTRIALE PER L'OTTENIMENTO DI FRAZIONI CELLULARI PURIFICATE DI CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI DA TESSUTO ADIPOSO PROCESSATO TRAMITE SISTEMA LIPOSTEM®, IN REGIME DI MANIPOLAZIONE NON RILEVANTE E OTTENIMENTO DELLE AUTORIZZAZIONI OBBLIGATORIE PER IMPIEGO DELLE SUDETTE CELLULE IN TRIALS CLINICI

Le cellule staminali mesenchimali (Mesenchymal Stem Cells - MSCs) sono cellule immature che hanno capacità di autorinnovarsi e differenziarsi in cellule più specializzate; la proprietà terapeutica che le rendono uno dei candidati per la medicina del futuro è la loro attitudine a stimolare la rigenerazione dei tessuti circostanti, grazie al rilascio paracrino di fattori di crescita e antiinfiammatori. Scoperte nel midollo osseo, oggi si sa che sono presenti praticamente in ogni tessuto del corpo. In particolare, il tessuto adiposo rappresenta la fonte di maggior interesse, sia per la sua disponibilità, sia per la sua elevata concentrazione in MSC, sia per la poca invasività delle tecniche di prelievo di questo tessuto.

Le classiche tecniche di isolamento delle MSC del tessuto adiposo (Adipose Stem Cells - ASC), si basano sulla digestione di quest'ultimo con enzimi. La prassi, inoltre, prevede la espansione delle ASC in vitro. Tali manipolazioni modificano completamente la fisiologia della cellula. Infatti, gli enzimi disgregano il glicocalice, struttura glicoproteica di membrana fondamentale per una più fisiologica comunicazione, riconoscimento e adesione cellulare, e l'espansione in vitro induce un adattamento della cellula al nuovo ambiente, riducendo progressivamente la sua staminalità.

Utilizzando come materiale di partenza il tessuto adiposo morcellizzato, ottenuto tramite il sistema LIPOSTEM®, in LABORATORIO PROMETEO BCTM verrà sviluppata una tecnica esclusivamente meccanica di purificazione delle ASC, che eviti sia il trattamento enzimatico del tessuto adiposo, sia l'espansione in vitro delle ASC, con due conseguenti

Le cellule così prodotte sono di qualità superiore, in quanto conservano sia l'integrità superficiale del glicocalice, sia le loro originarie caratteristiche staminali. Inoltre, il prodotto di ingegneria tissutale ottenuto potrà essere considerato come prodotto a manipolazione non rilevante in quanto, durante il processo di purificazione, il tessuto adiposo subirà unicamente manipolazioni previste dall'Allegato 1 del REGOLAMENTO (CE) N. 1394/2007 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 13 novembre 2007, sui medicinali per terapie avanzate.

Attività previste:

- (i) SS1. standardizzazione del prelievo e della omogeneizzazione in cluster cellulari integri tramite device LIPOSTEM® (3 mesi);
- (ii) SS2. analisi della composizione del tessuto adiposo ottenuto da device Lipostem (9 mesi);
- (iii) RI1. ottimizzazione della procedura di purificazione meccanica delle ASCs (6 mesi) ;
- (iv) SS3. analisi immunoistochimica delle ASC purificate (4 mesi);
- (v) RI2. implementazione della *process validation*, dei batch record e del materiale documentale ed informativo e del packaging (2 mesi);
- (vi) RI3 sperimentazione clinica, definizione dei protocolli clinici e completamento dell'iter autorizzativo (12 mesi);

TOTALE: 36 mesi

Location:

- 1) Banca del Tessuto Muscoloscheletrico (BTM)
Istituto Ortopedico Rizzoli
Via G.C. Pupilli 1
40136 Bologna

- 2) Centro di Riferimento Regionale per la coltura di epidermide umana in vitro e banca per la crioconservazione dei tessuti
A.O. Ospedale Niguarda Ca' Granda
Piazza dell'ospedale maggiore, 3
20162 Milano- Italia

Soggetto attuatore Laboratorio Prometeo IOR Bologna

Soggetto terzo A.O. Niguarda

OR LABORATORY PROMETEO BCTM AND NIGUARDA: DEFINITION OF A NEW INDUSTRIAL RESEARCH PROJECT, AIMING AT ACQUIRE PURIFIED CELLULAR FRACTIONS OF MESENCHYMAL STEAM CELLS OF ADIPOUS TISSUE PROCESSED THROUGH THE SYSTEM LIPOSTEM®, IN A REGIME OF NON-RELEVANT MANIPULATION AND THE OBTAINMENT OF THE COMPULSORY AUTORIZATIONS TO COMMIT THESE CELLS IN CLINICAL TRIALS.

Mesenchyme stem cells (MSCs) are premature cells that have the capacity to auto renovate and differentiate in more specialized cells; the therapeutic property that makes them one of the medical candidates of the future is their attitude to stimulate the regeneration of the surrounding tissues, thanks to the paracrine release of growth and anti-inflammatory factors. They were found in the bone marrow, actually we know that they are present in every tissue. In particular, the adipose tissue represents the most interesting source, because both for its availability and for its high concentration of MSC and, moreover, because of the little invasiveness of the sampling techniques of this tissue.

The traditional isolation techniques of MSC in the adipose tissue (Adipose Stem Cells –ASC), are based on the digestion of the adipose tissue thanks to the action of enzymes. Moreover, the praxis provides the expansion of the ASC in vitro. These manipulations completely modify the cell physiology. In fact, enzymes disintegrate the glycocalyx, a glycoprotein structure of a fundamental cell membrane for a more physiological communication, identification and cell adhesion, and the in vitro expansion induces the adaptability of the cell in a new environment, reducing progressively its stem cell.

Using the adipose tissue morcelized, obtained through the system LIPOSTEM®, at LABORATORIO PROMETEO BCTM will be developed an exclusively mechanic purification technique of ASC, that avoids both the enzymatic treatment of the adipose tissue, and the in vitro expansion of the ASC, with two consequences.

This kind of cells represents a superior quality material, because they keep both the superficial integrity of the glycocalyx and their original features as stem cells. Moreover, the obtained result of tissue engineering can be considered as a non-relevant product-manipulation, according to the Attachment 1 of the Regulation (CE) No. 1394/2007 of the European Parliament and the European Council of the 13th November 2007, concerning drugs for advanced therapies.

Scheduled activities:

- (i) SS1. Standardization of the sample and homogenization of integrated cells cluster through device LIPOSISTEM® (3 months);*
- (ii) SS2. Analysis of the adipose tissue composition, obtained by the device LIPOSTEM (9 months);*
- (iii) RI1. Optimization of the mechanical purification procedure of the ASCs (6 months);*
- (iv) SS3. Immunohistochemistry analysis of the purified ASC (4 months);*
- (v) RI2. Implementation of the process validation, of batch record and of documents, informative materials and packaging (2 months);*

- (vi) *RI3. Clinical experimentation, definition of clinical protocols and fulfillment of the authorization process (12 months).*

Total: 36 months

Location

1. Banca del Muscoloscheletrico (BTM)

Istituto ortopedico Rizzoli

Via G.C. Pupilli 1

40136 Bologna

2. Banca della cute

Ospedale Niguarda

Milano

Implementing subject Laboratorio Prometeo IOR Bologna

Third subject A.O. Niguarda

OR CMR/CIDSTEM 1: SPERIMENTAZIONI CLINICHE DI COLTURE DI EPITELIO URETRALE

Implementazione di sperimentazioni cliniche di Fase I/II di colture di cellule staminali uretrali mirate alla ricostruzione dell'epitelio uretrale in pazienti affetti da ipospadia posteriore congenita o stenosi uretrali recidivanti.

Attività previste:

- (i) SS1. completamento della definizione delle condizioni di coltura necessarie per l'identificazione e il mantenimento delle cellule staminali uretrali, completamento della loro caratterizzazione molecolare e realizzazione di scaffolds tubolarizzati che consentano il trapianto one-step di colture di cellule staminali uretrali (12 mesi);
- (ii) RI1. implementazione della *process validation*, dei batch record e del materiale documentale secondo le normative GMP che regolano le sperimentazioni cliniche (6 mesi);
- (iii) RI2. selezione dei pazienti idonei alla sperimentazione clinica, definizione dei protocolli clinici e completamento dell'iter autorizzativo alla sperimentazione stessa (12 mesi);
- (iv) RI3. implementazione di sperimentazioni cliniche di fase I/II del prodotto bio-ingegnerizzato (6 mesi).

TOTALE: 36 mesi

Location e soggetto attuatore

Centro di Medicina Rigenerativa "Stefano Ferrari"

Centro Interdipartimentale Cellule Staminali e Medicina Rigenerativa

Università di Modena e Reggio Emilia

ACRONIMO: CMR/CIDSTEM

OR CMR/CIDSTEM 2: SPERIMENTAZIONI CLINICHE DI COLTURE DI EPITELIO BUCCALE

Implementazione di sperimentazioni cliniche fase I/II di colture autologhe di cellule staminali della mucosa del cavo orale mirate alla ricostruzione della superficie oculare e al recupero della capacità visiva in pazienti con distruzione bilaterale completa dell'epitelio limbo-corneale.

Attività previste:

- (i) SS1. completamento della definizione delle condizioni di coltura necessarie per l'identificazione e il mantenimento delle cellule staminali epiteliali della mucosa del cavo orale, completamento della loro caratterizzazione molecolare e realizzazione di lembi di epitelio coltivati su fibrina adatti al trapianto sulla superficie oculare (8 mesi);
- (ii) RI1. implementazione della *process validation*, dei batch record e del materiale documentale secondo le normative GMP che regolano le sperimentazioni cliniche (6 mesi);
- (iii) RI2. selezione dei pazienti idonei alla sperimentazione clinica, definizione dei protocolli clinici e completamento dell'iter autorizzativo alla sperimentazione stessa (12 mesi);
- (iv) RI3. implementazione di sperimentazioni cliniche di fase I/II del prodotto bio-ingegnerizzato (10 mesi).

TOTALE: 36 mesi

Location e soggetto attuatore

Centro di Medicina Rigenerativa "Stefano Ferrari"

Centro Interdipartimentale Cellule Staminali e Medicina Rigenerativa

Università di Modena e Reggio Emilia

ACRONIMO: CMR/CIDSTEM

OR CMR/CIDSTEM 1: CLINICAL EXPERIMENTATION OF URETHRAL EPITHELIUM CULTURE.

Implementation of the clinical experimentation of Phase I and Phase II of urethral stem cells, aiming at the reconstruction of the urethral epithelium for patients, affected by congenital back hypospadias or urethral relapsing stenosis.

Scheduled Activities:

- (i) *SS. Fulfillment of the definition of the necessary conditions for culture for the identification and the maintenance of urethral stem cells, fulfillment of their molecular characterization and realization of the tabularized scaffolds that allow a one-step implant of urethral stem cells culture (12 months);*
- (ii) *RI1. Implementation of the validation process, batch record, documents according to the GMP regulations, that governs clinical experimentations (6 months);*
- (iii) *RI2. Selection of adequate patients for the clinical experimentation, definition of clinical protocols and fulfillment of the authorization process for the experimentation (12 months);*
- (iv) *RI3. Implementation of the clinical experimentation, in particular Phase 1 and 2 of the bio-engineered product (6 months);*

Total: 36 months

Location and implementing subject:

Centro di Medicina Rigenerativa "Stefano Ferrari"

Centro interdipartimentale Cellule Staminali e Medicina Rigenerativa

Università di Modena e Reggio Emilia

Acronimo: CMR/CIDSTEM

OR CMR/CIDSTEM 2: CLINICAL EXPERIMENTATION OF THE BUCCAL EPITHELIUM CULTURE.

Implementation of the clinical experimentation for Phase I and II of autologous stem cells cultures of the mouth mucous, aiming at reconstructing of the ocular surface and at the recovery of the visual capacity in patients with a complete bilateral destruction of the limbo-corneal epithelium.

Scheduled activities:

- (i) *SS1. Fulfillment of the definition of the culture conditions, necessary to identify the maintenance of the epithelial stem cells of the mouth mucous, fulfillment of their molecular characterization and realization of the cultivated epithelium flaps on fibrin, adequate for an implant of the ocular surface (8 months);*
- (ii) *RI1. Implementation of the validation process, of batch record, documents according to the GMP regulations that govern the clinical experimentation (6 months);*
- (iii) *RI2 . selection of adequate patients for the clinical experimentation, definition of clinical protocols and fulfillment of the authorization procedure (12 months);*
- (iv) *RI3. Implementation of the clinical experimentation, Phase I/II of the bio-engineered result (10 months).*

Total: 36 months.

Location and implementing subject:

Centro di Medicina Rigenerativa “Stefano Ferrari”

Centro Interdipartimentale Cellule Staminali e Medicina Rigenerativa

Università di Modena e Reggio Emilia

Acronimo: CMR/CIDSTEM

OR CIRI-SDV, Università di Bologna 1: CERTIFICAZIONE BPL DEL LABORATORIO, PER PROVE DI NEUROTOSSICITÀ E BIOCAMPATIBILITÀ DI MATERIALI IN VITRO E IN VIVO (ANIMALE DA LABORATORIO).

Presentazione della domanda di accreditamento come “Centro di saggio” al Ministero della Salute, in accordo con le Buone Pratiche di Laboratorio (BPL o GLP). Il laboratorio NeuroTransMed del CIRI-SDV, in collaborazione con la Fondazione IRET-ONLUS, già dispone di Procedure Operative Standard (N=50) e istruzioni tecniche (N=100) elaborate con la consulenza di GLP Solutions (<http://www.glpolutions.it/>) e il proprio personale è da oltre un anno per questo fine in formazione.

Attività previste:

- (i) *RI 1: completamento della stesura delle procedure (N=20) e presentazione della domanda (6 mesi)*
- (ii) *RI 2: risposta ai rilievi di audit (audit: stima di max 9 mesi dopo la presentazione della domanda; risposta ai rilievi: 3 mesi dopo l’audit)*

TOTALE: 18 mesi

Location e soggetto attuatore:

CIRI-SDV c/o IRET Foundation, Via Tolara di Sopra 47, 40064 Ozzano Emilia (Bologna)

OR CIRI-SDV, Università di Bologna 2: PROGETTAZIONE, PROTOTIPIZZAZIONE, SPERIMENTAZIONE, PRODUZIONE ED IMMISSIONE IN COMMERCIO DI ELETTROFILATI DI POLIMERI NATURALI E SINTETICI BIOCAMPATIBILI A DIVERSA GEOMETRIA, DA IMPIEGARSI ANCHE ASSOCIATI A CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI AUTOLOGHE E CAMPI ELETTROMAGNETICI A BASSA FREQUENZA PER LA RIPARAZIONE DI LESIONI NEUROLOGICHE.

Il laboratorio BrightNanotechLab del CIRI-SDV progetta, fabbrica e caratterizza scaffold e materiali polimerici innovativi per applicazioni biomedicali. Presso il laboratorio è attiva una linea di lavorazione di materiali polimerici mediante la tecnologia dell'elettrofilatura, già testati per impieghi clinici e come scaffolds di cellule staminali (submitted paper, in collaborazione con il laboratorio NeuroTransMed del CIRI-SDV). Il laboratorio NeuroTransMed testa, valida e sviluppa terapie convenzionali e terapie cellulari anche a partire da cellule staminali e dispositivi di medicina rigenerativa nanostrutturati, disponendo della filiera traslazionale inclusi i modelli animali di malattia. Igea (consorzio ATI grandi imprese) dispone di una tecnologia di erogazione di campi elettromagnetici pulsati (CEMP generator system, approvato per impieghi clinici) usabile sia per studi in vitro che per studi in vivo,

Attività previste:

- (i) SS 1: fabbricazione di scaffold elettrofilati a partire da polimeri biocompatibili, sia biorassorbibili che biostabili e funzionalizzazione degli scaffold con proteine di matrice extracellulare, fattori di crescita e farmaci (8 mesi);
- (ii) SS 2: studio in vitro delle proprietà biologiche di cellule mesenchimali su scaffolds funzionalizzati anche esposti a CEMP (sopravvivenza, proprietà antiinfiammatorie e antiapoptotiche da eseguire in accordo con GLP, mediante piattaforma di high-content analysis) (8 mesi)
- (iii) SS 3: studio delle proprietà biologiche di scaffolds funzionalizzati in situ sul modello della lesione del nervo sciatico e sul modello della lesione spinale traumatica anche dopo esposizione a CEMP (biocompatibilità, proprietà antiinfiammatorie e neuroprotettive, da progettare in accordo con GLP) (12 mesi)
- (iv) RI: progettazione e sviluppo di sistemi e protocolli di elettrofilatura e funzionalizzazione di elettrofilati compatibili con GMP per terapie cellulari del sistema nervoso (8 mesi)

TOTALE: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

CIRI-SDV, Via Selmi 2, 40126 - Bologna

CIRI-SDV c/o IRET Foundation, Via Tolara di Sopra 47, 40064 Ozzano Emilia (Bologna)

OR CIRI-SDV, UNIVERSITA' DI BOLOGNA 1: CERTIFICATION BPL OF THE LABORATORY, FOR NEUROTOXICITY PROOVES AND BIOCAMPATIBILITY OF IN VITRO AND IN VIVO (WITH ANIMALS) MATERIALS.

Presentation of the accreditation demand as "Test Center" at the Ministry of Health, according to the Best Practices in Laboratories (BPL or GLP). The laboratory of NeuroTransMED of the CIRI-SDV, in cooperation with the Foundation IRET-ONLUS, has already some standard operational procedures (N=50) and technical instructions (N=100), defined with the advice of GLP Solutions (<http://www.glpsolutions.it/>) and its personnel.

Scheduled activities:

- (i) *RI1. Fulfillment of the procedure drafting (N=20) and presentation of the demand (6months);*
- (ii) *RI2. Response to the audit samples (audit time estimated: 9 months after the presentation of the demand; response to the sample: 3 months after the audit).*

Total: 18 months.

Location and implementing subject:

CIRI-SDV at IRET Foundation

Via Tolara di Sopra 47,

40064 Ozzano Emilia (Bologna)

OR CIRI-SDV, Università di Bologna 2: DESIGN, PROTOTYPING, EXPERIMENTATION, PRODUCTION AND COMMERCIALIZATION OF ELETTROPHILIC OF NATURAL AND SYNTHETIC POLYMERS, BIOCOMPATIBLE AND WITH DIFFERENT GEOMETRY, TO BE USED AND ASSOCIATED TO AUTOLOGUS MESENCHYMAL STEAM CELLS AND ELETTROMAGNETIC FIELDS WITH LOW FREQUENCY FOR THE RECOVERY OF NEUROLOGIC INJURIES.

The laboratory Brightnanotechlab of CIRI-SDV designs, produces and characterizes scaffold and innovative polymeric materials for biomedical applications. At the Laboratory there's an operational manufacturing line that uses the electrophilic technology, already proved for clinical use and as steam cells scaffolds (submitted paper, in cooperation with the Laboratory NeuroTransMed of the CIRI-SDV). The Laboratory NeuroTransMed tests, validates and develops conventional therapies and cell therapies, also using steam cells and regenerative medicine nanostructured devices, contributing to the translational production chain, included the animal models of diseases. Igea (consortium ATI big firms) has a technology for the erogation of pulse electromagnetic fields (CEMP generator system, approved for clinical use), used both for in vitro and in vivo studies.

Scheduled activities:

- (i) SS1. Production of electrophilic scaffold made of biocompatible polymers, both bioabsorbable and biostable; functionalization of scaffold with proteins of extracellular matrix a, growth factors and drugs (8 months);*
- (ii) SS2. Studying, in vitro, of the biological properties of mesenchyme cells on functioning scaffolds, also exposed to CEMP (surviving, anti-inflammatory and antiapoptotic properties, to be executed in conformity with GLP, through a platform of high-content analysis) (8 months);*
- (iii) SS3: study of the biological properties of functioning scaffolds with the model of sciatic nerve injury and with the model of the traumatic spinal injury, even after the exposition of CEMP (biocompatibility, anti-inflammatory property and neuroprotective, to be designed in accordance with GLP) (12 months);*
- (iv) RI. Design and development of electrophilic systems and protocols and functioning of the compatible electrophilic according to GMP, with cell therapies of the nervous system (8months).*

Total: 36 months.

Location and implementing subject:

CIRI-SDV, via Selmi 2, 40126- Bologna

CIRI-SDV at IRET Foundation, via Tolara di Sopra 47, 40064 Ozzano Emilia (Bologna).

OR CIRI-SDV, Università di Bologna e PROMETEO BCTM: DEFINIZIONE DI UN PROFILO DI CONGRUITÀ DELLE PROPRIETÀ AUTOCRINE DI CELLULE MESENCHIMALI AUTOLOGHE PER IL CONTROLLO DELLA NEUROINFIAMMAZIONE E NEUROPROTEZIONE (BEST PRACTICE PROTOCOL).

Il laboratorio NeuroTransMed del CIRI-SDV ha già eseguito studi del profilo secretorio relativo a fattori trofici di interesse neurologico (NGF, BDNF, CNTF, GDNF) su cellule staminali mesenchimali umane derivate da diversi tessuti fetali (amnios, corion e gelatina di Wharton) e adulti (polpa dentale, midollo osseo) (submitted paper) e su cellule staminali neurali derivate da ippocampo (Neuropathol Appl Neurobiol. 2010, 36:535-50). Ha inoltre ottimizzato il dosaggio di citochine e chemochine infiammatorie mediante immunoassays in tecnologia multiplex su liquidi biologici (partecipando anche a trial clinici controllati) e sistemi cellulari.

Attività previste:

- (i) SS: analisi di un campione adeguato di cellule mesenchimali ottenute dalle banche di cellule del consorzio, al fine di definire la variabilità individuale nella produzione di fattori solubili (fino a 25 per pannello di analiti) utili alla riparazione del tessuto neurale e controllo dell'infiammazione (panels "neuroprotection" e "inflammation"). Il numero di campioni sarà definito statisticamente in relazione alle variabili definite significative (fra le quali: sesso, età, trattamenti farmacologici in corso, patologie in atto) (12 mesi)
- (ii) RI: analisi statistica comparativa rispetto a dati anagrafici e clinici, al fine di definire un protocollo di adeguatezza del campione autologo ai fini della neuroprotezione/neuroriparazione (6 mesi)

TOTALE: 18 mesi

Location e soggetti attuatori:

- 1) CIRI-SDV c/o IRET Foundation,
Via Tolara di Sopra 47,
40064 Ozzano Emilia (Bologna)
- 2) Laboratorio Prometeo, Banca del Tessuto Muscoloscheletrico (BTM)
Istituto Ortopedico Rizzoli

OR CIRI-SDV, Università di Bologna and PROMETEO BCTM: DEFINITION OF A CONGRUITY PROFILE OF THE AUTOCRINE PROPERTIES OF MESENCHYMAL AUTOLOGOUS CELLS, AIMING AT MONITORING THE NEUROINFLAMMATION AND THE NEUROPROTECTION (BEST PRACTICE PROTOCOL).

The Laboratory NeuroTransMed of CIRI-SDV has already executed the study of the secretary profile, related to trophic factors, interested for the neurological area (NDF, BDNF, CNTF, GDNF) on mesenchyme human stem cells, derived from different fetal tissues (amniois, corion and gel of Wharton) and adult ones (dental pulp, bone marrow) (submitted paper) and on neural stem cells, derived from the hippocampus (Neuropathol Appl Neurobiol. 2010, 36:535-50). Moreover, the dosage of cytokines and inflammatory chemokines, through the use of immunoassays and the multiplex technology on biological liquids (joining controlled clinical trials) and cellular systems.

Scheduled activities:

- (i) *SS. Analysis of an adequate sample of mesenchymal cells, obtained from the bank of cells, belonging to the consortium, in order to define the individual variability in the production of soluble factors (till 25 for each analytes panel), useful for the recovery of the neural tissue and panels for neuroprotection and inflammation. The number of samples will be statistically defined in relation to the significant variables (e.g.: sex, age, ongoing pharmacological treatments, ongoing pathologies) (12 months);*
- (ii) *RI. Comparative statistical analysis, in respect to anagraphical and clinical data, in order to define an adequate protocol of the autologous sample for the neuroprotection and the neurorecovery (6 months).*

Total: 18 months.

Location and implementing subject:

- 1. *CIRI-SDV at IRET Foundation*

*Via Tolara di Sopra 47,
40064 Ozzano Emilia (Bologna).*

- 2. *Laboratorio Prometeo, Banca del Tessuto Muscoloscheletrico (BTM)*

Istituto Ortopedico Rizzoli

*Via G.C. Pupilli 1
40136 Bologna.*

OR GENOMNIA e CNR 1: UTILIZZO DI TECNICHE DI SEQUENZIAMENTO MASSIVO DEGLI ACIDI NUCLEICI (NEXT GENERATION SEQUENCING, NGS) PER IL CONTROLLO QUALITÀ E SICUREZZA NELL'USO TERAPEUTICO DI CELLULE STAMINALI

Tecniche di sequenziamento massivo degli acidi nucleici (Next Generation Sequencing, NGS) per affrontare in modo innovativo i problemi connessi al controllo di qualità e alla sicurezza nell'uso terapeutico delle cellule staminali.

Attività previste:

- (i.) RI 1.1 (mesi 1-24) Controllo di qualità e di assenza di bio-contaminanti in batch di cellule staminali. RNA totale, estratto dai campioni di cellule staminali (prima e dopo espansione in cultura), sarà sequenziato con tecnologie NGS. Tutte le sequenze ottenute che si allineano sul genoma umano saranno sottratte "in silico" e le sequenze rimanenti saranno caratterizzate bioinformaticamente, permettendo di identificare con tecniche di metagenomica, tutti gli elementi contaminanti eventualmente presenti nel batch di cellule di partenza (virus; micoplasma; funghi; micobatteri etc).
- (ii.) RI 1.2 (mesi 1-24) Generazione di insiemi di marcatori di espressione genica (signatures), qualitativamente e quantitativamente significativi, utilizzabili per la determinazione e la caratterizzazione qualitativa dei diversi tipi di cellule staminali. I dati accumulati dall'analisi dei trascrittomi di diversi batch di cellule staminali (vedi punto precedente) saranno analizzati allo scopo di determinare il profilo di espressione genica caratteristico di un certo tipo cellulare in una determinata situazione di crescita. Questo profilo medio di ciascun tipo cellulare, sarà poi utilizzabile come "golden standard" per validare altri campioni simili.
- (iii.) RI 1.3 (mesi 1-24) Analisi della stabilità genomica delle cellule durante la fase di espansione in cultura. Tale analisi sarà condotta utilizzando la possibilità di sequenziare l'intero esoma della cellula oppure un pannello genico più ristretto, opportunamente scelto (oncogeni, oncosoppressori, etc). Il vantaggio di ridurre il bersaglio dell'analisi consiste nella possibilità, a parità di quantità di sequenza, di osservare anche eventi rari, limitati a poche cellule della cultura, che però poi avrebbero la possibilità di selezionarsi amplificandosi una volta trapiantate nel paziente.
- (iii) SS 1.4 (mesi 24-36) Validazione dei risultati ottenuti attraverso le analisi bioinformatiche su nuove culture sperimentali

Location e soggetti attuatori:

- GENOMNIA srl, (sede di via Nerviano 31b, Lainate e Via don melillo, Salerno)
- CNR, Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia, Roma

PRINCIPALI PROBLEMATICHE R&S E LORO SOLUZIONI:

Attività 1: in questo caso, la difficoltà principale probabilmente risiederà nelle caratteristiche dei campioni che saranno utilizzati. Per poter costituire una scala quantitativa delle possibili contaminazioni biologiche dei campioni esaminati, dovremo aggiungere artificialmente agli RNA estratti dai diversi campioni di cellule staminali disponibili, cocktails di RNA estranei, quantitativamente verificati, in modo da dimostrare il grado di sensibilità raggiungibile con la nostra tecnica.

Attività 2: Per ottenere delle signatures specifiche dei diversi tipi di cellule staminali esaminate bisognerà accumulare una sufficiente quantità di dati in condizioni di cultura estremamente standardizzate. L'esperienza maturata infatti ci insegna che in una cultura cellulare molte variazioni di espressione genica sono momentanee e avvengono in risposta a stimoli transitori che la cultura subisce (oscillazioni nella composizione del mezzo, variazioni del pH, densità cellulare, etc.). Quindi, la lista dei geni il cui profilo di espressione sarà utilizzato per ottenere la signature, dovrà tener conto e trascendere queste problematiche.

Attività 3: In questo caso il problema maggiore consisterà dalla difficoltà di mettere in evidenza l'originarsi nella cultura cellulare di nuove mutazioni, che inizialmente saranno presenti solo in un piccolo numero di cellule. Normalmente, il sequenziamento NGS dell'esoma viene fatto con una profondità media di 200x, ovvero ogni base dell'esoma viene indipendentemente sequenziata 200 volte. Molto grossolanamente, ciò corrisponde ad esaminare statisticamente il genoma di 100 cellule diploidi. Per ottenere una maggiore sensibilità, cioè per esaminare un numero di cellule maggiore, la nostra strategia consisterà non solo nell'aumentare la quantità di sequenza realizzata (e quindi il costo) ma anche e soprattutto nel sequenziare un target genomico più ristretto, limitato solo ad alcune centinaia di geni, che la letteratura suggerisce come più soggetti a mutazioni spontanee. Dovremo quindi riuscire ad individuare un gruppo di geni sentinella, capaci di mettere in luce problemi di stabilità genomica della cultura.

OR GENOMNIA AND CNR 1: USE OF MASSIVE SEQUENCING TECHNIQUE OF NUCLEIC ACIDS (NEXT GENERATION SEQUENCING) FOR THE QUALITY AND SAFETY CONTROL IN THE THERAPEUTIC USE OF STEM CELLS.

Massive sequencing techniques of nucleic acids (Next Generation Sequencing, NGS) in an innovative way to address quality and safety controls to the therapeutic use of stem cells.

Scheduled activities:

- (i) *RI 1.1 (months 1-24) Control of quality and of the absence of bio-contaminants in batches of stem cells. Total RNA extracted from the stem cell samples (before and after expansion in culture) will be sequenced with NGS technologies. All obtained sequences that align with the human genome will be subtracted "in silico" and the remaining sequences will be characterized through bioinformatics, allowing the identification, thanks to techniques of metagenomic, of all the contaminants that may be present in the batch of starting cells (viruses, mycoplasma, fungi, mycobacteria, etc.).*
- (ii) *RI 1.2 (months 1-24) Generation of sets of markers of gene expression (signatures), qualitatively and quantitatively significant, used for the determination and qualitative characterization of the various types of stem cells. The accumulated data from the analysis of the transcriptome of different batch of stem cells (see previous paragraph) will be analyzed in order to determine the gene expression profile of a certain cell type in a given situation of growth. This average profile of each cell type, will then be used as a "golden standard" to validate other similar samples.*
- (iii) *RI 1.3 (months 1-24) Analysis of the genomic stability of the cells during the phase of expansion in culture. This analysis will be conducted using the possibility of sequencing the entire esoma of the cell or a narrower gene panel, suitably chosen (oncogenes, tumor suppressor genes, etc.). The advantage of reducing the target of the analysis consists in the possibility, for the same amount of sequence, also observe rare events, limited to a few cells of the culture, but then would have the possibility to select, amplifying, once transplanted into the patient.*
- (iv) *SS 1.4 (months 24-36) Validation of the results obtained through bioinformatics analysis of new experimental cultures*

Location and implementing subjects:

- GENOMNIA srl, (Headquarters in via Nerviano 31b, Lainate e Via don melillo, Salerno)
- CNR, Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia, Roma

MAIN ISSUE IN R&D AND SOLUTIONS

Task 1: *in this case, the main difficulty probably resides in the characteristics of samples that will be used. To serve as a quantitative scale of possible biological contamination of the samples examined, we artificially add to RNA extracted from different samples of stem cells available, cocktails of extraneous RNA, quantitatively verified in order to demonstrate the sensitivity achievable with our technique.*

Task 2: *To obtain the signatures specific to the different types of stem cells examined must accumulate a sufficient amount of data under conditions of extremely standardized culture. The experience teaches us that in a cell culture many variations of gene expression are temporary and it occurs in response to stimuli that culture undergoes transient (fluctuations in the composition of the medium, changes in pH, cell density, etc.). So, the list of genes whose expression profiles will be used to obtain the signature, must be taken into account and transcend these issues.*

Task 3: *In this case, the biggest problem will be to highlight the difficulty of the arising of new mutations in cell culture, which initially will be presented only in a small number of cells. Normally, the NGS of the esoma sequencing is done with an average depth of 200x, thus each base of the esoma is independently sequenced 200 times. Generally speaking, this corresponds statistically to the examination of the genome of 100 diploid cells. To obtain a higher sensitivity, thus to examine a greater number of cells, our strategy will consist not only in increasing the amount of sequence created (and therefore the cost) but also, and above all, in the target of a more restricted genomic sequence, limited only to some hundreds of genes, that literature suggests as more prone to spontaneous mutations. We will then be able to identify a group of genes sentinel, able to highlight issues related to genomic stability culture.*

OR CNR 2: IMPLEMENTAZIONE DI SISTEMI HTS PER L'IDENTIFICAZIONE DI NUOVE MOLECOLE REGOLATRICI DELLA PROLIFERAZIONE E DEL DIFFERENZIAMENTO DELLE CELLULE STAMINALI.

Identificazione e caratterizzazione di nuove molecole che regolano la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali, attraverso l'applicazione di metodologie/ tecnologie di avanguardia come la robotica. La strategia sperimentale proposta si basa sull'uso di due piattaforme tecnologiche.

Una stazione robotica denominata Cell-Maker, concepita per lo screening automatizzato di collezioni di composti (librerie chimiche, farmaci, fattori di crescita, metaboliti, ecc.) sulla proliferazione/ differenziamento delle cellule staminali. La postazione robotizzata consente di saggiare simultaneamente l'effetto di migliaia di composti, ed accelerare il processo di drug discovery.

Attività previste:

- (i) RI 2.1 (mesi 1-6) ingegnerizzazione/costruzione di linee di cellule staminali murine adatte allo studio della proliferazione e/o differenziamento delle cellule staminali.
- (ii) RI 2.2 (mesi 7-12) screening in automazione (HTS) di librerie di composti 'farmacologicamente attivi' sulla proliferazione e/o sul differenziamento delle cellule staminali.
- (iii) SS 2.3 (mesi 13-36) validazione dell'attività dei composti identificati nello screening sulla proliferazione e/o differenziamento di cellule staminali umane.

Utilizzazione della tecnologia HTM (High content/Throughput Microscopy) per analizzare le basi molecolari delle scelte differenziali di cellule staminali in differenti condizioni sperimentali (perturbazioni basate su siRNA, prodotti chimici, etc). La nostra unità operativa si propone di dare un contributo in questa direzione utilizzando il sistema dei mesoangioblasti murini. Utilizzando una piattaforma di screening "high content" basata sulla microscopia a fluorescenza automatizzata ci proponiamo di identificare molecole che possano "incanalare" il differenziamento di cellule progenitrici verso il muscolo scheletrico o il muscolo liscio. Le molecole identificate come "hits" nello screening saranno utilizzate per perturbare il sistema cellulare al fine di sviluppare un modello predittivo che sia in grado di inferire il comportamento del sistema anche in condizioni che non siano state testate sperimentalmente. L'analisi del comportamento del modello dovrebbe quindi fornire nuove ipotesi sull'utilizzo di combinazioni di perturbazioni di pathway cellulari al fine di migliorare l'efficienza di differenziamento.

Attività previste:

- (i) RI 2.4 (mesi 1-6) Analisi del differenziamento di mesoangioblasti murini: cellule progenitrici associate ai vasi sanguigni con elevate capacità miogeniche.
- (ii) RI 2.5 (mesi 7-12) identificazione di molecole che siano in grado di indirizzare/modulare le scelte differenziali attraverso la perturbazione della rete di signalling intracellulare, con particolare riguardo al differenziamento del muscolo scheletrico e del muscolo liscio.
- (iii) RI 2.6 (mesi 13-24) Analisi multiparametrica dei profili di attivazione di proteine regolatrici nei processi differenziali dei mesoangioblasti.
- (iv) SS 2.7 (mesi 24-36) Validazione degli effetti di queste molecole sull'attivazione dei vari pathway cellulari monitorati mediante analisi multiparametrica

Location e soggetto attuatore:

- CNR, Istituto di Genetica e Biofisica "A. Buzzati-Traverso", Napoli

PRINCIPALI PROBLEMATICHE DI R&S E LORO SOLUZIONI

Non è chiaro quanto sia facile (e se sia possibile) modulare il differenziamento di una cellula staminale adulta mediante l'utilizzo di piccole molecole. La collezione di molecole scelta è quella costituita da circa 1200 composti approvati dal FDA. Sebbene le molecole in questa collezione abbiano un ampio spettro farmacologico non è sicuro che tra queste ce ne siano alcune che abbiano un effetto apprezzabile sul differenziamento. Qualora il primo screening fallisse, intendiamo condurre un secondo screening mediante siRNA per identificare i geni la cui inibizione alteri il differenziamento dei mesoangioblasti. Una volta identificati i geni ed/o i pathway target potremmo selezionare da altre librerie composti che abbiano la possibilità di inibire i prodotti di questi geni

La difficoltà principale consiste nel definire le condizioni sperimentali per lo screening HTS sulle cellule staminali. Per effettuare questi saggi con elevata affidabilità ed in condizioni di sterilità, necessarie per lavorare con cellule in coltura, L'OR si avvarrà di una piattaforma robotica innovativa sviluppata all'IGB e unica in Italia, in grado di analizzare la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali in completa automazione e sterilità, ed effettuare saggi HTS per poter saggiare simultaneamente l'effetto di migliaia di molecole/composti (librerie chimiche) sulle cellule staminali. La strategia proposta non implica alcuna modifica genetica delle cellule superando così un grosso limite per la terapia. Inoltre, il personale (tecnico e di ricerca) dell'IGB è altamente qualificato nello studio delle cellule staminali come dimostrato dalle pubblicazioni scientifiche dei ricercatori coinvolti, dai brevetti e dall'attività di alta formazione nel campo. Diverse librerie di composti farmacologicamente attivi, sono già disponibili in laboratorio, aumentando così la probabilità di identificare composti attivi sulla proliferazione e/o il differenziamento delle cellule.

OR CNR 2: IMPLEMENTATION OF HTS SYSTEMS FOR THE IDENTIFICATION OF NEW REGULATION MOLECULES OF THE PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION OF STEM CELLS.

Identification and characterization of new molecules that regulate proliferation and / or differentiation of stem cells, through the application of methods / cutting-edge technologies such as robotics. The experimental strategy proposal is based on using two technology platforms.

A robotic station called Cell-Maker, designed for the automated screening of collections of compounds (chemical libraries, drugs, growth factors, metabolites, etc..) On proliferation / differentiation of stem cells. The robotic workstation allows simultaneously to test the effect of thousands of compounds, and accelerate the process of drug discovery.

Scheduled activities:

- (i) RI 2.1 (months 1-6) engineering / construction of murine stem cell lines suited to the study of the proliferation and / or differentiation of stem cells;*
- (ii) RI 2.2 (months 7-12) Automation screening (HTS) of libraries of compounds 'pharmacologically active' on the proliferation and / or differentiation of stem cells;*
- (iii) SS 2.3 (months 13-36) validation activity of the compounds identified in the screening on the proliferation and / or differentiation of human stem cells.*

Use of HTM (High content / Throughput Microscopy) technology to analyze the molecular basis of the differentiation choices of stem cells under different experimental conditions (perturbations based siRNA, chemicals, etc). Our unit aims at making a contribution in this direction by using the system of murine mesoangioblasts. Using a screening "high content" platform based on automated fluorescence microscopy we aim at identifying molecules that can "channel" the differentiation of progenitor cells into skeletal muscle or smooth muscle. The molecules identified as "hits" in the screening will be used to disrupt the cellular system in order to develop a predictive model that is able to infer the behavior of the system even under conditions that have not been tested experimentally. The analysis of the behavior of the model should provide new hypotheses on the use of combinations of disturbances of cellular pathways in order to improve the efficiency of differentiation

Scheduled activities:

- (i) RI 2.4 (months 1-6) Analysis of differentiation of murine mesoangioblasts: progenitor cells associated with blood vessels with high myogenic capacity.*
- (ii) RI 2.5 (months 7-12) Identification of molecules that are able to target / modular differentiation choices through the disruption of the intracellular signaling network, particularly with regard to differentiation of skeletal muscle and smooth muscle.*
- (iii) RI 2.6 (months 13-24) Multiparametric analysis of the profiles of activation of regulatory proteins in differentiation processes of mesoangioblasts.*
- (iv) SS 2.7 (months 24-36) Validation of the effects of these molecules on the activation of various cellular pathways monitored by a multiparametric analysis*

Location and implemetsubject:

- CNR, Istituto di Genetica e Biofisica "A. Buzzati-Traverso", Napoli

MAIN ISSUES REGARDING R&S AND THEIR SOLUTIONS

It is not clear if it's easy and even possible to modulate the differentiation of an adult stem cell, through the use of small molecules. The chosen collection of molecules is constituted by about 1200 compounds approved by the FDA. Although the chosen collection of molecules has a broad pharmacological aspect, it is not sure that they have an appreciable effect on differentiation. If the first screening test fails, we intend to conduct a second screening, using siRNA in order to identify the genes and/or the pathways target, that could be selected from other compounds libraries that have the ability to inhibit the production of these genes.

The main difficulty lies in defining the experimental conditions for HTS screening in stem cells research. In order to perform these assays with high reliability and under sterile conditions, we need to work with cells in culture, the OR will use an innovative and robotic platform, developed by IGB, unique in Italy, able to analyze the proliferation and/or differentiation of stem cells, in complete automation and sterility, and make HTS assays in order to test simultaneously the effect of thousands of molecules/compounds (chemical libraries) in stem cell research. The proposed strategy does not imply any genetic modification of cells thus overcoming one of the biggest limitations of the therapy. In addition, the technical and research staff at the IGB is highly trained in the study of stem cells, as demonstrated by scientific publications of the involved researchers, patents and activity in the field of higher education. Several libraries of pharmacologically active compounds are already available in the laboratory, increasing the likelihood to identify active compounds for the differentiation and/or proliferation of cells.

OR GENOMNIA e CNR 3: IDENTIFICAZIONE E SVILUPPO DI NUOVE STRATEGIE DI INGEGNERIA TISSUTALE: IMPLEMENTAZIONE DI BIOMATRICI IN GRADO DI CONTROLLARE IL DIFFERENZIAMENTO DI CELLULE STAMINALI VERSO FENOTIPO MUSCOLARE STRIATO, MODULANDO L'AMBIENTE CELLULARE ED EXTRACELLULARE, E STIMOLARE L'ANGIOGENESI

Generazione e caratterizzazione di iPS umane da fibroblasti e precursori miogenici pericitari per la formazione di muscolo artificiale, in modo da confrontare le due diverse sorgenti cellulari per la loro capacità differenziativa in senso muscolo-scheletrico.

Attività previste:

- (i) RI 3.1 (mesi 1-6 e mesi 12 – 24) le cellule iPS saranno preparate utilizzando il metodo di riprogrammazione per mRNA, più sicuro e più adatto per applicazioni cliniche rispetto ad infezioni virali.
- (ii) RI 3.2 (mesi 7-12) le cellule iPS ottenute verranno indotte a differenziare in precursori miogenici grazie all'azione induttiva di activina, BMP4 e l'inibitore di Rock, quindi sarà quantificata la loro capacità differenziativa in muscolo scheletrico (formazione di miotubi in culture), in relazione alla loro origine.
- (iv) RI 3.3 (mesi 24-36) caratterizzazione delle due diverse popolazioni iPS ottenute dai due diversi tessuti (dermico e muscolare) a livello molecolare, differenziativo e morfologico

Generazione di tessuto artificiale muscolare derivato da precursori miogenici umani differenziati da iPS sfruttando le capacità muscolo induttive e di scaffolding di biomateriali. Sarà studiato il ruolo della matrice extracellulare (ECM) nel promuovere il differenziamento cellulare e la complessa organizzazione dell'architettura tissutale tridimensionale. L'obiettivo è di generare materiali innovativi e biocompatibili in grado di mimare proprio le caratteristiche della ECM e quindi influenzare le capacità differenziative delle cellule staminali.

Attività previste:

- (i) RI 3.4 (mesi 1-12) progenitori muscolari ottenuti da espansione delle iPS saranno caricati su matrice di PF (un idrogel di PEG e Fibrinogeno) e coltivate in 3D per analisi in vitro delle capacità di differenziamento in muscolo scheletrico.
- (ii) RI 3.5 (mesi 12-16) Ottimizzazione della matrice con molecole attive come fattori angiogenici (VEGF e PlGF) e fattori di crescita come (IGF e NGF) per migliorare la funzionalità del tessuto artificiale garantendo vascolarizzazione ed innervazione del tessuto in costruzione

- (iii) RI 3.6 (mesi 16-36) Le combinazioni iPS – matrice che mostrando le migliori capacità miogeniche, verranno impiantate sottocute in ospiti murini per generare un tessuto artificiale muscolare completo sfruttando l'attività di particolari nicchie anatomiche (sottocute sulla superficie del tibiale anteriore).

Sviluppo di molecole e/o peptidi sintetici in grado di controllare la proliferazione e/o differenziamento e/o migrazione delle cellule staminali muscolari, per favorire la riparazione del danno muscolare acuto, e/o delle cellule endoteliali e dei loro precursori, per controllare l'angiogenesi associata al processo di rigenerazione.

Attività previste:

- (iii) RI 3.7 (mesi 1-16) Studi pre-clinici in modelli di danno muscolare acuto per valutare l'effetto sulla rigenerazione muscolare di molecole/piccoli peptidi in grado di regolare la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali.
- (iv) RI 3.8 (mesi 9-36) Ottimizzazione di sistemi di rilascio controllato di molecole biotattive in grado di controllare la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali, in vitro ed in vivo, in modelli di danno muscolare acuto.
- (v) RI 3.9 (mesi 9-36) Implementazione di protocolli sperimentali per valutare l'effetto di molecole e/o piccoli peptidi sulla migrazione delle cellule staminali muscolari in coltura e/o ex vivo in fibre muscolari isolate.
- (vi) RI 3.10 (mesi 1-20) Ottimizzazione di sistemi di rilascio controllato di molecole funzionalizzate a biomateriali in grado di modulare l'angiogenesi.

Location e soggetti attuatori:

- CNR, Istituto di Genetica e Biofisica "A. Buzzati-Traverso", Napoli
- CNR, Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia, Roma
- GENOMNIA srl, (sede di via Nerviano 31b, Lainate e via don melillo, Salerno)

PRINCIPALI PROBLEMATICHE DI R&S E LORO SOLUZIONI

Un problema che deve essere valutato è quello del corredo dei canali ionici sulla membrane delle cellule muscolari derivate da iPS. Infatti proprio come nelle cellule fetali durante il corso dello sviluppo, non tutti i canali hanno le caratteristiche rappresentative delle cellule adulte. Ma come per i miociti derivati da iPS l'espressione del canale IK1 è stata forzata attraverso la trasduzione con un vettore che lo codifica, appureremo con anche nelle cellule muscolari scheletriche l'avvenuto adeguato differenziamento

Le maggiori problematiche relative alla generazione di tessuto artificiale invece, sono legate alla parte riguardante il trapianto in vivo delle matrici caricate con le cellule staminali: reazione immunitaria contro le matrici cariche di cellule. Anche se per lo svolgimento di questo progetto si è previsto l'uso di topi immunocompromessi (Rag2^{-/-} chain doppio knockout), non possiamo escludere del tutto che una volta che l'impianto inizia ad essere vascolarizzato macrofagi circolanti attacchino il tessuto in formazione riconoscendolo come non self e quindi lo digeriscano. Se si presentasse un'eventualità del genere si propone di umanizzare topi NOD (immunocompromessi) tramite trapianto di midollo umano proveniente dallo stesso donatore delle cellule staminali, in modo da evitare in assoluto qualsiasi reazione immunitaria.

Un'altra difficoltà che si potrà presentare riguarda il sistema di somministrazione in vivo delle molecole e/o piccoli peptidi nel modello di rigenerazione muscolare da danno acuto. Sarà necessario verificare prima mediante esperimenti di rilascio controllato in vitro, utilizzando saggi ELISA già messi a punto in laboratorio, l'affinità delle molecole (modulatori delle cellule staminali e/o dell'angiogenesi) per i biomateriali. In caso l'affinità fosse insufficiente per procedere con gli esperimenti in vivo, le proteine e/o i peptidi saranno somministrati mediante iniezione intraperitoneale (IP) o direttamente nel tessuto muscolare.

OR GENOMIA AND CNR 3: IDENTIFICATION AND DEVELOPMENT OF NEW TISSUE ENGINEERING STRATEGY: IMPLEMENTATION OF BIOMATERIALS, ABLE TO CONTROL THE DIFFERENTIATION OF STEM CELLS, TOWARDS A STRIPED MUSCLE PHENOTYPE, MODULATING THE CELLULAR AND EXTRA-CELLULAR ENVIRONMENT AND STIMULATING THE ANGIOGENESIS.

Generation and characterization of human iPS from fibroblasts and myogenic pericyte precursors for the formation of artificial muscles, so as to compare the two different cellular sources according to their ability to differentiate in muscle-skeletal sense.

Scheduled activities:

- (i) RI 3.1 (months 1-6 and months 12 - 24). iPS cells will be prepared using the flash method for mRNA, safer and more suitable for clinical applications, compared to viral infections;
- (ii) RI 3.2. (months 7-12). The obtained iPS cells will be induced to differentiate into myogenic precursors, thanks to the induction of activin. BMP4 and inhibitor of Rock will be quantified according to their ability to differentiate into skeletal muscle (training of myotubes in cultures), in relation to their origin.
- (iii) RI 3.3 (months 24-36). Characterization of two different iPS populations, obtained from two different tissues (dermal and muscle) on a molecular, differentiation and morphological level.

Generation of artificial muscle tissue-derived from human myogenic precursors differentiated from iPS exploiting the muscle inductive capabilities and scaffolding of biomaterials. The role of the extracellular matrix (ECM) will be investigated, in promoting cell differentiation and the complex three-dimensional organization of the tissue. The objective is to generate innovative and biocompatible materials, able to precisely mimic the characteristics of the ECM and thus influence the differentiation capacity of stem cells.

Scheduled activities:

- (i) RI 3.4 (months 1-12). Muscle progenitors obtained by expansion of iPS will be loaded onto PF matrix (a hydrogel of PEG and fibrinogen) and cultured in 3D for in vitro analysis of the ability to differentiate into skeletal muscle.
- (ii) RI 3.5 (months 12-16) Optimization of the matrix with active molecules as angiogenic factors (VEGF and PlGF) and growth factors (IGF and NGF) to enhance the functionality of tissue vascularization and innervation of providing artificial tissue construction
- (iii) RI 3.6 (16-36 months). Combinations iPS - matrix showing the best myogenic capacity, groups will be implanted subcutaneously in mice to generate an artificial muscle tissue fully exploiting the activity of particular anatomical niches (under the skin on the surface of the tibialis anterior).

Development of molecules and synthetic peptides, able to control the proliferation and/or differentiation and/or migration of muscle stem cells, to facilitate the recovery of the severe muscle injury and/or of endothelial cells and their precursors, to control the angiogenesis associated to the recovery process.

Scheduled activities:

- (i) RI 3.7 (months 1-16) pre-clinical studies in models, considering the severe muscle injury, to evaluate the regenerative effect on the muscle molecules, of small peptides, able to regulate the proliferation and/or differentiation of stem cells;
- (ii) RI 3.8 (months 9-36) Optimization of systems for controlled release of bioactive molecules able to control the proliferation and / or differentiation of stem cells, in vitro and in vivo, in models of acute muscle injury;
- (iii) RI 3.9 (months 9-36) Implementation of experimental protocols to evaluate the effect of molecules and / or small peptides on the migration of muscle stem cells in culture and / or ex vivo in isolated muscle fibers.
- (iv) RI 3.10 (months 1-20) Optimization of systems for controlled release of molecules functionalized to biomaterials capable of modulating angiogenesis.

Location and implementing subjects:

- CNR, Istituto di Genetica e Biofisica “A. Buzzati-Traverso”, Napoli
- CNR, Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia, Roma
- GENOMNIA srl, (sede di via Nerviano 31b, Lainate e via don melillo, Salerno)

MAIN PROBLEMS OF R&D AND THEIR SOLUTIONS

A problem that must be assessed is the outfit of ion channels in the membrane of the muscle cells derived from iPS. In fact, just as in the fetal cells during the course of development, not all channels have the characteristics of adult cells. But as for myocytes derived from iPS the expression of the channel IK1 was forced through transduction with a vector that encodes it, we will verify the enhancement of an adequate differentiation of muscle-skeletal cells.

The main issues related to the generation of artificial tissue, on the contrary, are related to the in vivo implantation of stem cells matrixes: immune reaction against the matrixes loaded with cells. Although for the conduct of this project, the plan is to use immunocompromised mice (RAG2 □ chain double knockout), we cannot exclude the possibility that once the system starts to attack the circulating vascularized macrophages would attack the forming tissue in recognizing it as non-self, and then digest it. When confronted with such an eventuality it is proposed to humanize NOD mice (immunocompromised) by transplantation of human bone marrow from the same donor stem cells, in order to avoid any immune reaction.

Another difficulty would concern the in vivo administration system of the molecules and small peptides in the model of the recovery of acute muscle injury. It will be necessary to verify at first the controlled leave in vitro through experimentation, using ELISA essays, already prepared in a laboratory, affinity of the molecules (modulators of stem cells and/or angiogenesis) for biomaterials. In case the affinity is not sufficient to proceed the in vivo experimentations, proteins and/or peptides will be given through intraperitoneal injection (IP) or directly in the muscle tissue.

OR ABMEDICA e ABTREMILA 4: PROGETTAZIONE, PROTOTIPIZZAZIONE E SPERIMENTAZIONE DI SCAFFOLD IN DEGRAPOL® PER APPLICAZIONI DI INGEGNERIA TISSUTALE

A partire dalle conoscenze e risultati conseguiti degli OR precedenti, l'OR4 riguarderà la progettazione, prototipizzazione e sperimentazione di scaffold innovativi, al fine dell'ottenimento di tessuti autologici capaci di favorire la ricrescita, la migrazione e la rigenerazione cellulare, da impiantare nell'ambito della rigenerazione del tessuto cardiovascolare, del tessuto muscolare, alla cura di ernie addominali e al trattamento endovascolare degli aneurismi.

Gli scaffold saranno basati sulle caratteristiche innovative e distintive del Degrapol®, poliestere uretano in forma di copolimero a blocchi ricavato a partire dall'acido poliidrossibutirrico (PHB), che si è rivelato molto adatto (nelle sperimentazione ad oggi effettuate) a costituire substrati per tessuti biologici, in quanto biocompatibile e con proprietà meccaniche e degradabilità facilmente controllabili, oltre che alla possibilità di ottenere strutture controllate. Tali attività favoriranno, dunque, l'ottimizzazione del processo di ricerca di studi, analisi e sintesi del DegraPol®, in termini di caratteristiche, funzionalità, sperimentazioni pre-cliniche e cliniche, procedure per le prove in vitro, su animale e uomo, incrementandone, di conseguenza, l'impiego e l'utilizzo sperimentale in campo medico.

In particolare saranno previsti i seguenti ambiti di applicazione:

1. Rigenerazione del tessuto cardiovascolare

Attività previste:

- RI 4.1 (mesi 1-6) Ricerca e individuazione di membrane di DegraPol® e finalizzazione di un alto grado di orientamento delle fibre ottenute mediante tecnica di elettrospinnig.

- RI 4.2 (mesi 7-24) Funzionalizzazione biofarmacologica dello scaffold.
- RI 4.3 (mesi 1-12) Progettazione, design e ottimizzazione di un bioreattore
- SS 4.4 (mesi 25-36) Costruzione di prototipi, che saranno sperimentati in vitro e successivamente utilizzati nei test di impianto pre-clinico su animale per passare successivamente alla fase di sperimentazione clinica attraverso la realizzazione di trial clinici multicentrici

Location e soggetto attuatore:

- AB MEDICA SPA sede di via Nerviano 31b, Milano

2. Rigenerazione del tessuto muscoloscheletrico e cutaneo e cura di ernie addominali

Attività previste:

- RI 4.5 (mesi 1-6) Progettazione e ottimizzazione di una mesh di DegraPol® non riassorbibile, costruita tramite elettrospinning, dotata di un lato costituito da rete macroporosa e un lato anti-aderente, per il corretto posizionamento intraperitoneale.
- SS 4.6 (mesi 18-36) Impianto della mesh in animali e analisi, a diversi tempi, del livello di cellularizzazione e del grado di differenziamento ottenuto.
- SS 4.7 (mesi 24 – 36) Funzionalizzazione della mesh con le molecole e i fattori selezionati nelle precedenti OR2 e OR3 per la loro abilità nello stimolare la crescita, il differenziamento cellulare e l'angiogenesi. Test in vivo in animali e analisi morfologica e molecolare del tessuto rigenerato.
- SS 4.8 (mesi 24 - 36) Cellularizzazione delle mesh prima dell'impianto in animali, utilizzando le migliori combinazioni di cellule staminali e matrice selezionate nella OR3. Analisi morfologica e molecolare del tessuto rigenerato.

Location e soggetto attuatore:

- AB TREMILA sede di via Nerviano 31b, Milano e sede di via Bonetti 88-89, Roma

Soggetti terzi:

- Consorzio Tecnopolo di Castel Romano, Roma

3. Trattamento endovascolare degli aneurismi

Attività previste:

- RI 4.9 (mesi 1-12) Progettazione di tubi di diverso diametro di DegraPol® che rispondano alle specifiche di una protesi endovascolare in termini di resistenza e forza longitudinale, utilizzando DegraPol® a rapido degrado DP_30, processato a forma tubolare mediante elettrospinning, da usare per la realizzazione di protesi endovascolari per il trattamento di aneurismi in arterie di piccolo e medio diametro.
- RI 4.10 (mesi 13-30) Progettazione e realizzazione di protesi endovascolari di DegraPol® a rilascio di farmaco, costituiti da scaffold a porosità differenziata, capaci di incorporare e rilasciare in modo controllato farmaci e/o "drug carriers" in forma di micro- o nanoparticelle, con la possibilità di controllare cinematicamente il dosaggio del componente farmacologico. Questo permetterebbe di realizzare approcci terapeutici in cui il principio attivo agisca soltanto dove necessario per tempi anche lunghi
- SS 4.11 (mesi 31-36) Costruzione di prototipi, che saranno sperimentati in vitro e successivamente utilizzati nei test di impianto pre-clinico su animale per passare successivamente alla fase di sperimentazione clinica attraverso la realizzazione di trial clinici multicentrici.

Location e soggetto attuatore:

- AB MEDICA SPA sede di via Nerviano 31b, Lainate

OR MEDICA AND ABTREMILA 4: DESIGN, PROTOTYPING AND EXPERIMENTATION OF SCAFFOLD IN DEGRAPOL® FOR APPLICATION IN TISSUE ENGINEERING.

Starting from the knowledge and achievements of the previous OR, OR4 covers the design, prototyping and testing of innovative scaffold, in order to obtain autologous tissue to foster the growth, migration and cell regeneration, to be implanted in the field of cardiovascular tissue regeneration of muscle tissue, the treatment of abdominal hernias and endovascular treatment of aneurysms.

The scaffold will be based on the innovative characteristics and distinctive features of the Degrapol ®, urethane polyester in the form of block copolymer obtained from polioxidbutical acid (PHB), which proved to be very suitable (in experiments carried out to date) to form substrates for biological tissues, as biocompatible, with mechanical properties and degradability, easily controllable, as well as the possibility to obtain monitoring facilities. These activities stimulate several features as functionality, pre-clinical and clinical testing in vitro procedures, on animal and human, consequently increasing the experimental use in the medical field.

In particular the application will be::

1. Cardiovascular tissue regeneration

Planned activities:

- *RI 4.1 (months 1-6) search and identification of membranes of DegraPol ® and finalization of a high degree of orientation of the fibers obtained by means of technical elettrospinnig.*
- *RI 4.2 (months 7-24) biopharmacology functionalization of the scaffold.*
- *RI 4.3 (months 1-12) Planning, design and optimization of a bioreactor*
- *SS 4.4 (months 25-36) Construction of prototypes that will be tested in vitro and subsequently used in the test system of pre-clinical animal was then passed on to the stage of clinical trials through the development of multicenter clinical trials*

Location and implementing body:

- *AB MEDICAL SPA headquarters in Via Nerviano 31b, Milan*

2. Regeneration of musculoskeletal tissue and skin and treatment of abdominal hernias

Planned activities:

- *RI 4.5 (months 1-6) Design and optimization of a mesh of DegraPol ® non-absorbable, built by electrospinning, with one side consisting of macroporous network side and a non-stick, for the correct positioning intraperitoneal.*
- *SS 4.6 (months 18-36) Plant of the mesh in animals and analysis, at different times, the level of cellularisation and the degree of differentiation obtained.*
- *SS 4.7 (months 24 - 36) Functionalization of the mesh with the molecules and factors selected in the previous OR2 and OR3 for their ability to stimulate growth, cell differentiation and angiogenesis. In vivo tests in animals and morphological analysis and molecular regenerated tissue.*
- *SS 4.8 (months 24 - 36) cellularisation mesh before implantation in animals, using the best combination of stem cells and matrix selected in OR3. Morphological and molecular analysis of regenerated tissue.*

Location and implementing body:

- *AB THREE THOUSAND headquarters in Via Nerviano 31b, Milan and offices in Via Bonetti 88-89, Rome*

Third parties:

- *Consortium Tecnopolo Castel Romano, Rome*

3. Endovascular treatment of aneurysms

Planned activities:

- *RI 4.9 (months 1-12) Designing of tubes of different diameters of DegraPol ® that meet the specifications of an endovascular prosthesis in terms of resistance and longitudinal force, using DegraPol ® to rapid degradation DP_30, processed in tubular form by electrospinning, to use for the realization of endovascular prosthesis for the treatment of aneurysms in arteries of small and medium diameter.*

- RI 4.10 (months 13-30) Design and manufacture of endovascular prosthesis of DegraPol®-release of drug, consisting of scaffolds different porosity, able to incorporate and release drugs in a controlled manner and / or "drug carriers" in the form of micro - or nanoparticles, with the ability to kinetically control the dosage of the drug component. This would allow to achieve therapeutic approaches in which the active ingredient act only where necessary for even long times
- SS 4.11 (months 31-36) Construction of prototypes that will be tested in vitro and subsequently used in the test system of pre-clinical animal was then passed on to the stage of clinical trials through the development of multicenter clinical trials.

Location and implementing body:

- AB MEDICAL SPA headquarters in Via Nerviano 31b, Lainate

Location e soggetto attuatore:

- AB MEDICA SPA sede di via Nerviano 31b, Milano

2. Rigenerazione del tessuto muscoloscheletrico e cutaneo e cura di ernie addominali

Attività previste:

- RI 4.5 (mesi 1-6) Progettazione e ottimizzazione di una mesh di DegraPol® non riassorbibile, costruita tramite elettrospinning, dotata di un lato costituito da rete macroporosa e un lato anti-aderente, per il corretto posizionamento intraperitoneale.
- SS 4.6 (mesi 18-36) Impianto della mesh in animali e analisi, a diversi tempi, del livello di cellularizzazione e del grado di differenziamento ottenuto.
- SS 4.7 (mesi 24 – 36) Funzionalizzazione della mesh con le molecole e i fattori selezionati nelle precedenti OR2 e OR3 per la loro abilità nello stimolare la crescita, il differenziamento cellulare e l'angiogenesi. Test in vivo in animali e analisi morfologica e molecolare del tessuto rigenerato.
- SS 4.8 (mesi 24 - 36) Cellularizzazione delle mesh prima dell'impianto in animali, utilizzando le migliori combinazioni di cellule staminali e matrice selezionate nella OR3. Analisi morfologica e molecolare del tessuto rigenerato.

Location e soggetto attuatore:

- AB TREMILA sede di via Nerviano 31b, Milano e sede di via Bonetti 88-89, Roma

Soggetti terzi:

- Consorzio Tecnopolo di Castel Romano, Roma

3. Trattamento endovascolare degli aneurismi

Attività previste:

- RI 4.9 (mesi 1-12) Progettazione di tubi di diverso diametro di DegraPol® che rispondano alle specifiche di una protesi endovascolare in termini di resistenza e forza longitudinale, utilizzando DegraPol® a rapido degrado DP_30, processato a forma tubolare mediante elettrospinning, da usare per la realizzazione di protesi endovascolari per il trattamento di aneurismi in arterie di piccolo e medio diametro.
- RI 4.10 (mesi 13-30) Progettazione e realizzazione di protesi endovascolari di DegraPol® a rilascio di farmaco, costituiti da scaffold a porosità differenziata, capaci di incorporare e rilasciare in modo controllato farmaci e/o "drug carriers" in forma di micro- o nanoparticelle, con la possibilità di controllare cineticamente il dosaggio del componente farmacologico. Questo permetterebbe di realizzare approcci terapeutici in cui il principio attivo agisca soltanto dove necessario per tempi anche lunghi
- SS 4.11 (mesi 31-36) Costruzione di prototipi, che saranno sperimentati in vitro e successivamente utilizzati nei test di impianto pre-clinico su animale per passare successivamente alla fase di sperimentazione clinica attraverso la realizzazione di trial clinici multicentrici.

Location e soggetto attuatore:

- AB MEDICA SPA sede di via Nerviano 31b, Lainate

OR MEDICA AND ABTREMILA 4: DESIGN, PROTOTYPING AND EXPERIMENTATION OF SCAFFOLD IN DEGRAPOL® FOR APPLICATION IN TISSUE ENGINEERING.

Starting from the knowledge and achievements of the previous OR, OR4 covers the design, prototyping and testing of innovative scaffold, in order to obtain autologous tissue to foster the growth, migration and cell regeneration, to be implanted in the field of cardiovascular tissue regeneration of muscle tissue, the treatment of abdominal hernias and endovascular treatment of aneurysms.

The scaffold will be based on the innovative characteristics and distinctive features of the Degrapol ®, urethane polyester in the form of block copolymer obtained from polioxidbutical acid (PHB), which proved to be very suitable (in experiments carried out to date) to form substrates for biological tissues, as biocompatible, with mechanical properties and degradability, easily controllable, as well as the possibility to obtain monitoring facilities. These activities stimulate several features as functionality, pre-clinical and clinical testing in vitro procedures, on animal and human, consequently increasing the experimental use in the medical field.

In particular the application will be::

1. Cardiovascular tissue regeneration

Planned activities:

- RI 4.1 (months 1-6) search and identification of membranes of DegraPol ® and finalization of a high degree of orientation of the fibers obtained by means of technical elettrospinnig.*
- RI 4.2 (months 7-24) biopharmacology functionalization of the scaffold.*
- RI 4.3 (months 1-12) Planning, design and optimization of a bioreactor*
- SS 4.4 (months 25-36) Construction of prototypes that will be tested in vitro and subsequently used in the test system of pre-clinical animal was then passed on to the stage of clinical trials through the development of multicenter clinical trials*

Location and implementing body:

- AB MEDICAL SPA headquarters in Via Nerviano 31b, Milan*

2. Regeneration of musculoskeletal tissue and skin and treatment of abdominal hernias

Planned activities:

- RI 4.5 (months 1-6) Design and optimization of a mesh of DegraPol ® non-absorbable, built by electrospinning, with one side consisting of macroporous network side and a non-stick, for the correct positioning intraperitoneal.*
- SS 4.6 (months 18-36) Plant of the mesh in animals and analysis, at different times, the level of cellularisation and the degree of differentiation obtained.*

• SS 4.7 (months 24 - 36) Functionalization of the mesh with the molecules and factors selected in the previous OR2 and OR3 for their ability to stimulate growth, cell differentiation and angiogenesis. In vivo tests in animals and morphological analysis and molecular regenerated tissue.

• SS 4.8 (months 24 - 36) cellularisation mesh before implantation in animals, using the best combination of stem cells and matrix selected in OR3. Morphological and molecular analysis of regenerated tissue.

Location and implementing body:

- AB Tremila headquarters in Via Nerviano 31b, Milan and offices in Via Bonetti 88-89, Rome*

OR POLITO (POLITECNICO DI TORINO) 1: FABBRICAZIONE DI MATRICI TRIDIMENSIONALI (SCAFFOLD) BIOMIMETICI PER L'INGEGNERIA DEI TESSUTI. OTTIMIZZAZIONE DELLE CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE, CHIMICO-FISICHE, MECCANICHE E SUPERFICIALI DELLO SCAFFOLD AL FINE DI REALIZZARE UN SUBSTRATO ADATTO ALLA PROLIFERAZIONE E AL DIFFERENZIAMENTO DELLE CELLULE STAMINALI.

In vivo le cellule staminali sono accolte in un microambiente specializzato, la nicchia, che ne previene il differenziamento e ne sostiene la proliferazione. Le cellule di supporto, la ECM con i fattori di crescita e le proprietà fisiche delle strutture circostanti contribuiscono alla costituzione della nicchia. Nella nicchia le cellule staminali interagiscono con le componenti solubili e non solubili dell'ECM. Esse forniscono il mezzo di comunicazione tra le cellule e il loro ambiente, perciò l'organizzazione e le componenti dell'ECM influiscono sullo sviluppo e sulla funzione di un organo. Le connessioni vitali delle cellule cardiache con l'ECM sono assicurate dalle integrine, una famiglia di recettori che garantiscono la comunicazione e mediano gli scambi bidirezionali di segnali attraverso la membrana. Il legame delle integrine all'ECM risulta in un segnale intracellulare trasmesso attraverso una cascata di eventi nota come "outside-in signaling". In questo modo le integrine possono influenzare la morfologia, la proliferazione e la sopravvivenza cellulare.

Un promettente approccio alla regolazione della biologia delle cellule staminali è quello di produrre gli scaffold che modulano la risposta cellulare, in maniera simile alla nicchia in vivo.

Scaffold biomimetici verranno fabbricati utilizzando tecniche di micro e nano fabbricazione (liofilizzazione, filatura da fuso, elettrofilatura, tecniche di separazione di fase) e modifiche superficiali alla nanoscala (layer-by-layer, trattamento al plasma).

L'obiettivo OR1 mira al potenziamento della rigenerazione tessutale, mediante la progettazione di (scaffold) con struttura appropriata, a partire da materiali bioartificiali (a base di materiali naturali e sintetici) capaci di mimare le proprietà fisico-chimiche e i segnali biochimici tipici della matrice extracellulare cardiaca (ECM) ed in grado di supportare l'adesione, la proliferazione e il differenziamento delle cellule staminali. In particolare ci si focalizzerà sulla rigenerazione del tessuto cardiaco, tessuto osseo, tessuto nervoso e tessuto dermico.

Attività previste:

- (i) SS1. Identificazione dei requisiti strutturali e chimico-fisici degli scaffold (6 mesi)
- (ii) SS2. Fabbricazione degli scaffold e ottimizzazione del processo produttivo (9 mesi)
- (iii) SS3. Analisi della risposta cellulare (9 MESI)
- (iv) RI1. Definizione protocolli standard per la fabbricazione degli scaffold secondo le normative vigenti (6 mesi)
- (v) RI2. Fabbricazione di prototipi per la sperimentati in vivo su animali (test pre-clinici) e successivamente per la fase di sperimentazione clinica (6 mesi)

TOTALE: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale

Politecnico di Torino

Corso Duca degli Abruzzi 24

10129 Torino

OR POLITO (POLITECNICO DI TORINO) 2: MESSA A PUNTO DI GEL TERMOSENSIBILI E FACILMENTE INIETTABILI A TEMPERATURE AMBIENTE ED IN GRADO DI FORMARE UN GEL IN CONDIZIONI FISIOLOGICHE (37°C), DA UTILIZZARE PER LA PREPARAZIONE DI PASTE OSTEOINDUTTIVE E PER IL MANTENIMENTO IN CULTURA DI CELLULE STAMINALI.

I gel termosensibili a base di PU sviluppati da POLITO sono molto versatili, perché possono essere preparati da diverse combinazioni di dioli, estensori di catena e diisocianati, in modo da controllarne la biodegradabilità, le proprietà meccaniche e la biofunzionalizzazione tramite gruppi reattivi laterali.

L'obiettivo OR2 mira alla messa appunto di gel termosensibili in PU per la preparazione di poste osteoinduttive (OR LABORATORIO PROMETEO BCTM 1) e per l'incapsulamento delle cellule staminali allo scopo di ottenere nicchie artificiali, che regolino il comportamento delle cellule staminali. Inoltre, i gel verranno caricati con opportune molecole biotattive in grado di controllare la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali.

Attività previste:

- (i) SS1. Ottimizzazione dei gel in PU come componente delle paste osteoinduttive (4 mesi)
- (ii) SS2. Ottimizzazione dei gel in PU per l'incapsulamento delle cellule staminali (6 mesi)
- (iii) SS4 Analisi e ottimizzazione del rilascio delle molecole bioattive (8 mesi)
- (iv) SS3. Sperimentazione e analisi della risposta delle cellule incapsulate (6 mesi)
- (v) RI1. Definizione protocolli standard per la fabbricazione degli scaffold secondo le normative vigenti (6 mesi)
- (vi) RI2. Fabbricazione di prototipi per la sperimentati in vivo su animali (test pre-clinici) e successivamente per la fase di sperimentazione clinica (6 mesi)

TOTALE: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale

Politecnico di Torino

Corso Duca degli Abruzzi 24

10129 Torino

OR POLITO (POLITECNICO OF TORINO) 1: MANUFACTURING OF BIOMIMETICAL SCAFFOLD FOR TISSUE ENGINEERING. OPTIMIZATION OF THE MORPHOLOGICAL FEATURES, CHEMICAL AND PHYSICAL, MECHANICAL AND SUPERFICIAL OF THE SCAFFOLD, IN ORDER TO MAKE AN ADEQUATE SUBSTRATE FOR THE PROLIFERATION AND THE DIFFERENTIATION OF STEM CELLS

Stem cells are collected in vivo in a specialized microenvironment, the niche, which prevents differentiation and supports their proliferation. The support cells, the ECM with the growth factors and the physical properties of the surrounding structures contribute to the constitution of the niche. In the niche, stem cells interact with soluble and insoluble components of the ECM. They provide the means of communication between cells and their environment, so the organization and components of the ECM influence on the development and function of an organ. Vital connections of cardiac cells with ECM are insured by integrin, a family of receptors that provides the communication and median bidirectional exchanges of signals across the membrane. The binding of integrin to ECM results in an intracellular signal transmitted through a cascade of events known as "outside-in signaling". In this way integrin can influence the morphology, proliferation and survival of the cell.

A promising approach to the control of stem cell biology is to produce the scaffolds that modulate the cellular response, in a manner similar to the niche in vivo.

Biomimetic scaffolds will be manufactured using techniques of micro and nano fabrication (freeze-drying, melt spinning, electrospinning, techniques of phase separation) and surface modifications at the nanoscale (layer-by-layer, plasma treatment).

The objective OR1 aims at enhancement of tissue regeneration, through the design of (scaffold) with appropriate structure, from materials bio-artificial (based on natural and synthetic materials) capable of mimicking the physicochemical and biochemical signals, typical of the cardiac extracellular matrix (ECM) and able to support the adhesion, proliferation and differentiation of stem cells. In particular, we will focus on the regeneration of heart tissue, bone tissue, nervous tissue and dermal tissue.

Scheduled activities

- (i) SS1. Identification of the structural requirements and the physical-chemical scaffold (6 months)
- (ii) SS2. Fabrication of scaffolds and optimization of the production process (9 months)
- (iii) SS3. Analysis of the cellular response (9 MONTHS)
- (iv) RI1. Definition standard protocols for the manufacture of scaffolds according to current regulations (6 months)
- (v) RI2. Manufacture of prototypes for the tested in vivo on animals (pre-clinical) and subsequently for clinical trials (6 months)

TOTAL: 36 months

Location and implementing subject:

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale

Politecnico di Torino

Corso Duca degli Abruzzi 24

10129 Torino

OR POLITO (POLITECNICO DI TORINO) 2: DEVELOPMENT OF TEMPERATURE SENSITIVE GEL INJECTABLE AND EASY TO ROOM TEMPERATURE AND ABLE TO FORM A GEL IN PHYSIOLOGICAL CONDITIONS (37 ° C), TO BE USED IN THE PREPARATION OF OSTEOINDUCTIVE PASTE AND SUSTAINING CULTURE OF STEM CELLS.

Thermosensitive PU-based gels, developed by POLITO, are very versatile, because they can be prepared by various combinations of diols, diisocyanates and chain extenders, so as to control the biodegradability, mechanical properties and the biofunctionality through reactive side groups.

The objective of OR2 aims at providing precisely thermosensitive PU gel for the preparation of osteoinductive results (OR LABORATORY PROMETEO BCTM 1) and for the encapsulation of the stem cell in order to obtain artificial niches, regulating the behavior of stem cells. In addition, the gels are loaded with appropriate bioactive molecules, able to control the proliferation and / or differentiation of stem cells.

Scheduled activities

- (i) SS1. Optimization of PU gel as part of osteoinductive paste (4 months)
- (ii) SS2. Optimization of PU gel for encapsulation of stem cells (6 months)
- (iii) SS4 Analysis and optimization of the release of bioactive molecules (8 months)
- (iv) SS3. Testing and analysis of the response of encapsulated cells (6 months)
- (v) RI1. Definition of standard protocols for the manufacture of scaffolds according to current regulations (6 months)
- (vi) RI2. Manufacture of prototypes for the in vivo tests on animals (pre-clinical) and subsequently for clinical trials (6 months)

TOTAL: 36 months

Location and implementing subject:

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale

Politecnico di Torino

Corso Duca degli Abruzzi 24

10129 Torino

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 1(RI):

Sviluppo e mantenimento di un servizio di comunicazione nei confronti dei soggetti non professionali e in particolare modo della pubblica amministrazione dei privati cittadini per:

- **RI 1** Studiare le modalità di comunicazione della Medicina Rigenerativa per eliminare i miti illusori e le false credenze.(6 mesi),

- **RI2** Studiare le modalità di comunicazione dei risultati raggiunti dalla ricerca con chiarezza utilizzando un linguaggio comprensibile per i non addetti ai lavori (6 mesi).
- **SS3** Realizzare prototipi di comunicazione relativi all'applicazione della Medicina Rigenerativa in ambito ambulatoriale e ospedaliero (3 mesi).
- **SS4** Realizzare prototipi di comunicazione relativi all'applicazione della Medicina Rigenerativa nel miglioramento della Qualità della Vita (3 mesi)
- **SS5** Realizzare prototipi di comunicazione per un aggiornamento costante dei servizi ambulatoriali e ospedalieri disponibili sul territorio nazionale per le applicazioni di Medicina Rigenerativa (3 mesi),
- **SS6** Realizzare prototipi di comunicazione per presentare il ruolo di IRMI nello sviluppo della Medicina Rigenerativa in Italia (3 mesi).
- **Diffusione del servizio**

Tempo: 24 mesi

Location e soggetto attuatore:

GVM

Struttura sita in via Villa della Regina 19, 10131 Torino (TO)

Maria Pia Hospital, Strada Comunale Mongreno 180, 10132 Torino (TO)

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 2(RI):

Sviluppo di un programma di formazione dedicato a operatori sanitari e operatori della Comunicazione:

- operatori sanitari specializzati nell'erogazione dei servizi della Medicina Rigenerativa in termini di erogazione e monitoraggio dei prodotti
- operatori della Comunicazione, attraverso seminari e materiali informativi preparati ad hoc, in modo da favorire la diffusione della corretta informazione sui temi della Medicina Rigenerativa, che molto spesso sono oggetto di discussioni basate sui "sentito dire" e su argomentazioni non fondate su dati reali generando confusione e timori immotivati tra i cittadini e i responsabili delle pubbliche amministrazioni.

Tempo: 36 mesi

Location:

Struttura sita in via Villa della Regina 19, 10131 Torino (TO)

Maria Pia Hospital, Strada Comunale Mongreno 180, 10132 Torino (TO)

L'obiettivo è stato riportato nel dettaglio anche nel progetto formativo.

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 3 (RI):

Progettazione e Implementazione di infrastrutture di un centro ambulatoriale di medicina rigenerativa

- **SS1** studio per la creazione di locali adibiti ad ambulatori di medicina rigenerativa per la somministrazione di prodotti già riconosciuti quali ad esempio i PRP nei settori della chirurgia plastica ricostruttiva ed estetica, oculistica, ortopedia, vulnologia, chirurgia maxillo facciale/dentale, cardiocirurgia, ginecologia, tricologia, chirurgia spinale e per l'applicazione dei prodotti descritti dal progetto e che verranno immessi sul mercato. E' stato identificato uno spazio fisico ad hoc di circa 700 m² sito in via Villa della Regina 19 a Torino che è stato destinato alle attività ambulatoriali di medicina rigenerativa
- nell'allestimento degli ambulatori si provvederà all'acquisizione di opportune apparecchiature biomedicali per consentire la valutazione e l'efficacia delle cure nell'ambito della medicina rigenerativa (ecografi, lipoestrattori...)
- adeguato progetto di formazione per preparare il personale destinato a gestire il percorso della medicina rigenerativa
- allestimento di trials clinici per lo sviluppo di nuovi prodotti nell'ambito della medicina rigenerativa, presso la sede Maria Pia Hospital, che coinvolga i seguenti settori: cardiologia, cardiocirurgia, ortopedia, oculistica, neurochirurgia, chirurgia vascolare, medicina interna/diabete.

Tempo: 36 mesi, di cui i primi 6 mesi dedicati all'allestimento degli ambulatori di medicina rigenerativa

Location e soggetto attuatore:

Struttura sita in via Villa della Regina 19, 10131 Torino (TO)

Maria Pia Hospital, Strada Comunale Mongreno 180, 10132 Torino (TO)

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 1 (RI):

Development and maintenance of a communication service for non-professional actors, and especially the Government of private citizens by:

- *Clarify the scope of activities of Regenerative Medicine to avoid illusion and false beliefs;*
- *Clarify clearly the achievements of the research using an understandable language for non-experts;*
- *Clarify the application of regenerative medicine in the clinical and hospital areas;*
- *Clarify the application of Regenerative Medicine in improving the Quality of Life;*
- *Provide a continuous update of clinical and hospital services, that are available on the national territory;*
- *Present the role of IRMI in the development of Regenerative Medicine in Italy.*

Time: 36 months

Location and implementing subject:

Structure located in via Villa della Regina 19, 10131 Torino (TO);

Maria Pia Hospital, Strada Comunale Mongreno 180, 10132 Torino (TO).

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 2 (RI)

Development of a training program dedicated to healthcare professionals and communicators:

- *Health professionals specializing in the delivery of services of Regenerative Medicine in terms of disbursement and monitoring products*
- *For communicators, through seminars and briefing materials prepared ad hoc, in order to facilitate the dissemination of accurate information on the issues of Regenerative Medicine, which are often the subject of discussion based on "hearsay" and arguments, not based on real data, causing confusion and unwarranted fears among people and Public Administrations.*

Time: 36 months

Location:

Structure located in Via Villa della Regina 19, 10131 Torino (TO)

Maria Pia Hospital, Strada Comunale Mongreno 180, 10132 Torino (TO)

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 3 (RI):

Design and Implementation of the infrastructure of an outpatient center for regenerative medicine

- *Creation of premises for regenerative medicine clinics for the delivery of products already recognized such as the PRP in the fields of reconstructive plastic surgery and aesthetic surgery, ophthalmology, orthopedics, ulcer care, maxillofacial surgery / dental, cardiac surgery, gynecology, trichology, spinal surgery and for the application of the products described by the project and that will be placed on the market. It has been identified physical space ad hoc approximately 700 m2 in via Villa della Regina 19 in Turin, which has been allocated to outpatient regenerative medicine*
- *In setting the surgeries it is necessary to acquire appropriate biomedical equipment for that evaluation and the effectiveness of treatments in regenerative medicine (ultrasound, lipoextractor)*
- *Adequate training project to prepare the staff to manage the path of regenerative medicine*
- *Preparation of clinical trials for the development of new products in regenerative medicine at the headquarters Maria Pia Hospital, involving the following areas: cardiology, cardiac surgery, orthopedics, ophthalmology, neurosurgery, vascular surgery, internal medicine / diabetes.*

Time: 36 months, of which the first 6 months dedicated to the preparation of clinics of regenerative medicine

Location and implementing subject:

Structure located in via Villa della Regina 19, 10131 Torino (TO)

Maria Pia Hospital, Strada Comunale Mongreno 180, 10132 Torino (TO).

8.2.2 OBIETTIVI REALIZZATIVI DEI GRUPPI CHE ADERISCONO AD IRMI, LA CUI TRASFERIBILITA' SUPERA LA DURATA TRIENNALE DEL PROGETTO.

8.2.2 Developments objectives og groups participating in irmi, whose transferability to the market exceeds the duration of the three-year project.

OR CMR/CIDSTEM 3: SPERIMENTAZIONI CLINICHE DI TERAPIA GENICA MEDIANTE COLTURE DI CELLULE STAMINALI EPIDERMICHE GENETICAMENTE MODIFICATE

Implementazione di sperimentazioni cliniche di fase I/II di colture di cellule staminali epidermiche geneticamente modificate per la terapia cellulare e genica dell'Epidermolisi Bollosa Giunzionale e Distrofica.

Attività previste:

- (i) SS1. sviluppo di vettori gamma-retrovirali self-inactivated (SIN) di nuova generazione, in cui l'espressione dei cDNA (codon-optimized) di LAMB3, COL17A1 e COL7 è regolata dal promotore tessuto-specifico K14 (3 mesi);
- (ii) SS2. studi preclinici per valutare la correzione genetica e funzionale delle cellule staminali epidermiche (15 mesi);
- (iii) SS3. analisi del pattern di integrazione dei transgeni e sviluppo di innovative analisi di genotossicità cellulare (8 mesi);
- (iv) RI1. definizione protocolli clinici e implementazione di sperimentazioni cliniche di fase I/II di colture di epidermide autologa preparate con cellule staminali epidermiche geneticamente modificate (10 mesi).

TOTALE: 36 mesi

Location:

Centro di Medicina Rigenerativa "Stefano Ferrari"

Centro Interdipartimentale Cellule Staminali e Medicina Rigenerativa

Università di Modena e Reggio Emilia

ACRONIMO: CMR/CIDSTEM

OR CMR / CIDSTEM 3: clinical trials of gene therapy using cultures of genetically modified epidermal stem cells

Implementation of phase I / II oclinical trials of cultured epidermal stem cells genetically modified for cell and gene therapy of Junctional and Dystrophic epidermolysis bullosa.

Planned activities:

- (i) SS1. development of self-inactivated (SIN) gamma-retroviral vectors of new generation, in which the expression of the cDNA (codon-optimized) of LAMB3, COL17A1 and COL7 is regulated by tissue-specific promoter K14 (3 months);
- (ii) SS2. preclinical studies to evaluate the genetic and functional correction of epidermal stem cells (15 months);
- (iii) SS3. analysis of the pattern of transgene integration and development of innovative analysis of cell genotoxicity (8 months);
- (iv) RI1. defining clinical protocols and implementation of phase I / II clinical trials of cultures of autologous epidermis prepared with epidermal stem cells genetically modified (10 months).

TOTAL: 36 months

location:

Centre for Regenerative Medicine "Stefano Ferrari"
Interdepartmental Centre for Stem Cells and Regenerative Medicine
University of Modena and Reggio Emilia
ACRONYM: CMR / CIDSTEM

OR POLITO (POLITECNICO DI TORINO) 3: MESSA A PUNTO E OTTIMIZZAZIONE DEI PROCESSI DI ESPANSIONE CELLULARE MEDIANTE BIOREATTORI IN CONDIZIONI DI NULL GRAVITY.

L'obiettivo viene perseguito mediante la messa a punto dei processi di espansione cellulare in condizioni di null gravity, realizzata mediante opportuni campi fluidodinamici.

Attività di Sviluppo Sperimentale (20 mesi):

- (i) SS1. Definizione dei requisiti dei processi (2 mesi)
- (ii) SS2. Identificazione dei bioreattori di riferimento per lo sviluppo (4 mesi)
- (iii) SS3. Identificazione dei dispositivi accessori (circuiti fluidodinamici, ossigenazione e rimozione di CO₂, ecc.) (4 mesi)
- (iv) SS4. Definizione dei sistemi di sensorizzazione (4 mesi)
- (v) SS5. Realizzazione dei set up sperimentali di produzione (10 mesi)
- (vi) SS6. Prove su casi pilota (6 mesi)
- (vii) SS7. Analisi dei risultati (2 mesi)

Attività di Ricerca Industriale (14 mesi):

- (i) RI1. Identificazione di varianti e ottimizzazione (2 mesi)
- (ii) RI2. Armonizzazione con le normative in vigore e/o previste alla data (2 mesi)
- (iii) RI3. Applicazione delle varianti e realizzazione dei set up di produzione (7 mesi)
- (iv) RI4. Prove di produzione e messa a punto dei manuali di uso (6 mesi)

Attività di Formazione (3 mesi):

- (i) AF1. Addestramento del personale e assistenza iniziale alla produzione

TOTALE: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale
Politecnico di Torino
Corso Duca degli Abruzzi 24
10129 Torino

OR POLITO (POLYTECHNIC OF TURIN) 3: SETTING UP AND OPTIMIZATION OF PROCESS BY CELL EXPANSION BIOREACTORS IN TERMS OF NULL GRAVITY.

This goal is pursued through the development of the processes of cell expansion in terms of null gravity, achieved by appropriate fluid dynamics fields.

Activities of Experimental Development (20 months):

- (i) SS1. *definition of process Requirements (2 months)*
- (ii) SS2. *Identification of reference bioreactors for the development of (4 months)*
- (iii) SS3. *Identification of devices (hydraulic circuits, oxygenation and CO2 removal, etc..) (4 months)*
- (iv) SS4. *Definition of sensing systems (4 months)*
- (v) SS5. *Realization of the experimental production set-up (10 months)*
- (vi) SS6. *Tests on pilot cases (6 months)*
- (vii) SS7. *Analysis of the results (2 months)*

Activities of Industrial Research (14 months):

- (i) RI1. *Identification of variations and optimization (2 months)*
- (ii) RI2. *Harmonization with the existing regulations or forecasted (2 months)*
- (iii) RI3. *Application and realization of variants set up production (7 months)*
- (iv) RI4. *Production testing and tuning of the manuals of use (6 months)*

Training Activities (3 months):

- (i) AF1. *Staff training and initial support to the production*

TOTAL: 36 months

Location and implementing subject:

Department of Mechanical and Aerospace

Polytechnic University of Turin

Corso Duca degli Abruzzi 24

10129 Turin

OR POLITO (POLITECNICO DI TORINO) 4: MESSA A PUNTO E OTTIMIZZAZIONE DEI PROCESSI DI ESPANSIONE CELLULARE/TESSUTALE IN BIOREATTORI MEDIANTE AMBITI FUNZIONALIZZANTI.

L'obiettivo viene perseguito mediante la messa a punto dei processi di espansione cellulare/tessutale in ambiti funzionalizzanti, anche in presenza di scaffold, sulla base di stimoli fisici (meccanici, elettrici, ecc.) in grado di guidare la differenziazione e la funzionalizzazione.

Attività di Sviluppo Sperimentale (20 mesi):

- (i) SS1. *Definizione dei requisiti dei processi (2 mesi)*
- (ii) SS2. *Identificazione dei bioreattori di riferimento per lo sviluppo (4 mesi)*
- (iii) SS3. *Identificazione dei dispositivi accessori (circuiti fluidodinamici, ossigenazione e rimozione di CO2, ecc.) (4 mesi)*
- (iv) SS4. *Definizione dei sistemi di sensorizzazione e controllo (4 mesi)*
- (v) SS5. *Realizzazione dei set up sperimentali di produzione (10 mesi)*
- (vi) SS6. *Prove su casi pilota (6 mesi)*
- (vii) SS7. *Analisi dei risultati (2 mesi)*

Attività di Ricerca Industriale (14 mesi):

- (i) RI1. Identificazione di varianti e ottimizzazione (2 mesi)
- (ii) RI2. Armonizzazione con le normative in vigore e/o previste alla data (2 mesi)
- (iii) RI3. Applicazione delle varianti e realizzazione dei set up di produzione (7 mesi)
- (iv) RI4. Prove di produzione e messa a punto dei manuali di uso (6 mesi)

Attività di Formazione (3 mesi):

- (i) AF1. Addestramento del personale e assistenza iniziale alla produzione

TOTALE: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale

Politecnico di Torino

Corso Duca degli Abruzzi 24

10129 Torino

OR POLITO (POLYTECHNIC OF TURIN) 4: SET-UP AND OPTIMIZATION of EXPANSION PROCESS OF CELL / TISSUE IN BIOREACTORS BY FUNCTIONAL AREAS.

The goal is pursued by means of the development of the processes of cell expansion / tissue in areas functionalizing, even in the presence of scaffolds, on the basis of physical stimuli (mechanical, electrical, etc.,) able to guide the differentiation and functionalization.

Activities Experimental Development (20 months):

- (i) SS1. Definition of process requirements (2 months)
- (ii) SS2. Identification of reference for the development of bioreactors (4 months)
- (iii) SS3. Identification devices (hydraulic circuits, oxygenation and CO2 removal, etc..) (4 months)
- (iv) SS4. Definition of sensing and control systems (4 months)
- (v) SS5. Realization of the experimental set-up of production (10 months)
- (vi) SS6. Tests on pilot cases (6 months)
- (vii) SS7. Analysis of the results (2 months)

Activities of Industrial Research (14 months):

- (i) RI1. Identification of variations and optimization (2 months)*
- (ii) RI2. Harmonization with the existing regulations or forecasted (2 months)*
- (iii) RI3. Application and realization of variants set up production (7 months)*
- (iv) RI4. Production testing and tuning of the manuals of use (6 months)*

Training Activities (3 months):

AF1. Staff training and initial support to the production

TOTAL: 36 months

Location and implementing body:

Department of Mechanical and Aerospace
Polytechnic University of Turin
Corso Duca degli Abruzzi 24
10129 Turin

OR POLITO (POLITECNICO DI TORINO) 5: MESSA A PUNTO E OTTIMIZZAZIONE DELL'HANDLING DEI COSTRUTTI

L'obiettivo consiste nella specializzazione delle camere dei bioreattori per utilizzarle come contenitori per il trasporto del prodotto dal centro di produzione alla clinica, evitando i rischi di contaminazione legati alla manipolazione.

Attività di Sviluppo Sperimentale (6 mesi):

- (i) SS1. Definizione dei requisiti (2 mesi)
- (ii) SS2. Applicazione di varianti alle camere dei bioreattori da utilizzare (2 mesi)
- (iii) SS3. Studio e messa a punto dei dispositivi accessori (2mesi)

Attività di Ricerca Industriale (7 mesi):

- (iv) RI1. Armonizzazione con le normative in vigore e/o previste alla data (2 mesi)
- (v) RI2. Applicazione delle varianti e realizzazione dei set up di produzione (4 mesi)
- (vi) RI3. Prove e messa a punto dei manuali di uso (3 mesi)

Attività di Formazione (3 mesi):

- (i) AF1. Addestramento del personale e assistenza iniziale alla produzione

TOTALE: 14 mesi

Location e soggetto attuatore:

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale
Politecnico di Torino
Corso Duca degli Abruzzi 24
10129 Torino

OR POLITO (POLYTECHNIC OF TURIN) 5: SETTING UP AND OPTIMIZATION OF CONSTRUCTS HANDLING

The objective is the specialization of the chambers of bioreactors for use as containers for the transport of the product from the production center to the clinic, avoiding the risks of contamination caused by handling.

Experimental Development Activities (6 months):

- (i) SS1. Requirements definition (2 months)*
- (ii) SS2. Application of variants to the rooms of the bioreactors to be used (2 months)*
- (iii) SS3. Study and development of ancillary equipment (2mesi)*

Activities of Industrial Research (7 months):

(iv) RI1. Armonizzazione with existing or forecasted Regulations

(v) RI2. Application and realization of variants set up production (4 months)

(vi) RI3. Testing and development of user manuals (3 months)

Training Activities (3 months):

(i) AF1. Staff training and initial support to the production

TOTAL: 14 months

Location and implementing body:

Department of Mechanical and Aerospace

Polytechnic University of Turin

Corso Duca degli Abruzzi 24

10129 Turin

OR UNITO-MBC 1 (Proff. Altruda/ Silengo/Camussi): MODELLI PRECLINICI PER LO SVILUPPO DI TERAPIE CON CELLULE STAMINALI PER LA RIGENERAZIONE EPATICA

Ci proponiamo di valutare l'effetto della somministrazione di cellule differenziate in epatociti derivate da GPSC e dei loro bio-prodotti (medium condizionato/MV) in modelli murini di danno epatico.

Le GPSC, in condizioni appropriate, saranno indotte a differenziare in epatociti dopo formazione di embryoid bodies

in vitro in assenza o presenza di microvescicole (MV) derivate da epatociti maturi. Gli epatociti ottenuti verranno trapiantati per via splenica nel topo nudo dopo epatectomia del 70%. Il nostro gruppo ha già acquisito notevole esperienza su questo modello sperimentale. L'efficienza di colonizzazione da parte di questi epatociti sarà valutata a vari tempi dal trapianto.

Attività previste:

- SS1-sviluppo di modelli murini di danno enzimatico e danno epatico acuto;
- SS2-trapianto di epatociti differenziati da GPSC in topi epatectomizzati e analisi di colonizzazione
- SS3-effetto delle GPSC/MV in un modello di epatectomia 70%
- SS4-sviluppo di protocolli terapeutici sperimentali basati sull'utilizzazione dei prodotti biologici delle cellule staminali
- epatiche quali MV o panel di citochine prodotte da queste cellule in cultura;
- SS5-sviluppo di uno strumento per l'acquisizione di immagini 'in vivo che, in abbinamento con un MRI clinico, dovrà
- permettere lo studio in un piccolo animale della localizzazione dello sviluppo delle cellule trapiantate.
- SS6-derivazione di epatociti da GPSC umane

Totale: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

MBC, Università di Torino

OR UNITO-MBC 1 PROF. ALTRUDA/SILENGO/CAMUSSI: PRECLINICAL MODELS FOR THE DEVELOPMENT OF THERAPIES WITH STEM CELLS FOR THE EPATHIC REGENERATION

We intend to evaluate the effect of the sub ministration of differentiated cells in hepatocytes, derived from GPSC of their bio-products (medium value, MV) in murine models of hepatic injury.

GPSC, under appropriate conditions, are induced to differentiate in hepatocytes, after the formation of embryoid bodies in vitro, giving either the absence or the presence of micro-vesicle (MV), derived from mature hepatocytes. The obtained hepatocytes will be implanted by splenic in the naked mouse after hepatectomy of 70%. Our group has already acquired notable experience on this experimental model. The colonization efficiency from these hepatocytes will be evaluated in different times of the implantation.

Scheduled activities:

SS1 Development of murine models concerning the enzymatic injury and acute hepatic one;

SS2 Implantation of differentiated hepatocytes respect to GPSC in hepatectomized mice and colonization analysis;

SS3 Effect of GPSC/MV in a hepatectomy model 70%;

SS4 Development of therapeutic experimental protocols, based on the use of biological products of hepatic stem cells, such as MV or cytochine panel produced by these cells in culture;

SS5 Development of an acquisition tool for images in vivo, that, with a clinical MRI, will allow the study on a small animal concerning the localization of the development of the implanted cells.

SS6 Derivation of hepatocytes from human GPSC.

Total: 36 months.

Location and implementing subject:

MBC, Università di Torino.

OR UNITO-MBC 2 (Proff. Tarone/ Brancaccio/ Hirsch): RIGENERAZIONE DEL MIOCARDIO INFARTUATO MEDIANTE CELLULE STAMINALI ADULTE PLURIPOTENTI

Ci proponiamo di utilizzare le cellule staminali spermatogoniali per indurne la differenziazione in cardiomiociti in vitro. Diversi protocolli di differenziamento verranno testati e validati. Il grado di differenziamento sarà valutato con una serie di analisi biochimiche e molecolari. Le cellule differenziate verranno iniettate nella zona peri-infartuale di cuori di topi. La funzionalità cardiaca verrà valutata mediante ecocardiografia ad alta frequenza.

Attività previste:

- SS1 a)- I cardiomiociti verranno analizzati con anticorpi anti alfa-actinina sarcomerica; b)-Verrà misurata la lunghezza e l'area della sezione trasversale dei cardiomiociti c)-Per ulteriori approfondimenti sul grado di maturazione dei cardiomiociti, verrà effettuata un'analisi della concentrazione dei trascritti di noti marcatori di maturazione (alfa-actinina, alfa e beta miosina, SERCA e titina) tramite real time PCR; d)-Verrà analizzata l'attività contrattile dei cardiomiociti tramite microscopia time lapse.
- SS2a-a) Topi C57 black verranno sottoposti ad infarto mediante legatura della coronaria sinistra anteriore discendente, secondo protocolli standard. b) I cardiomiociti differenziati e caratterizzati nei punti SS1 (a-d) verranno inoculati nella zona peri-infartuale.
- SS2b-Valutazione della funzionalità cardiaca mediante ecocardiografia a diversi tempi dopo l'infarto.

Totale: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

MBC, Università di Torino

OR UNITO-MBC 2PROF. TARONE/BRANCACCIO/HIRSCH: REGENERATION OF THE ATTACKED MYOCARDIUM THROUGH POWERFUL ADULT STEM CELLS.

We intend to use spermatoc stem cells to induce the differentiation in cardiomyocytes in vitro. Several differentiation protocols will be tested and validated. The differentiation level will be evaluated in a series of bio-chemical and molecular analysis. Differentiated cells will be injected in the peri-infarct of mice hearts. The heart functionality will be evaluated through high frequency echocardiography.

Scheduled activities:

SS1 a) Cardiomyocytes will be analyzed with anti sarcomeric alpha-actinin; b) The length and the transversal section area of cardiomyocytes will be measured; c) For other details regarding the level of cardiomyocytes maturation, an analysis on the concentration of the transcription will be done regarding notable markers of maturation (alpha-actinin, alpha and beta myosin, SERCA and titin) through real time PCR; d) The contractile activity of cardiomyocytes will be analyzed through time lapse microscopy;

SS2a-a) C57 black mice will be subjected to heart-attack through a ligation of the left anterior descending coronary artery according to standard protocols; cardiomyocytes differentiated and characterized the points to be inoculated into the peri-infarct zone

SS2b-assessment of cardiac functionality by echocardiography at different times after the stroke.

Total: 36 months

Location and implementing subject

MBC, Università di Torino

OR UNITO-MBC 3 (Prof. Tarella): PROGRAMMA DI CENTRALIZZAZIONE PER L'ANALISI DEL GRADO DI SENESCENZA CELLULARE DI CELLULE STAMINALI E PER LA CONSERVAZIONE, SELEZIONE ED ARCHIVIAZIONE DEI CAMPIONI

Proponiamo lo sviluppo di protocolli per l'analisi del grado di invecchiamento cellulare, valutato sulla base della lunghezza del telomero, applicabili a cellule staminali.

Attività previste:

- SS1a- Organizzare un laboratorio che sia il Centro di riferimento in Italia per la valutazione del telomero, come
- parametro di senescenza cellulare, su campioni di cellule staminali
- SS1b- Mettere a punto un sistema di crioconservazione di campioni di cellule staminali, suddivisi in aliquote separate
- e disponibili per eventuali richieste di ulteriori controlli
- SS2- Mettere a disposizione una banca con aliquote di campioni di cellule staminali, che provengono da: a)
- campioni di materiale pre-trapianto; b) campioni di materiale ottenuto in varie fasi post-trapianto; c) campioni di soggetti sani, di diversa età

Allegato al progetto.

Le cellule staminali generano i tipi cellulari differenziati all'interno degli organi durante tutta la vita di un organismo e sono, in ultima analisi, responsabili della longevità degli organismi pluricellulari. Ne consegue che per mantenere un organo vitale per tutta la vita, bisogna prevenire l'invecchiamento, o senescenza, delle cellule staminali (Hayflick L, Exp. Cell Res 1965; Yang Q, Cytogenet Genome Res. 2008). Un indice della storia replicativa e del grado di senescenza della cellula è la lunghezza del telomero, tratto di DNA con sequenze ripetute alla fine dei cromosomi. Il DNA telomerico nell'uomo diminuisce ad ogni divisione della cellula somatica e subisce un progressivo accorciamento con l'aumentare dell'età (Harley C.B., Mutat Res 1991; Lansdorp PM, J Cell Science 1995; Vaziri H et al. Proc Natl Acad Sci, USA 1994). In assenza di efficaci meccanismi di protezione, il progressivo accorciamento del telomero conduce alla senescenza cellulare, con alta propensione alla morte apoptotica. Il gruppo del Prof. Tarella ha studiato la possibile precoce perdita di sequenze telomeriche in corso di procedure di trapianto di CSE. (Ricca I et al, Leukemia. 2005; Rocci A et al, Exp Hematol 2007). Il gruppo del Prof Tarella rappresenta un riferimento per altri Centri in Italia, per l'analisi e la caratterizzazione del telomero su campioni di CSE e, più in generale, su campioni di cellule di origine osteomidollare.

Referenze

1. Hayflick L. The limited in vitro life time of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res* 1965; 37: 614–636
2. Yang Q. Cellular senescence, telomere recombination and maintenance. *Cytogenet Genome Res.* 2008; 122(3-4): 211-8
3. Harley C.B.: Telomere loss: Mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res* 1991; 256: 271–282
4. Lansdorp PM. Telomere length and proliferation potential of hematopoietic stem cells. *J Cell Science* 1995; 108: 1-6
5. Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC, et al. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1994; 91: 9857-60
6. Ricca I, Compagno M, Ladetto M, et al. Marked telomere shortening in mobilized peripheral blood progenitor cells (PBPC) following two tightly spaced high-dose chemotherapy courses with G-CSF. *Leukemia.* 2005; 19(4): 644-51
7. Rocci A, Ricca I, Dellacasa C, et al. Long-term lymphoma survivors following high-dose chemotherapy and autograft: evidence of permanent telomere shortening in myeloid cells, associated with marked reduction of bone marrow hematopoietic stem cell reservoir. *Exp Hematol* 2007; 35(4): 673-681

Totale: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

MBC, Università di Torino

OR UNITO-MBC 3 (Prof. Tarella): CENTRALIZED PROGRAM FOR THE ANALYSIS OF THE DEGREE OF SENESENCE OF CELL STEM CELL AND STORAGE, SELECTION AND ARCHIVING OF SAMPLE

We propose the development of protocols for the analysis of the degree of cell aging, evaluated on the basis of telomere length, applicable to stem cells.

Planned activities:

- *SS1a-Organizing a laboratory that is the center of reference in Italy for the evaluation of the telomere, as*
- *Parameter of cellular senescence on stem cell samples*
- *SS1b-Develop a system for cryopreservation of stem cell samples, divided into separate aliquots*
- *And available for any request for additional controls*
- *SS2-To provide a bank with aliquots of samples of stem cells, which come from:*

a) Samples of pre-transplant b) Samples of material obtained at various stages post-transplant c) samples from healthy subjects of different ages

Attached to the project.

Stem cells generate differentiated cell types within the organs throughout the life of an organism and are, ultimately, responsible for the longevity of multicellular organisms.

*It follows that to maintain a vital organ throughout life, must prevent aging, or senescence, of stem cells (L Hayflick, *Exp Cell Res* 1965; Yang Q, *Cytogenet Genome Res* 2008). An index of replicative history and the degree of senescence of the cell is the length of the telomere, stretch of DNA with repeated sequences at the end of chromosomes. The telomeric DNA in humans decreases with each cell division and somatic undergoes a progressive shortening with increasing age (Harley CB, *Mutat Res* 1991; Lansdorp PM, *J Cell Science* 1995; Vaziri H et al. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1994). In the absence of effective mechanisms to protect the progressive telomere shortening leads to cellular senescence, with high propensity for apoptosis. The group of Prof. Tarella studied the possible premature loss of telomeric sequences in the course of transplantation procedures CSE. (The Rich et al, *Leukemia.* 2005; Rocci A et al, *Exp Hematol* 2007). The group of Prof Tarella represents a reference for other centers in Italy, for the analysis and characterization of the telomere on samples of CSE and, more generally, on samples of cells of bone marrow origin.*

References

1. Hayflick L. The limited in vitro life time of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1965, 37: 614-636
2. Yang Q. Cellular senescence, telomere recombination and maintenance. *Cytogenet Genome Res* 2008; 122 (3-4): 211-8
3. Harley CB: Telomere loss: Mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res* 1991; 256: 271-282
4. Lansdorp PM. Telomere length and proliferation potential of hematopoietic stem cells. *J Cell Science* 1995, 108: 1-6
5. Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC, et al. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1994, 91: 9857-60
6. The rich, Compagno M, Ladetto M, et al. Marked telomere shortening in Mobilized peripheral blood progenitor cells (PBPC) Following two tightly spaced high-dose chemotherapy courses with G-CSF. *Leukemia*. 2005, 19 (4): 644-51
7. Rocci A, Rich I, Dellacasa C, et al. Long-term lymphoma survivors Following high-dose chemotherapy and autograft: evidence of permanent telomere shortening in myeloid cells, associated with marked reduction of bone marrow hematopoietic stem cell reservoir. *Exp Hematol* 2007; 35 (4): 673-681

Total: 36 months

Location and implementing body:

MBC, University of Turin

OR UNITO-MBC 4 (Prof. Aime):

A) Messa a punto di nuovi composti e protocolli per il labelling cellulare, sia per internalizzazione che per ancoraggio della sonda per imaging all'esterno della membrana citoplasmatica

Per evitare lo spegnimento della rilassività legato al sequestro endosomale l'approccio sarà quello di ancorare la sonda sul lato extracellulare della membrana plasmatica invece di perseguire la sua internalizzazione. L'idea è quella di ricoprire parte della superficie cellulare con un alto numero di complessi paramagnetici senza modificare le caratteristiche della membrana. Idealmente l'etichettatura dovrebbe essere sufficientemente persistente da permettere la rivelazione delle cellule dopo insediamento o acquisizione della funzione programmata nel tessuto bersaglio. La perdita successiva dell'etichettatura (e clearance dall'organismo dei chelati di Gd(III)) può rappresentare un vantaggio, in quanto sarebbero minimizzate le interferenze con la funzionalità cellulare in situ e verrebbero eliminati gli svantaggi connessi con l'accumulo e l'eventuale tossicità del CA.

Presso il laboratorio del Prof. Aime (MBC) esiste una consolidata esperienza in:

- sintesi e caratterizzazione di chelati a base di Gd(III) o Mn(II) come agenti di contrasto per MRI; è inoltre disponibile un'ampio catalogo di "building blocks" per la costruzione di agenti di contrasto "targettati" e loro bioconiugazione
- manipolazione di colture cellulari per la valutazione preliminare della efficacia del labeling e la caratterizzazione delle caratteristiche rilassometriche delle sonde molecolari in ambiente cellulare
- studio preclinico in vivo tramite MR microimaging (disponibili scanner RMI a 1T, 3T e 7T).

Attività previste:

SS1a. Labeling extracellulare non covalente per formazione di un addotto supramolecolare tra i) la membrana cellulare (carica negativamente) ii) un polimero cationico (per esempio poliarginina), il quale creerà uno strato cationico sulla superficie cellulare e iii) un agente di contrasto dotato di forte carica negativa, anche in forma di nanosistema (liposomi, micelle ecc.).

SS1b. Labeling extracellulare tramite sistema auto assemblante basato sull'interazione di legame tra acido ialuronico (HA) e recettore CD44. Liposomi cationici con chelati di Gd(III) verranno coperti con polimeri basati su HA (è disponibile un gran numero di derivati commerciali, inclusi quelli funzionalizzati con fluorescenti). Tale sistema sarà utilizzato per etichettare cellule esprimenti il recettore CD44.

SS2. Verrà eseguita l'ottimizzazione della struttura della sonda di imaging così come verranno ottimizzate le proprietà dei polimeri (struttura, carica netta, capacità di interazione con la superficie cellulare). Sarà stabilito il miglior compromesso tra la percentuale di copertura della superficie cellulare e mantenimento della funzionalità cellulare. Sarà valutata la persistenza della copertura paramagnetica in microambienti simulati ed in modelli in vivo. La distribuzione dell'agente di contrasto in vivo sarà valutata a diversi tempi post-impianto, sia attraverso RMI sia attraverso determinazione analitica del Gd(III) in tessuti espuntati.

SS3. Validazione preclinica di protocolli RMI, per monitorare nel tempo l'integrazione e l'evoluzione delle cellule trapiantate.

B) Messa a punto di metodi per l'inclusione di sonde per imaging cellulare/molecolare, eventualmente responsive a parametri microambientali, in 'scaffold' polimerici per il trapianto di cellule sotto forma di aggregati cellulari tessuto-mimetici.

Esistono argomenti sempre più convincenti su come il controllo del microambiente intorno alle cellule da trapiantare possa aumentare la probabilità di successo del trapianto nel breve termine e il mantenimento della funzionalità delle cellule trapiantate nel lungo termine. Le cellule staminali possono essere immobilizzate su 'scaffold' sintetici costruiti per fornire contemporaneamente un supporto strutturale ed un microambiente che simuli quello di un tessuto in via di sviluppo, fornendo così le condizioni ottimali per la crescita e l'integrazione nel tessuto ospite. Dal punto di vista della visualizzazione per immagini, questi 'scaffolds' costituiscono una piattaforma molto vantaggiosa per l'inserimento di elevate quantità di sonde per imaging, oltre ai fattori di crescita ed alle molecole derivate dalla matrice extracellulare necessari per formare un microambiente favorevole. L'applicazione più diretta consiste nel caricare gli scaffold contenenti le cellule adese con agenti di contrasto per RMI in modo da poter monitorare nel tempo l'evoluzione degli aggregati impiantati. In una applicazione più avanzata, è possibile rendere l'intero sistema responsivo a eventi molecolari che possano essere ricondotti ad uno specifico processo cellulare in corso all'interno dell'impianto. Uno di tali eventi è rappresentato dalla attività delle Metalloproteinasi di matrice (MMPs), una famiglia di endoproteasi extracellulari (secrete o legate alla membrana) la cui funzione principale consiste nella degradazione delle componenti proteiche della matrice extracellulare e nel rimodellamento tissutale.

Attività previste:

SS4. Funzionalizzazione di 'scaffolds' basati su polimeri biodegradabili con molecole derivate dalla ECM (collagene, gelatine) contenenti siti specifici di idrolisi da parte delle gelatinasi (MMP2/9) e preventivamente bioconiugate ad alta densità con chelati di Gd(III). Questo dovrebbe portare a sistemi "silenti" (bassa rilassività longitudinale nonostante l'elevata densità di agente di contrasto), poiché i complessi paramagnetici inclusi in questi aggregati sono confinati in uno stato simile allo stato solido e lo scambio dell'acqua al centro paramagnetico è limitato. In questa forma, è atteso un basso contrasto in immagini RMI T1-pesate. In seguito ad aumentata attività delle gelatinasi, la matrice proteica adsorbita sullo scaffold sintetico viene idrolizzata e trasformata in frammenti solubili, in cui il centro paramagnetico risulta largamente accessibile all'acqua. In questa forma l'agente di contrasto viene "attivato" e produce iperintensità di segnale nelle immagini RMI. La comparsa di contrasto nel tempo può essere correlata con i livelli di MMP, e in definitiva, con la presenza di processi rigenerativi nella zona dell'impianto. La diminuzione a lungo termine di contrasto sarà indicativa di ulteriore degradazione della matrice proteica impiantata e clearance dei chelati di Gd(III). (24 mesi);

TOTALE: 36 mesi

Location e soggetto attuatore:

Centro per l' Imaging Molecolare (CIM)
c/o Molecular Biotechnology Center (MBC)
Via Nizza 52
10126 Torino

OR UNITO-MBC 4 (Prof. Aime):

- A) *Creation of new compounds and protocols for the cellular labelling, both for internalization and for anchorage of the probe for the external imaging of the cytoplasmatic membrane.*

To avoid shutting down the relativity linked to endosome sequestration approach is to anchor the probe on the extracellular part of the plasma membrane instead of pursuing its internalization. The idea is to cover part of the cell surface with a high number of paramagnetic complexes without changing the characteristics of the membrane. In theory, the label should be sufficiently persistent to allow detection of cells after the settlement or acquisition of the programmed function in the target tissue.

The subsequent loss of labeling (and clearance from the body of the chelates of Gd (III)) can be an advantage, as it would minimize the interference with cell function in situ and would eliminate the disadvantages associated with the accumulation and the possible toxicity of CA.

In the laboratory of prof. Aime (MBC) there is extensive experience in:

- Synthesis and characterization of chelates based Gd (III) and Mn (II) as contrast agents for MRI, is also available a large catalog of building blocks for the construction of contrast agents and their targeted bio-conjugation.*
- Manipulation of cell cultures for the preliminary assessment of the efficacy of labeling and characterization of the characteristics relaxometry of molecular probes in cellular environment*
- Preclinical in vivo using MR micro-imaging (MRI scanner available in IT, 3T and 7T).*

Scheduled activities:

SS1a. Extracellular non-covalent supramolecular labeling for formation of an adduct between i) the cell membrane (negatively charged) ii) a cation polymer (for example polyarginine), which will create a layer on the cationic cell surface and iii) a contrast agent with strong negative charging, also in the form of nanosystem (liposomes, micelles etc..) (12 months)

SS1b. Labeling system via extracellular auto-assembled based on binding interaction between hyaluronic acid (HA) and CD44 receptor. Cationic liposomes with chelated Gd (III) will be covered with polymers based on HA (there is a large number of commercial derivatives, including those with functionalized fluorescent). This system will be used to label cells expressing the CD44 receptors. (12 months).

SS2. Optimization of the structure of the imaging probe will be optimized as well as the properties of polymers (structure, net charge, capacity of interaction with the cell surface). This will set the best compromise between the percentage of coverage of the cell surface and maintenance of cell function. This will assess the persistence of coverage in paramagnetic micro-simulated and in vivo models. The in vivo distribution will be evaluated at different times after the implantation, both through RMI and through the analytical determination of Gd (III) in explanted tissue. (12 months)

SS3. Preclinical validation of RMI protocols to monitor over time the integration and evolution of the transplanted cells (12 months).

- B) *Development of methods for the inclusion of cellular and molecular imaging probes, possibly responsive to micro-environmental parameters, in polymeric scaffolds for cell transplantation in the form of tissue-mimetic cell aggregates.*

There are always more convincing arguments on how to control micro-environment around cells for transplantation may increase the probability of transplant success in the short term and maintaining the functionality of the transplanted cells in the long term. Stem cells can be immobilized on synthetic scaffolds, constructed to simultaneously provide a structural support and a micro-environment that imitate the one of a under construction tissue, giving the optimal conditions for the growth and the integration of the external tissue. Concerning the point of view of the imaging visualization, these scaffolds constitute a very advantageous platform for the insertion of large amounts of probes for imaging, in addition to growth factors and molecules derived from the extracellular matrix, containing the adherent cells with contrast agents for MRI so as to be able to monitor the evolution in time of the aggregates implanted. In a more advanced application, you can make the whole system responsive to the molecular events that can be traced back to a specific cellular process, going on inside the plant. One of these events is represented by the activities of matrix

metalloproteinase (MMPs), a family of extra-cellular end-proteases e (Secrete or linked to membrane), whose main function consists in the degradation of the protein membranes of the extra-cellular matrix and tissue modeling.

Scheduled activities:

SS4. Functionalization of scaffolds, based on biodegradable polymers with molecules derived from ECM (collegene, jellies) containing specific sites of hydrolysis by gelatinases (MMP2 / 9) and advance bio-conjugated high density chelates with Gd (III). This should lead to silent systems (low longitudinal relaxivity despite the high density of contrast agent), since the paramagnetic complexes included in these aggregates are confined in a similar-solid state and the exchange of water to the paramagnetic center is limited. In this form, it is expected a low-contrast T1-weighted MRI images. As a result of increased activities all of gelatinizes, the protein matrix absorbed in the synthetic scaffold is hydrolyzed and converted into soluble fragments, in which the paramagnetic center is widely accessible to water. In this form the contrast agent is activated and produces hyper-intensity signal in the images RMI. The appearance of contrast over time can be correlated with the levels of MMP, and ultimately, with the presence of regenerative processes in the area of the plant In the long term, the decrease contrast will be indicative of further degradation of the protein matrix implanted and clearance of the chelates of Gd (III). (24 months).

Total: 36 months

Location and implementing body

Centro per l'Imaging Molecolare (CIM)

C/o Molecular Biotechnology Center (MBC)

Via Nizza 52, 10126 Torino.

UNIMI: PRODUZIONE DI iPSCs DA FIBROBLASTI AUTOGHI E DI CUTE 3D PER LA TERAPIA DELL'EPIDERMOLISI BOLLOSA (DREB).

Nel caso della RDEB , seppure il patomeccanismo eziogenetico della malattia è relativamnte ben noto, un trattamento effettivo non è ancora disponibile.

Rdeb è stata oggetto di ricerca negliultimi 20 anni e poichè è una patologia monogenica, una cura deve confidare in una normale produzione di collagene VII. Pertanto parecchi studi contemporanei sono stati orientati all'obiettivo di ripristinare il collagene VII includendo la terapia cellulare e la terapia genica e più recentemente anche trapianto di midollo osseo. Tuttavia il successo a lungo termine nel trattamento della DREB è limitato dalla bassa capacità proliferativa dei cheratinociti e dalla bassa capacità di colpire il pull cellulare delle cellule staminali cheratinocitiche. Recentemente uno studio ha dimostrato la possibilità di coltivare alcune cellule note come cellule staminali indotte pluripotenti (Inducted Pluripotent Stem Cells - iPSCs) al fine di creare una coltura autologa di cellule del soggetto.

Sono stati prelevati fibroblasti – sani e malati – e sono stati coltivati con il metodo Takahashi; sono state generate delle cellule staminali iPSCs e la capacità di crescita delle cellule staminali è stata simile sia per cellule sane sia per cellule affette. In seguito è stato modificato il disegno sperimentale e le iPSCs sono state differenziate in cheratinociti e successivamente sono stati trasformati in cute tridimensionale con i marker di differenziazione epiteliale terminale.

I cheratinociti formati erano assolutamente analoghi ai cheratinociti del soggetto di appartenenza, in quanto le colture derivate da cellule malate presentavano la nota mutazione COL7A1, tipica dei pazienti con RDEB

Gli stessi cheratinociti sono in grado di crescere in vitro in modelli 3D e di produrre in vitro dei modelli di malattia causati appunto dalla mancanza delle proteine di adesione alla zona della membrana basale (lesioni tipiche dei pazienti con RDEB)

Tale studio mette le basi per una possibile tecnologia gene-mirata, in cui si potrà eseguire una correzione del gene malato con il gene sano.

Tuttavia e le prospettive offerte da queste colture cellulari al fine di ottenere un correttivo mirato sul gene malato e saranno migliori, data la migliore ed illimitata capacità proliferativa delle iPSCs se comparate alle normali colture di cheratinociti

Queste ultime, utilizzate già in passato, essendo cellule già differenziate , offrono un potenziale di rigenerazione piuttosto limitato e conseguentemente una capacità correttiva ridotta.

Così l'obiettivo nello sviluppo di un nuovo trattamento della malattia sarebbe di costituire una solida fonte di cellule pluripotenti per la derivazione dei cheratinociti e orientare le cellule staminali di cheratinociti alla correzione genica

Questo però potrebbe essere un difficile obiettivo da eseguire in vivo in quanto il pool di cellule staminali nella cute è molto limitato.

Invece le iPSC hanno il potenziale di produrre una fonte illimitata di cellule “paziente specifiche” autologhe che possono eventualmente essere prodotte ed usate per innesti cutanei o trapianti cutanei senza necessità di terapia immunosoppressiva.

Le iPSCs possono poi essere utilizzate per crescita su supporti tridimensionali, sia come base per terapia genica.

Attività previste:

- (i) RI 1 (mesi 1-24) le cellule iPS saranno preparate utilizzando il metodo di Takahashi partendo da fibroblasti autologhi.
- (ii) RI 2 (mesi 24-36) le iPSCs saranno differenziate in cheratinociti e successivamente trasformate in cute tridimensionale con i marker di differenziazione epiteliale terminale.

Location e soggetto attuatore:

SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN CHIRURGIA PLASTICA RICOSTRUTTIVA ED ESTETICA –
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO
OSPEDALE SAN GIUSEPPE
Via San Vittore 26 – 20123 Milano
0224209683 – graziella.nichetti@multimedica.it

Consulente : Centro di Riferimento regionale per la coltura di epidermide umana in vitro e Banca per la crioconservazione dei tessuti dell’Azienda Ospedaliera Ospedale Niguarda Ca’ Granda, Piazza Ospedale Maggiore 3.

UNIMI: production of ipscs fro autologous fibroblasts and of 3Dskin for THE TREATMENT epidermolysis bullosa (DREB).

In the case of the RDEB, although the etiogenetic pathogenic mechanism of the disease is relatively well known, an effective treatment is still not available. RDEB has been the subject of research negliultimi 20 years and as it is a monogenic disease, a cure must trust in a normal production of collagen VII.

Therefore, several contemporary studies have been directed to the ojective of restore collagen VII including cell therapy and gene therapy and, more recently, bone marrow transplant. Nevertheless, the long-term success in the treatment of DREB is limited by the low proliferative capacity of keratinocytes and the low capacity to affect the pull of cellular keratinocyte stem cells.

Recently one study has shown the possibility to cultivate some cells known as induced pluripotent stem cells (inducted Pluripotent Stem Cells - iPSCs) in order to create a culture of autologous cells of the subject.

Were taken fibroblasts - healthy and sick - and were cultured with the Takahashimethodo; were generated iPSCs of stem cells and the ability of stem cell growth was similar for both healthy cells both for affected cells. He was later modified the experimental design and iPSCs were differentiated keratinocytes and were later transformed into three-dimensional skin with markers of epithelial differentiation terminal.

The keratinocytes formats were absolutely similar to the keratinocytes of the subject to which they belong, as the crop derived from diseased cells showed the known mutation COL7A1, typical of patients with RDEB

The same keratinocytes are able to grow in vitro in 3D models and to produce in vitro models of disease caused precisely by the lack of adhesion proteins to the basement membrane zone (typical lesions of patients with RDEB)

This study provides the basis for a possible gene-targeting technology, which will perform a correction of the affected gene with the normal gene.

However and perspectives offered by these cell cultures in order to obtain a corrective gene targeted on the patient and will be best, due to its improved and unlimited proliferative capacity of iPSCs when compared to normal cultured keratinocytes

The latter, used in the past, being already differentiated cells, with the potential for regeneration rather limited and consequently a reduced capacity corrective.

Thus the objective in the development of a new treatment of the disease would be to provide a solid source of pluripotent cells for the derivation of keratinocytes and orient the stem cells of keratinocytes to the correction gene

However, this might be a difficult goal to be performed in vivo because the pool of stem cells in the skin is very limited. Instead the iPSC have the potential to produce an unlimited source of cells "patient specific" autologous that can possibly be produced and used for skin grafts or skin grafts without the need for immunosuppressive therapy. The iPSCs can then be used for growth of three-dimensional supports, both as a basis for gene therapy.

Planned activities:

- (I) RI 1 (months 1-24) iPS cells will be prepared using the method of Takahashi starting from autologous fibroblasts.
- (ii) RI 2 (months 24-36) the iPSCs are differentiated keratinocytes and subsequently transformed into three-dimensional skin with markers of epithelial differentiation terminal.

Location and implementing body:

GRADUATE SCHOOL IN PLASTIC SURGERY AND COSMETIC RICOSTRUTTICA - UNIVERSITY 'OF MILAN

ST JOSEPH HOSPITAL

Via San Vittore 26-20123 Milan

0224209683 - graziella.nichetti@multimedica.it

Consultant: Regional Reference Center for the culture of human skin in vitro and the Bank for the cryopreservation of tissues of the Hospital Niguarda Ca 'Granda Hospital, Piazza Ospedale Maggiore 3

8.4 NOTIZIE E CONSIDERAZIONI TECNICO-ECONOMICHE SCIENTIFICHE

- Grado di interconnessione con le attività di ricerca previste nel progetto
Fornire elementi che consentano di valutare il collegamento funzionale degli investimenti con le attività di ricerca del progetto .

Tutte le attività di ricerca presentate nel progetto sono finanziate dagli investimenti indicati.

La capofila **ATGrade** utilizzerà gli investimenti per il potenziamento delle sue strutture di biobanking e manipolazione cellulare presso A.O. Niguarda di Milano, come da obiettivi obiettivi di cui al punto 1) e 2) a pag.4-5 del progetto e per gli obiettivi realizzativi:

OR At Grade srl 1:

Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) di prodotti di terapia avanzata costituiti da cellule allogene (da donazione) espanse in vitro e seminate su scaffolds tridimensionali.

OR At Grade srl 2:

Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) di prodotti di terapia avanzata costituiti da cellule autologhe espanse in vitro e mantenute in sospensione.

Al termine del progetto, ATGrade potrebbe arrivare alla commercializzazione internazionale di due prodotti per terapia avanzata.

Il **Laboratorio Prometeo IOR** (Banca del tessuto muscolo scheletrico) utilizzerà gli investimenti del progetto per sviluppare con la consulenza dell'A.O. Niguarda tessuti umani decellularizzati (derma, cartilagine, nervi) oggi non in produzione in nessuna Banca Europea e per gli obiettivi realizzativi:

OR Laboratorio PROMETEO BCTM 1:

Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione ed immissione in commercio di paste osteoinduttive.

OR Laboratorio PROMETEO BCTM 2:

Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione e commercializzazione di derivati ossei che richiedono lavorazioni ad elevata precisione, mediante utilizzo di un sistema di taglio automatizzato.

Sempre con la consulenza dell'A.O. Niguarda e con il contributo di Lipostem verrà conseguito l'obiettivo realizzativo

OR Laboratorio PROMETEO BCTM e Ospedale Niguarda:

Messa a punto di un nuovo processo di ricerca industriale per l'ottenimento di frazioni cellulari purificate di cellule staminali mesenchimali da tessuto adiposo processato tramite sistema Lipostem®, in regime di manipolazione non rilevante e ottenimento delle autorizzazioni obbligatorie per impiego delle suddette cellule in trials clinici.

I prodotti a manipolazione non rilevante potranno essere al termine del progetto commercializzati con diffusione globale, mentre i prodotti per la terapia avanzata ricavati da procedure di manipolazione rilevante del prodotto Lipostem seguiranno il percorso già indicato dei trials preclinici e clinici.

Il soggetto vedrà accrescere il proprio ruolo di ricerca finalizzata al trasferimento tecnologico, già confermato dalla partecipazione del Laboratorio al Tecnopolo di Bologna.

MANATEE srl, dalle collaborazioni indicate, può ricavare il beneficio commerciale di essere la prima società europea a presentarsi sul mercato con prodotti per la terapia cellulare da lipoaspirato a manipolazione rilevante e non rilevante. Inoltre, considerata la possibilità di offrire ai propri utilizzatori l'opportunità di stoccare per uso autologo le cellule staminali adipose, ne ricaverà un evidente vantaggio competitivo sugli eventuali concorrenti.

Il **CMR/CIDSTEM** di Modena con il finanziamento e con il contributo di **Chiesi Farmaceutici**, tramite la propria società **Holostem Terapie Avanzate**, perseguirà gli obiettivi realizzativi :

OR CMR/CIDSTEM 1:

Sperimentazioni cliniche di terapia cellulare basate su colture di cellule staminali uretrali.

OR CMR/CIDSTEM 2:

Sperimentazioni cliniche di terapia cellulare basate su colture di cellule staminali buccali.

OR CMR/CIDSTEM 3:

Sperimentazioni cliniche di terapia genica basate su colture di cellule staminali epidermiche geneticamente modificate.

Il prodotto al punto OR1 al termine del progetto entrerà in commercio con ricadute economiche per il gruppo Chiesi.

Per i prodotti di cui ai punti OR1,OR2 e OR3 il finanziamento consentirà la conduzione dei trials clinici, la cui realizzazione avrebbe rappresentato un impegno economico per Chiesi.

Il **CIRI-SDV, Università di Bologna** utilizzerà gli investimenti per poter disporre di un Laboratorio in cGLP per l'esecuzione dei tests preclinici. Tale Laboratorio diventerà un tassello importantissimo per tutte le imprese che intenderanno portare ad autorizzazione sia medical devices che farmaci per le terapie avanzate e non, con ricadute economiche per IRMI.

Oltre a quanto indicato verranno realizzati gli obiettivi realizzativi:

OR CIRI-SDV, Università di Bologna 2:

Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione ed immissione in commercio di elettrofilati di polimeri naturali e sintetici biocompatibili a diversa geometria, da impiegarsi anche associati a cellule staminali mesenchimali autologhe per la riparazione di lesioni neurologiche.

OR CIRI-SDV, Università di Bologna e PROMETEO BCTM:

Definizione di un profilo di congruità delle proprietà autocrine di cellule mesenchimali autologhe per il controllo della neuroinfiammazione e neuroprotezione (best practice protocol).

Il soggetto vedrà accrescere il proprio ruolo di ricerca finalizzata al trasferimento tecnologico, già confermato dalla partecipazione del Laboratorio al Tecnopolo di Bologna.

GENOMNIA

GENOMNIA utilizzerà il finanziamento per potenziare il proprio ruolo di leadership nei servizi di sequenziamento massivo ed analisi bioinformatica e di partner di istituzioni di ricerca pubbliche e private per progetti di ricerca che riguardano i settori della genomica, della trascrittomica e dell'epigenetica.

GENOMNIA realizzerà, in collaborazione con il CNR di Roma e Napoli i seguenti OR:

OR GENOMNIA-CNR:

Utilizzo di tecniche di sequenziamento massivo degli acidi nucleici (Next Generation Sequencing, NGS) per il controllo qualità e sicurezza nell'uso terapeutico di cellule staminali.

OR GENOMNIA-CNR:

Identificazione e sviluppo di nuove strategie di ingegneria tissutale: implementazione di biomatrici in grado di controllare il differenziamento di cellule staminali verso fenotipo muscolare striato, modulando l'ambiente cellulare ed extracellulare, e stimolare l'angiogenesi.

I prodotti della ricerca forniranno nuove opportunità di potenziamento della competitività dell'impresa.

CNR

OR CNR:

Implementazione di sistemi HTS per l'identificazione di nuove molecole regolatrici della proliferazione e del differenziamento delle cellule staminali.

ABMedica ed AB Tremila stanno investendo collaborativamente nello sviluppo della medicina rigenerativa, che rappresenta per i gruppi un innovativo campo di applicazione che può nel prossimo futuro rivoluzionare l'approccio terapeutico per talune malattie degenerative, e, in particolare, nello sviluppo di un polimero elastico biocompatibile e degradabile disegnato per applicazioni mediche, colture tissutali e ingegneria tissutale, denominato **Degrapol®**. Il Degrapol ® è un poliuretano che degrada lentamente, ha proprietà meccaniche variabili e una degradazione cinetica secondo la composizione e la struttura. Il Degrapol nasce nell'ambito dell'ingegneria tissutale visto come progetto multidisciplinare che apre nuove strade soprattutto nella ricerca finalizzata a rigenerare nuovi organi e/o tessuti malati e che ha già dimostrato di essere adatto a rigenerare cellule e tessuti grazie al fatto che è un polimero biodegradabile e biocompatibile le cui caratteristiche meccaniche ed elastiche sono modulabili a seconda del tessuto che si vuole rigenerare.

Il progetto finanzia l' **OR AB MEDICA e AB TREMILA:**

Progettazione, prototipizzazione e sperimentazione di scaffold in Degrapol® per applicazioni di ingegneria tissutale, nel quale verranno studiati e prototipizzati impianti costituiti da DEGRAPOL cellularizzati con staminali autologhe per la rigenerazione del tessuto cardiovascolare, del tessuto muscolo scheletrico, per il trattamento degli aneurismi e delle ernie addominali. Gli studi finanziati pongono la base per le successive attività di sperimentazione clinica.

VILLA MARIA PIA HOSPITAL

Villa Maria Pia Hospital fa parte del **Gruppo Villa Maria**, holding che opera in sanità, ricerca, industria biomedicale e servizi alle imprese, con l'obiettivo di promuovere il benessere e la qualità della vita.

Cuore del Gruppo è la rete integrata di Ospedali di Alta Specialità, Polispecialistici, e Day Surgery con Poliambulatorio privato: un network di strutture e competenze professionali che innerva numerose regioni italiane e si estende anche in Francia e Albania.

Proprio per la sua mission di polo d'eccellenza, rivolto alla dignità del malato ed all'efficacia delle cure, con tecniche diagnostiche e chirurgiche sempre meno invasive, a fianco di protocolli terapeutici su misura del paziente, **Villa Maria Pia Hospital** intende utilizzare il finanziamento per lo studio di fattibilità e realizzazione sia di strutture assistenziali finalizzate alle terapie rigenerative sia di progetti di comunicazione tempestiva e scientificamente corretta.

Nei suoi OR:

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 1:

Sviluppo e mantenimento di un servizio di comunicazione nei confronti dei soggetti non professionali e in particolar modo della pubblica amministrazione e dei privati cittadini sui temi della medicina rigenerativa.

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 2:

Sviluppo di un programma di formazione dedicato a operatori sanitari e operatori della Comunicazione.

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 3:

Progettazione e Implementazione di infrastrutture di un centro ambulatoriale di medicina rigenerativa.

Villa Maria Pia Hospital creerà le condizioni per un reale trasferimento al letto del paziente delle attività di ricerca dei gruppi accademici ed industriali partecipanti ad IRMI.

POLITECNICO ED UNIVERSITA' DI TORINO

Il gruppo di Bioingegneria Industriale, presso il Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale (DIMEAS) del **Politecnico di Torino**, partecipa a programmi di ricerca nazionali e internazionali nel campo della ingegneria dei tessuti e della medicina rigenerativa, dei sistemi molecolari bioattivi, del design biomolecolare, della modellazione multiscala e multifisica applicata a sistemi biologici, artificiali e bioartificiali, della fluidodinamica cardiovascolare, della sintesi

polimerica, del design e caratterizzazione di sistemi di drug delivery, della ideazione, realizzazione e sviluppo di bioreattori attivi.

Le strutture di ricerca del gruppo sono articolate in due unità principali, una orientata a studi di biomeccanica sperimentale e computazionale e una orientata allo studio di biomateriali e bionanotecnologie, attraverso diversi tipi di attività sperimentali.

Tali gruppi operano in stretta collaborazione con il **Centro di Biotecnologie Molecolari dell'Università di Torino**, tanto da costituire a breve un nuovo Dipartimento congiunto.

Il finanziamento consentirà di realizzare gli obiettivi realizzativi indicati:

OR POLITO 1

Fabbricazione di matrici tridimensionali (scaffold) biomimetiche per l'ingegneria dei tessuti. Ottimizzazione delle caratteristiche morfologiche, chimico-fisiche, meccaniche e superficiali dello scaffold al fine di realizzare un substrato adatto alla proliferazione e al differenziamento delle cellule staminali.

OR POLITO 2

Messa a punto di gel termosensibili e facilmente iniettabili a temperature ambiente ed in grado di formare un gel in condizioni fisiologiche (37°C), da utilizzare per la preparazione di paste osteoinduttive e per il mantenimento in coltura di cellule staminali.

OR UNITO-MBC Proff. Altruda/Silengo/Camussi:

Sperimentazioni precliniche di terapia cellulare basata su colture di cellule staminali spermatogoniali differenziate in epatociti. Differenziazione delle cellule staminali spermatogoniali indotta da microvescicole. Dalla preclinica alla clinica

OR UNITO-MBC Proff. Tarone/Brancaccio/Hirsch:

Differenziazione delle cellule staminali spermatogoniali in cardiomiociti.

Produzione di protocolli sperimentali di differenziamento e loro validazione.

Analisi e caratterizzazione approfondita delle caratteristiche dei cardiomiociti ottenuti.

Sperimentazione preclinica con cellule staminali spermatogoniali differenziate in cardiomiociti in modelli animali di scompenso cardiaco (infarto).

OR UNITO-MBC Prof. Tarella:

Organizzazione di un laboratorio che sia il Centro di riferimento in Italia per la valutazione del telomero, come parametro di senescenza cellulare, su campioni di cellule staminali; messa a punto di un bancaggio con aliquote di campioni di cellule staminali, che provengono da: a) campioni di materiale pre-trapianto; b) campioni di materiale ottenuto in varie fasi post-trapianto; c) campioni di soggetti sani, di diversa età

OR MBC Prof. Aime:

Messa a punto di nuovi composti e protocolli per il labelling cellulare, sia per internalizzazione che per ancoraggio della sonda per imaging all'esterno della membrana citoplasmatica.

Messa a punto di metodi per l'inclusione di sonde per imaging cellulare/molecolare, eventualmente responsive a parametri microambientali, in 'scaffold' polimerici per il trapianto di cellule sotto forma di aggregati cellulari tissuto-mimetici.

I prodotti della ricerca del Politecnico di Torino saranno trasferibili all'impresa già al termine della ricerca consentendo un aumento della competitività delle imprese stesse. Un OR integra l'attività del Laboratorio Prometeo per la produzione di paste ossee termoplastiche.

8.4) INFORMATION AND TECHNICAL-ECONOMIC AND SCIENTIFIC CONSIDERATION

- Level of interconnection with the research activities planned in the project.

To provide the elements that allows to evaluate the functional link of the investments with the research activities of the project.

All the research activities, presented in the project are financed by the following investments:

The leader ATGrade will use the investments for the empowerment of their biobanking structures and for the cell manipulation, at the Hospital Niguarda of Milan, as it is supposed in the goals related to point 1) and 2), pages 4-5 of the project and for the realization goals:

OR At Grade s.r.l. 1:

Study of clinical experimentation, whose dossier will be submitted for the registration as drug to the EMA (European Medicines Agency) of advanced therapeutic products, constituted by allogeneic cells (donation), in vitro expanded and scattered on tridimensional scaffolds.

OR At Grade s.r.l. 2:

Study and clinical experimentation, whose dossier will be submitted for the registration as drug to the EMA (European Medicines Agency) of advanced therapeutic products, constituted by allogeneic cells (donation), in vitro expanded and scatted on tridimensional scaffolds.

Laboratory Prometeo IOR (Bank of muscle-skeletal tissue) will use the investments of the project to develop, with the advice of Hospital Niguarda, human decellularized tissues (dermal, nerves, cartilage) that, up to date, are not produced in any European Bank and regarding the realization goals:

OR Laboratory Prometeo BCTM 1: design, prototyping, experimentation, production and commercialization of osteoinductive pastes

OR Laboratory Prometeo BCTM 2: design, prototyping, experimentation, production and commercialization of bone derivatives that require high-precision manufacturing, through then use of a computerized cutting system. The advice of Hospital Niguarda is still included and Lipostem will contribute in order to reach the realization goal.

OR Laboratory Prometeo BCTM and Hospital Niguarda: finalizing a new industrial research process, aiming at obtaining purified cellular fractions of mesenchyme stem cells, from adipose tissue, manufactured through Lipostem® system, in regime of non-relevant manipulation and acquirement of the compulsory authorizations, necessary to use those cells in clinical trials.

Non relevant manipulation products can be commercialized at the end of the project thanks to the global diffusion, while product for the advanced therapy, derived by the procedures for the relevant manipulation of the product Lipostem will follow the process, already defined for the pre-clinical and clinical trials.

The subject will increase its research role regarding the technological transfer, already acknowledged thanks to its membership and its activity at the Laboratory of the Tecnopolo in Bologna.

MANATEE Srl, thanks to the defined collaboration, Lipostem can acquire the commercial benefit to be the first European company that presents on the market with products, dedicated to the cellular therapy from the liposuction to the relevant and non-relevant manipulation. Moreover, considering the possibility to offer to the users the opportunity to stock the adipose stem cells for the autologous use, it will get a clear competitive advantage on the eventual competitors.

CMR/CIDSTEM of Modena with the financing and the contribution of Chiesi Farmaceutici, through its own company Holostem Terapie Avanzate, will reach the following goals:

ORN CMR/CIDSTEM 1:

Clinical experimentation of cellular therapy, based on urethral stem cells culture.

OR CMR/CIDSTEM 2:

Clinical experimentation of cellular therapy based on buccal stem cells culture.

OR CMR/CIDSTEM 3:

Clinical experimentation of genic therapy, based on dermal stem cells, genetically modified. The product at point OR1 will be commercialized at the end of the project, acquiring economic benefits for Group Chiesi.

Concerning the products related to points OR1, OR2 and OR3, the financing will allow the conduction of clinical trials, whose realization will be represented an economic commitment for Chiesi.

CIRI-SDV, Università di Bologna will use the investments in order to use the Laboratory in cGLP for the execution of pre-clinical tests. This laboratory will be a very important tool for all the companies that intend to submit for the authorization both medical devices and drugs for the advanced and non-advanced therapies, with economic benefits for IRMI.

Furthermore, the following goals are considered:

CIRI-SDV, Università di Bologna 2:

Design, prototyping, experimentation, production and commercialization of electro-fibers of natural and synthetic biocompatible polymers with different geometry, to be used also associated to mesenchyme autologous stem cells for the recovery of neurologic injuries.

OR CIRI_SDV, Università di Bologna and Prometeo BCTM: definition of a congruity profile of the autocrine properties of mesenchyme autologous cells for the control of neuroinflammatory and neuroprotection (best practice protocol).

The subject will see, its role increase, in the area of the research for technological transfer, already acknowledged thanks to its membership and activities of the Laboratory at the Tecnopolo in Bologna.

GENOMNIA

Genomnia will use the investments to empower its leadership role in massive sequencing services and bio-informatics analysis and the partners of public research institutions and private realities concerning research projects in the genomic, transcriptomic and epigenetic sectors.

Genomnia will cooperate with CNR Roma and Napoli, for the following OR:

OR GENOMNIA-CNR:

Use of massive sequencing techniques of nucleic acids (Next Generation Sequencing, NGS) for the quality and safety control in the therapeutic use of stem cells.

OR GENOMNIA-CNR:

Identification and development of new strategies for tissue engineering: implementation of bio-matrixes, able to control the differentiation of stem cells towards the striped muscle phenotype, modeling the cellular and extra-cellular environment and stimulating angiogenesis.

The research products will supply new empowerment opportunities for the enterprise competitiveness.

CNR

OR CNR:

Implementation of HTS systems for the identification of new regulative molecules for the proliferation and differentiation of stem cells.

AB MEDICA and AB TREMILA are both investing in the development of the regenerative medicine, that represents an innovation application field for the groups, that can revolutionize, in the next future, the therapeutic approach for some degenerative diseases and, in particular, in the development of an elastic biocompatible degradable polymer, designed for medical applications, tissue cultures and tissue engineering, called Degrapol®. It is a polyurethane that degrades slowly, it has variable mechanical properties and a degradation kinetics that depends on the composition and structure. The Degrapol® was originally seen as a multidisciplinary project in tissue engineering that breaks new ground, especially in research to regenerate new organs and / or diseased tissues and it has already proven to be suitable to regenerate cells and tissues due to the fact that it is a biocompatible and biodegradable polymer whose mechanical and elastic characteristics are adjustable depending on the tissue that you want to regenerate.

The project will finance the OR AB MEDICA and AB TREMILA:

Design, prototyping and experimentation of scaffolds in Degrapol® for application in tissue engineering, where Degrapol Implants will be studied, prototyped and cellularized with autologous stem cells for the recovery of the cardiovascular tissue, muscle-skeletal tissue and for the treatment of aneurysms and abdominal hernias. The financed studies are the start for the next activities in clinical experimentation.

VILLA MARIA PIA HOSPITAL

Villa Maria Pia Hospital is part of the Group Villa Maria, an holding that operates in biomedical health, research, industry and it offers services to companies, aiming at promoting and improving welfare and quality of life.

Hub of the group are the high-specialized hospitals, polispecialized and day surgery ones with a private outpatient site: this network of structures and professional skills is present in several Italian regions and in France and Albania as well.

Thanks to its mission as excellence pole, focused on the patient dignity and on the effectiveness of health care, thanks to surgery and diagnostic techniques that are becoming less and less invasive, including therapeutic protocols customized for the patient, Villa Maria Pia Hospital intends to use the investments for the feasibility study and the realization of care infrastructures, committed in the area of regenerative therapies both for projects related to the immediate and scientifically correct communication.

In these OR:

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 1:

Development and maintenance of a communication service for non-professional actors, in particular for the Public Administration and citizens regarding the regenerative medicine area.

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 2:

Development of the education program, dedicated to health operators and communication ones.

OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 3:

Design and implementation of the infrastructure of an outpatient site in the regenerative medicine field.

Villa Maria Pia Hospital will create the conditions for a real use of the results of the research activities of the academic and industrial participants of the IRMI, for the patient.

POLITECNICO ED UNIVERSITA' DI TORINO

The group of industrial bioengineering at the department of mechanical and aerospace engineering (DIMEAS) of the Politecnico di Torino, will take part to the national and international research programs in the field of tissue engineering and regenerative medicine, of the bioactive molecular system, cardiovascular fluid-dynamics, polymeric synthesis, design and characterization of drug delivery systems, definition, production and development of experimental activities.

The research structures of the group are constituted in two main units, one is oriented towards the biomechanical experimental and computational studies and the other is oriented towards the studies on biomaterials and nanotechnologies, through different types of experimental activities.

These groups work in close collaboration with the Center for Molecular Biotechnology of the University of Turin, so as to constitute a new short joint Department.

The funding will allow to achieve the development objectives below:

OR POLITICO 1

Manufacturing of three-dimensional matrices (scaffolds) for biomimetic tissue engineering. Optimization of the morphological, chemical-physical, mechanical and surface of the scaffold, in order to achieve a suitable substrate to the proliferation and differentiation of stem cells.

OR 2 POLITICO

Development of thermosensitive easily injectable gels and at medium temperatures and capable of forming a gel under physiological conditions (37 ° C), to be used for the preparation of osteoinductive pastes and for the maintenance of stem cells in culture.

OR UNITO-MBC Profs. Altruda / Silengo / Camussi:

Preclinical cell therapy based on cultures of spermatogonial stem cells differentiated into hepatocytes. Spermatogonial stem cell differentiation induced by microvesicles. From preclinical to clinical

OR UNITO-MBC Proff. Tarone / Brancaccio / Hirsch:

Spermatogonial stem cell differentiation into cardiomyocytes.

Production of experimental protocols of differentiation and their validation.

Analysis and in-depth characterization of the features of cardiomyocytes obtained.

Preclinical testing with spermatogonial stem cells differentiated into cardiomyocytes in animal models of heart failure (heart attack).

OR UNITO-MBC Prof. Tarella:

Organization of a laboratory that is the hub in Italy for the evaluation of the telomere, as a parameter of cell senescence, on stem cells samples, development of a banking with aliquots of stem cells samples, which come from: a) samples of pre-transplant b) samples of material obtained at various stages post-transplant c) samples from healthy subjects of different ages.

OR MBC Prof. Aime:

Development of new compounds and protocols for cell labeling, both for internalization and for anchoring of the probe for imaging the outside of the cytoplasmic membrane.

Development of methods for the inclusion of probes for imaging cellular / molecular, possibly responsive to micro-environmental parameters, in 'scaffold' polymer for the transplantation of cells in the form of cell aggregates tissue-mimetics.

The research products of the Politecnico di Torino will be transferred to the company at the end of search allowing an increase in the enterprises competitiveness. An OR integrates the activity of Prometheus Laboratory for the production of thermoplastic bone pastes.

- Ricadute occupazionali dirette

Relative al centro di ricerca

Personale R&S (qualifica)	Precedente (unità)	A regime (unità)	Variazione (unità)
Laureati in scienze biologiche			+21
Tecnici di laboratorio addetti R&S			+10
Laureati in scienze economico-giuridiche			+3
Lureati ingegneria			+2
TOTALE			+36

- Direct employment impact

Related to the research centre

R&D personnel (qualification)	Previous (units)	Following (units)	Change (units)
Graduates in biological sciences			+21
Laboratory technicians employed in R&D			+10
Graduates in economics and law			+3
Graduates in engineering			+2
TOTALE			+36

- Motivazioni relative alla scelta dell'iniziativa e della sua ubicazione
Collegamenti di carattere tecnico e/o organizzativo con stabilimenti industriali, esistenza di Parchi Scientifici e Tecnologici , poli e distretti tecnologici

Progetti di ricerca realizzati con finanziamento MIUR o Ue (1998-2008)

TECNOLOGIE APPLICATE DIVISE PER REGIONE

	Meccanica	Informatica	Elettronica	Chimica	Biotecnologia	Non classificabile	
Lombardia	279	225	254	184	46	166	1154
Piemonte	192	143	108	62	16	98	619
Lazio	65	185	112	57	40	137	596
Emilia R	148	102	75	72	30	76	503
Toscana	106	97	83	93	30	80	489
Veneto	169	78	79	64	26	56	472
Campania	63	83	50	32	17	71	316
Umbria	79	39	22	22	5	70	237
Liguria	37	45	45	11	11	69	218
Marche	36	31	22	19	4	25	137
Puglia	13	28	16	19	9	47	132
Friuli	47	18	19	12	6	20	122
Sicilia	14	11	7	10	22	20	84
Abruzzo	21	13	4	9	6	13	66
Calabria	12	25	6		8	13	64
Basilicata	4	28	2	10	4	8	56
Sardegna	8	9	7	6	8	16	54
Trentino	7	9	9	4	3	7	39
Valle d'Aosta	3	4	4			1	12
Molise	2	3		1	1		7
	1305	1176	924	687	292	993	5377

Fonte: Confindustria su dato MIUR.

Come si vede dalla figura precedente, le Regioni partecipanti ad IRMI (Lombardia, Piemonte, Lazio, Emilia Romagna, Friuli, Campania e Sicilia) sono quelle che hanno avuto il numero maggiore di progetti di ricerca nel settore biotecnologico e sono le più attive anche dal punto di vista industriale, in quanto hanno il maggior numero di aziende operanti nel biotecnologico.

Le Regioni stesse hanno sostenuto con diversi interventi la competitività delle imprese nel settore biotecnologico. Il progetto IRMI si inserisce nei contesti già operativi delle singole realtà regionali nei settori biotecnologici:

- 1) Lombardia – L'Università degli Studi di Milano già fa parte del Distretto Tecnologico per le Biotecnologie costituito nel 2003 come da Protocollo d'intesa tra MIUR e Regione Lombardia.

Per la Regione Lombardia, la Biotecnologia è una tematica di interesse strategico e prioritario per rafforzare e sviluppare le potenzialità del territorio. La regione può contare su una grande competenza tecnologica e scientifica, sia del sistema universitario sia dei centri di ricerca pubblici e privati.

Il Distretto Tecnologico per le Biotecnologie favorisce il collegamento e l'integrazione tra il mondo dell'impresa e quello della ricerca del settore, con l'obiettivo di sviluppare la **competitività** della Lombardia.

La realizzazione del Distretto Tecnologico per le Biotecnologie ha comportato un impegno di 8 milioni di Euro per il MIUR e di oltre 18 milioni di Euro per la Regione Lombardia.

Il Distretto opera su **3 assi di intervento**:

I asse. Riguarda le strategie per il capitale di rischio e la messa in rete delle piccole e medie imprese lombarde, il raccordo tra gli attori della ricerca, il progetto regionale per la diffusione territoriale dell'innovazione e del trasferimento tecnologico e l'attivazione di una rete regionale di centri d'eccellenza (progetto [QuESTIO](#)).

II asse. Comprende interventi: per sostenere la ricerca industriale e lo sviluppo precompetitivo (sostenere le imprese operanti nel campo della progettazione e produzione di servizi innovativi). Per sostenere l'integrazione fra Università e Industria (ad es., con la creazione di nuove imprese ad alto contenuto tecnologico). Per fornire aiuti alle politiche di sostegno e sviluppo agli investimenti e alla ricerca nei metadistretti delle biotecnologie alimentari e non alimentari.

III asse. Riguarda il potenziamento della cultura dell'innovazione all'interno del sistema industriale lombardo

(servizi qualificati per diffondere le innovazioni e trasferire la tecnologia, favorire l'accesso delle piccole e medie industrie agli strumenti di incentivazione e sviluppo della ricerca attuati dall'Unione Europea e dallo Stato).

2) Piemonte - come riportato da Polo dell'Innovazione bioPmed, in Piemonte esiste un vero e proprio cluster per le Scienze della Vita con alcune caratteristiche che lo rendono particolarmente adatto a sviluppare questo settore, in particolare:

- Il livello internazionale delle pubblicazioni scientifiche prodotte nell'accademia in questi settori e la presenza di centri di ricerca allo stato dell'arte;
- La presenza di centri di formazione di eccellenza con il conseguente ottimo livello di preparazione dei laureati e la disponibilità di manodopera qualificata;
- Il basso costo comparato della ricerca;
- La disponibilità di agevolazioni per investimenti infrastrutturali nei Parchi scientifici, per attività di trasferimento tecnologico, per l'avvio di impresa ed in genere per lo sviluppo imprenditoriale;
- La presenza di centri di eccellenza (IRCC Candiolo, Bioindustry Park, alcuni Dipartimenti dell'Università di Torino, del Piemonte Orientale e del Politecnico di Torino, alcuni gruppi di ricerca del CNR), di grandi imprese di rilevanza internazionale (Bracco, Merck-Serono, Sorin Cardio, Diasorin, Sanofi, Takeda, ecc.) e di PMI in crescita (Creabilis, Bioman, CID, Nanovector, Aethia, Agrolabo, Procelltech, EPHORAN, Intrauma, DIPRO, Costantino, ecc.);
- La volontà da parte dell'accademia di valorizzare i risultati della ricerca attraverso la brevettazione e l'avvio di nuove imprese tramite la creazione di uffici specializzati e la realizzazione di incubatori focalizzati;
- La dinamicità del tessuto imprenditoriale che ha visto crescere negli ultimi anni il numero delle neo-imprese appartenenti a questi settori;
- La presenza di imprese di eccellenza assoluta in settori sinergici ed "integrabili", quali l'elettronico (Bio-elettronica, diagnostica, ecc), l'informatico (Bio-informatica), il meccanico (Bio-meccanica), l'ambientale, ecc.;
- La presenza di infrastrutture di livello internazionale e la presenza di un ambiente "favorevole" anche culturalmente alle attività di ricerca;
- La presenza di iniziative strategiche che puntano allo sviluppo delle attività legate a questi settori (bioPmed, Progetto Città della Salute, Iniziativa Discovery al Bioindustry Park, ecc.).
- Il Politecnico di Torino, l'Università di Torino ed il Maria Pia Hospital, che partecipano ad IRMI, sono strutture di eccellenza coinvolte nel progetto bioPmed.

3) Friuli Venezia Giulia –

Nella regione Friuli-Venezia Giulia è presente da tempo una realtà consolidata e di eccellenza nel mondo della ricerca, concentrata nel settore della Biomedicina molecolare. In particolare promuove attività di ricerca e sviluppo volte alla comprensione dei meccanismi molecolari alla base delle malattie, all'individuazione di tecniche di diagnosi precoce e allo sviluppo di terapie mirate e meno invasive. All'interno del Distretto, nato con funzione di raccordo tra gli attori partecipanti, si attua una strategia di rafforzamento delle attività di ricerca e di sviluppo nel settore della Biomedicina molecolare, di accelerazione dell'insediamento e della crescita delle iniziative imprenditoriali afferenti lo stesso settore. Il CBM (Consorzio per il centro di biomedicina molecolare) - società consortile pubblico-privata - nasce con la missione di agire da ponte tra ricerca pubblica e impresa nel settore della medicina personalizzata. Il CBM, con sede presso l'Area Science Park di Trieste, mette in **rete** enti scientifici, aziende, istituzioni di governo, agenzie di sviluppo e finanziarie che operano per:

- il [trasferimento tecnologico](#) di proprietà intellettuale in Medicina molecolare.
- la promozione delle ricerche innovative nell'ambito Biomedico, Farmaceutico e dello sviluppo di Strumentazioni Biomedicali avanzate

I laboratori del CBM sono piattaforme tecnologiche aperte a un utilizzo condiviso da parte dei ricercatori interni al CBM, dei soci del Consorzio e di utenti esterni pubblici e privati. Sono messi a disposizione gli spazi di laboratorio, le strumentazioni e il personale qualificato per il loro utilizzo. I laboratori operano nei seguenti settori:

- Proteomica e Farmacogenomica (Centro di Riferimento Oncologico Aviano, PN)
- Genomica (CBM, Trieste)
- Bioinformatica (CBM, Trieste)
- Imaging Ottico (CBM, Trieste)
- Nano Diagnostica e Analisi (CBM, Trieste)
- Laboratorio di cellule staminali (Centro Interdipartimentale di Medicina Rigenerativa - Università di Udine)

L'Università di Trieste, che partecipa ad IRMI con il gruppo BIOMAT fa parte del Distretto Tecnologico di Biomedicina Molecolare.

- 4) Emilia-Romagna- La Regione ha avviato negli ultimi anni un consistente programma per promuovere la ricerca industriale e il trasferimento di conoscenze scientifiche e risultati di ricerca verso il sistema produttivo. Ne è nata una rete di strutture dedicate a specifiche tematiche di interesse industriale, completato con la realizzazione nel territorio regionale di un insieme di Tecnopoli, I Tecnopoli, infatti, sviluppano con aree dedicate espressamente alla ricerca industriale, campus universitari scientifici come quelli di Parma e Modena o realizzano la riutilizzazione e riqualificazione di aree e siti industriali ed urbani di grande valore come a Bologna, Ravenna, Faenza, Forlì e Cesena, Rimini, Spilamberto, Vignola, Reggio Emilia, Piacenza. Gli ambiti in cui i laboratori operano, definiti in termini di “piattaforme tecnologiche”, sono: **l’alta tecnologia meccanica e i nuovi materiali, l’agroalimentare, le costruzioni, le scienze della vita, l’energia e l’ambiente, le ICT e il design.** Il coordinamento della Rete è realizzato da **Aster**, la società consortile attivata in questi anni dalla Regione. I soggetti proponenti delle due università emiliane e l’IRCCS Rizzoli sono parte integrante della Rete dei Tecnopoli della RER nella piattaforma Scienze della Vita. Più recentemente è stato attivato un “Distretto per le manipolazioni cellulari”, di cui fa parte il Laboratorio Prometeo IOR.
- 5) Lazio – La Regione Lazio ha istituito il Distretto Tecnologico delle Bioscienze il 4 aprile 2008 con un Accordo, i cui lavori preparatori sono stati coordinati dalla Filas (ente gestore ed attuatore del DTB), sottoscritto da Regione Lazio, MISE e MUR per favorire rapporti e collaborazioni tecnico/scientifiche tra i sistemi della ricerca e dell’industria, rafforzare la competitività e la visibilità del settore in ambito internazionale e favorire la crescita quali-quantitativa delle imprese e delle professionalità. Gli obiettivi specifici del Distretto Tecnologico delle Bioscienze sono:
1. attivare una rete strutturata di rapporti e collaborazioni tecnico/scientifiche tra gli operatori della ricerca ed il sistema delle imprese;
 2. rafforzare la capacità progettuale, operativa e prototipale della ricerca applicata ed industriale di sistema;
 3. agevolare gli investimenti in infrastrutture tecnologiche e tecnico-scientifiche dedicate;
 4. promuovere e sostenere la generazione di nuove imprese ad alta tecnologia;
 5. rafforzare e migliorare la visibilità del settore in ambito internazionale;
 6. favorire la crescita formativa delle professionalità esistenti.
- Le aree tematiche prioritarie di R&S del DTB sono:
1. Farmaceutica;
 2. Dispositivi Medici;
 3. Biotecnologie;
 4. Nanoscienze e Nanotecnologie per la salute;
 5. Agroalimentare per la salute;
 6. ICT per la biomedicina ed i servizi sanitari.
- Sia ABMedica, ABTremila che il CNR di Roma sono parti integranti del DTB, in cui sono inseriti.
- 6) Campania - Il Miur ha recentemente approvato lo studio di fattibilità per 35 mln di euro dando di fatto il via al distretto biotecnologico campano che coinvolge 86 imprese, 34 dipartimenti e 7 istituti del Cnr. Quello presentato per il distretto biotecnologico campano è tra gli studi di fattibilità approvati dal Ministero dell’Istruzione, dell’Università e della Ricerca nell’ambito dei bandi Pon - Ricerca e Competitività 2007-2013 relativi alla nascita dei distretti tecnologici nelle regioni convergenza. Il finanziamento non inferiore a 35 mln di Euro, contribuirà a gettare le basi per una piattaforma destinata ad allineare, in Campania, industria e ricerca del settore biotecnologico. Sia Genomnia che il CNR di Napoli saranno parte integrante del progetto campano anche grazie alla partecipazione, che ne moltiplica le potenzialità, ad IRMI.

Dalla valutazione di quanto indicato in precedenza risulta evidente come il progetto IRMI nasca nelle realtà regionali a maggior interesse sia accademico che industriale per le biotecnologie in medicina rigenerativa. Scopo di IRMI è quello di contribuire al successo dei distretti regionali con un’infrastruttura in grado di fornire massa critica sia scientifica che produttiva.

• **Reasons for the choice of the initiative and its location**

Links to technical and / or organizational and industrial plants, existence of science and technology parks, technology centers and districts

As stated in the previous figure, the regions participating at IRMI (Lombardia, Piemonte, Lazio, Emilia Romagna, Friuli, Campania e Sicilia) are the most involved in biotechnology research projects and are active also from an industrial point of view, since they harbor a great number of biotechnology industries.

These Regions have already sustained the industrial competitiveness in biotechnology field on their territory.

The IRMI project fits inside the existing regional biotechnology reality:

- 1) Lombardia – Milan University is already a part of the technological district for biotechnology that was established in 2003 after an agreement between MIUR and Lombardia Region.
For the Lombardia Region, biotechnology is a strategic matter to strengthen and develop its territories possibilities. The region has a great technological and scientific experience, gained through public and private Universities and Research centers. The technological district for biotechnology fosters the connection and integration between industries and Research, with the aim to develop competitiveness.
The realization of the Technology District cost to MIUR 8 million Euros and Lombardia Region 18 million.
The District works mainly in 3 areas:
I area. Applies to venture capital strategies and the connections of small and medium industries, joining researchers with the regional project for the territorial diffusion of innovation and technological transfer to activate a regional net among center of excellence. (QuESTIO project).
II area. Intervention on behalf of sustaining industrial research and developmental research (industries oriented in projecting and producing innovative services). To sustain integration between University and Industry (creating, for instance, new high technological industries). To provide assistance to sustain backing policies for biotechnology food research and industries.
III area. Deals with the strenghtening of innovation thinking inside the industrial system in Lombardia. (qualified services to spread innovations and to transfer technology, to foster small and medium industries to gain access to Italian and European financial programs.
- 2) Piemonte as stated in the innovation BioPmed center there is in Piemonte a real cluster for life science, that has some features particularly suitable to boost this field:
 - The international level of the publications and the presence of extraordinary research centers
 - The presence of excellent educational centers
 - The low cost of the research compartment
 - The possibility to obtain financial facilitations for infrastructural investments to create scientific parks for technological transfer and to boost the entrepreneurial development
 - The presence of excellence center (IRCC Candiolo, Bioindustry Park, some departments of Torino University some CNR research groups), the presence of eminence industries (Bracco, Merck-Serono, Sorin Cardio, Diasorin, Sanofi, Takeda, ecc.) as well small and medium raising industries (Creabilis, Bioman, CID, Nanovector, Aethia, Agrolabo, Procelltech, EPHORAN, Intrauma, DIPRO, Costantino, ecc.)
 - The University will to enhance research results through patenting and developing new industries
 - The dynamism of the industries with a recent boost in new industries
 - The presence of excellent industries in synergic fields such as electronic (bio-elctronic, diagnostic etc) informatics, mechanics and environmental.
 - The presence of international level infrastructures and a cultural good willing environment for research
 - The presence of strategic initiatives to boost these fields (bioPmed, Progetto Città della Salute, Iniziativa Discovery al Bioindustry Park, ecc.)
 - Torino polytechnic, torino University and Maria Pia Hospital, all participating in IRMI, are center of excellence involved in the bioPmed project.
- 3) Friuli Venezia Giulia
In this region is very well established a research reality focused on molecular Biomedicine. They foster a research aimed to unveil the molecular cues behind diseases, to find new diagnostic techniques and to develop less invasive therapies. Inside the District, born to connect all the attendees, they apply polices to strengthen research and development in the biomedical molecular field.
The CBM a public private cooperative society, was born to be a bridge between public research and private companies. They put together scientific boards, companies, government institutions, financial and developmental companies that cooperate for:
 - Technological transfer in molecular medicine

- Promotion of innovative research in biomedical and pharmaceutical field as well as development of advanced biomedical devices

CBM laboratories are technological platforms opened to a shared usage for all the CBM researchers and for all the partners involved. They share their laboratories, instruments and personnel.

- Proteomics and Pharmaceuticals (Oncologic Reference Center Aviano, PN)
- Genomics (CBM, Trieste)
- Bioinformatics (CBM, Trieste)
- Optical Imaging (CBM, Trieste)
- Nanodiagnostics and analysis (CBM, Trieste)
- Stem cell Laboratories (Udine University)

Trieste University that participate in IRMI with the BIOMAT group of the Technological District of Molecular Biomedicine

- 4) *Emilia-Romagna*. This Region lunched a substantial program to promote industrial research, scientific knowledge transfer and to direct all the result towards the productive system. From here a specific net of dedicated structure arose aimed to translate in industrial project the research result; this net ended up in the realization of specialized centers (Tecnopoli).
These centers hold University camps focused on industrial research, like in Parma and Modena, they also work to update industrial sites and areas of great interest in Bologna, Ravenna, Faenza, Forlì e Cesena, Rimini, Spilamberto, Vignola, Reggio Emilia, Piacenza.
The fields in which these laboratories act are: **the high mechanical technology and new materials, food processing, constructions, life science, energy and environment, ICT and Design**.
Aster a cooperative company lately created by the Region coordinates the net. The proposing subjects, the two University and IRCCS Rizzoli are a completing part of the Tecnopoli net in the platform of life science. Recently was activated a “cellular manipulation district” of which IOR Prometheus Laboratory is a part.
- 5) *Lazio*- the region instituted on the fourth of April 2008 the Bioscience Technological District, preparation was coordinate by Filas (which is the board of the DTB), the agreement was signed by Lazio region, MISE and MIUR to favour partnership and technical scientific collaborations between research and industry, to strengthen competitiveness and visibility at an international level and to boost the quality and quantity increase of the industries involved. Their specific targets are:
1. To activate a net of partnership and technical/scientific collaborations between researchers and industries
 2. To strengthen the planning, operative and prototypal ability of the research
 3. To facilitate the financial investment in infrastructure
 4. To promote and sustain the gathering of new high technology companies
 5. To strengthen their international position
 6. To promote educational programs
- The DTB themes areas of R&S are:
- Pharmaceutical
 - Medical Devices
 - Biotechnologies
 - Nanotechnologies for health
 - Food processing for health
 - ICT for Biomedicine and health services
- ABMedica, ABTremila and CNR of Rome are parts of the DTB, in which are inserted:
- 6) *Campania*- The MIUR just recently has approved a feasibility study for 35 Million Euros, giving birth at the Regional biotechnological district in which coexist 86 companies, 34 departments and 7 CNR institutes. The feasibility study brought by the Campania region was approved by the Ministry of Education, of University and Research for the Pon notice research and competitiveness 2007-2013 related to the birth of technological districts in the Regions. The sponsorship of 35 million, will be used to lay the foundation for a platform that will have the task to align industry and research of the biotechnology area. Genomina and Naples CNR are going to be part of this project tanks also to their IRMI affiliation

From the estimation of what was previously indicated it stands to reason that IRMI project was born from regional realities highly involved from an academic or industrial point of view in biotechnology related regenerative medicine. The IRMI aim is to contribute to the regional district success, with facilities able to sustain the scientific and industrial boost

8.4 TEMPISTICA/TIMING

Tempistiche degli OR e prodotti di Medicina Rigenerativa supportati dall'IRMI

Obiettivi realizzativi più rapidamente trasferibili a livello industriale				
OBIETTIVO/PARTNER	DESCRIZIONE OR	ATTIVITÀ	DURATA TOTALE	RIPARTIZIONE MESI VERIFICA E VALIDAZIONE RISULTATI
<u>OR At Grade srl 1</u>	Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) di prodotti di terapia avanzata costituiti da cellule allogeniche (da donazione) espanse in vitro e seminate su scaffolds tridimensionali	SS1: valutazione del progetto di registrazione dei farmaci e preparazione della documentazione necessaria per le attività di realizzazione del protocollo di studio e reclutamento pazienti (previsti 150) SS2: start-up delle attività. Approvazione protocolli, CRF, consensi informati, brochure, identificazione dei centri coinvolti, approvazione dell'Autorità competente. RI1: inizio attività di arruolamento e valutazione, visite di monitoraggio. Familiarizzazione strumenti a supporto (CRF, Database, ecc...), Data Management RI2: Biostatistica. Preparazione piano di analisi statistica, grafici e valutazione finale. RI3: Redazione del Clinical Study Report e presentazione.	30 mesi	SS1: mesi 0-3 verifica documentazione protocollo SS2: mesi 4-9 Verifica materiale documentale RI1: mesi 10-20 RI2: mesi 21-24 Verifica valutazione finale RI3: mesi 25-30 Verifica del Clinica Study report
<u>OR At Grade srl 2</u>	Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) di prodotti di terapia avanzata costituiti da cellule autologhe espanse in vitro e mantenute in sospensione	SS1: valutazione del progetto di registrazione dei farmaci e preparazione della documentazione necessaria per le attività di realizzazione del protocollo di studio e reclutamento pazienti (previsti 150) SS2: start-up delle attività. Approvazione protocolli, CRF, consensi informati, brochure, identificazione dei centri coinvolti, approvazione dell'Autorità competente. RI1: inizio attività di arruolamento e valutazione, visite di monitoraggio. Familiarizzazione strumenti a supporto (CRF, Database, ecc...).	30 mesi	SS1:mesi 0-3 verifica documentazione protocollo SS2: mesi 4-9 Verifica materiale documentale RI1: mesi 10-20 RI2: mesi 21-24 Verifica valutazione finale RI3: mesi 25-30 Verifica del Clinica

		Data Management RI2: Biostatistica. Preparazione piano di analisi statistica, grafici e valutazione finale. RI3: Redazione del Clinical Study Report e presentazione.		Study report
<u>OR Laboratorio PROMETEO BCTM 1</u>	Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione ed immissione in commercio di paste osteoinduttive.	SS1. Perfezionamento della formulazione della pasta. La ricerca si focalizzerà soprattutto nella scelta del polimero che dovrà avere due concomitanti caratteristiche: biocompatibilità e termoplasticità (capacità di indurirsi a 37 °C) (6 mesi); SS2. Prototipizzazione, validazione e sperimentazione (12 mesi); RI1. <i>scaling-up</i> della procedura (2 mesi); RI2. implementazione della <i>process validation</i> , dei batch record e del materiale documentale ed informativo e del packaging (2 mesi); IC immissione in commercio (2 mesi).	24 mesi	SS1 mesi 0-6 Verifica su report dell'attività SS2 mesi 7-18 Verifica prototipo RI1 mesi 19-20 RI2 mesi 21-22 Verifica materiale documentale ed informativo (IC): mesi 23-24
<u>OR Laboratorio PROMETEO BCTM 2</u>	Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione e commercializzazione di derivati ossei che richiedono lavorazioni ad elevata precisione, mediante utilizzo di un sistema di taglio automatizzato.	SS1. Progettazione e disegno dei tessuti tramite software CAD (6 mesi); SS2. ottimizzazione della fresatrice a controllo numerico (3 mesi); SS3. ottimizzazione della procedura di sagomatura dell'osso automatizzata (3 mesi); SS4. Prototipizzazione, validazione e sperimentazione (12 mesi); RI1. implementazione della <i>process validation</i> , dei batch record e del materiale documentale ed informativo e del packaging (2 mesi); IC.immissione in commercio (2 mesi).	28 mesi	SS1 mesi 0-6 Verifica su report dell'attività SS2 mesi 7-9 SS3 mesi 10-12 Verifica report sulle attività SS2 e 3 SS4 mesi 13-24 Verifica prototipo RI1 25-26 Verifica materiale documentale ed informativo (IC) mesi 27-28
<u>OR Laboratorio PROMETEO BCTM e Ospedale Niguarda</u>	Messa a punto di un nuovo processo di ricerca industriale per l'ottenimento di frazioni cellulari purificate di cellule staminali mesenchimali da tessuto adiposo processato tramite sistema Lipostem®, in regime di manipolazione non rilevante e ottenimento delle autorizzazioni obbligatorie per impiego delle suddette cellule in trials clinici.	SS1. standardizzazione del prelievo e della omogeneizzazione in cluster cellulari integri tramite device LIPOSTEM® (3 mesi); SS2. analisi della composizione del tessuto adiposo ottenuto da device Lipostem (9 mesi); RI1. ottimizzazione della procedura di purificazione meccanica delle ASCs (6 mesi); SS3. analisi immunoistochimica delle ASC purificate (4 mesi); RI2. implementazione della <i>process validation</i> , dei batch record e del materiale documentale ed informativo e del packaging (2 mesi); RI3 sperimentazione clinica, definizione dei protocolli clinici e completamento dell'iter autorizzativo (12 mesi);	36 mesi	SS1 mesi 0-3 Verifica su report dell'attività SS2 mesi 4-12 Verifica su report dell'attività RI1 mesi 13-18 Verifica su report dell'attività SS3 mesi 19-22 Verifica su report dell'attività RI2 mesi 23-24 Verifica materiale documentale ed informativo RI3 mesi 25-36

				Verifica autorizzazione
<u>OR CMR/CIDSTEM 1</u>	Sperimentazioni cliniche di terapia cellulare basate su colture di cellule staminali uretrali.	SS1. completamento della definizione delle condizioni di coltura necessarie per l'identificazione e il mantenimento delle cellule staminali uretrali, completamento della loro caratterizzazione molecolare e realizzazione di scaffolds tubolarizzati che consentano il trapianto one-step di colture di cellule staminali uretrali (12 mesi); RI1. implementazione della <i>process validation</i> , dei batch record e del materiale documentale secondo le normative GMP che regolano le sperimentazioni cliniche (6 mesi); RI2. selezione dei pazienti idonei alla sperimentazione clinica, definizione dei protocolli clinici e completamento dell'iter autorizzativo alla sperimentazione stessa (12 mesi); RI3. implementazione di sperimentazioni cliniche di fase I/II del prodotto bio-ingegnerizzato (6 mesi).	36 mesi	SS1 mesi 0-12 Verifica su report dell'attività RI1 mesi 13-18 Verifica materiale documentale RI2 mesi 19-30 Verifica autorizzazione RI3 mesi 31-36 Verifica report sperimentazione clinica
<u>OR CMR/CIDSTEM 2</u>	Sperimentazioni cliniche di terapia cellulare basate su colture di cellule staminali buccali.	SS1. completamento della definizione delle condizioni di coltura necessarie per l'identificazione e il mantenimento delle cellule staminali epiteliali della mucosa del cavo orale, completamento della loro caratterizzazione molecolare e realizzazione di lembi di epitelio coltivati su fibrina adatti al trapianto sulla superficie oculare (8 mesi); RI1. implementazione della <i>process validation</i> , dei batch record e del materiale documentale secondo le normative GMP che regolano le sperimentazioni cliniche (6 mesi); RI2. selezione dei pazienti idonei alla sperimentazione clinica, definizione dei protocolli clinici e completamento dell'iter autorizzativo alla sperimentazione stessa (12 mesi); RI3. implementazione di sperimentazioni cliniche di fase I/II del prodotto bio-ingegnerizzato (10 mesi).	36 mesi	SS1 mesi 0-8 Verifica su report dell'attività RI1 mesi 9-14 Verifica materiale documentale RI2 mesi 15-26 Verifica autorizzazione RI3 mesi 27-36 Verifica report sperimentazione clinica
<u>OR CIRI-SDV, Università di Bologna 1</u>	Certificazione BPL del laboratorio, per prove di neurotossicità e biocompatibilità in vitro e in vivo (animale da laboratorio).	RI 1: completamento della stesura delle procedure (N=20) e presentazione della domanda (6 mesi) RI 2: risposta ai rilievi di audit (audit: stima di max 9 mesi dopo la presentazione della domanda; risposta ai rilievi: 3 mesi dopo l'audit)	18 mesi	RI1 mesi 0-6 Verifica report procedure e domanda certificazione RI2 mesi 7-18 Verifica documento di risposta ai rilievi audit

<p><u>OR CIRI-SDV, Università di Bologna 2</u></p>	<p>Progettazione, prototipizzazione, sperimentazione, produzione ed immissione in commercio di elettrofilati di polimeri naturali e sintetici biocompatibili a diversa geometria, da impiegarsi anche associati a cellule staminali mesenchimali autologhe per la riparazione di lesioni neurologiche.</p>	<p>SS 1: fabbricazione di scaffold elettrofilati a partire da polimeri biocompatibili, sia biorassorbibili che biostabili e funzionalizzazione degli scaffold con proteine di matrice extracellulare, fattori di crescita e farmaci (8 mesi);</p> <p>SS 2: studio in vitro delle proprietà biologiche di cellule mesenchimali su scaffolds funzionalizzati anche esposti a CEMP (sopravvivenza, proprietà antiinfiammatorie e antiapoptotiche da eseguire in accordo con GLP, mediante piattaforma di high-content analysis) (8 mesi)</p> <p>SS 3: studio delle proprietà biologiche di scaffolds funzionalizzati in situ sul modello della lesione del nervo sciatico e sul modello della lesione spinale traumatica anche dopo esposizione a CEMP (biocompatibilità, proprietà antiinfiammatorie e neuroprotettive, da progettare in accordo con GLP) (12 mesi)</p> <p>RII: progettazione e sviluppo di sistemi e protocolli di elettrofilatura e funzionalizzazione di elettrofilati compatibili con GMP per terapie cellulari del sistema nervoso (8 mesi)</p>	<p>36 mesi</p>	<p>SS1 mesi 0-8</p> <p>Verifica primi prototipi scaffold</p> <p>SS2 mesi 9-16</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>SS3 mesi 17-28</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RII mesi 29-36</p> <p>Verifica protocolli</p>
<p><u>OR CIRI-SDV, Università di Bologna e PROMETEO BCTM</u></p>	<p>Definizione di un profilo di congruità delle proprietà autocrine di cellule mesenchimali autologhe per il controllo della neuroinfiammazione e neuroprotezione (best practice protocol)</p>	<p>SS1: analisi di un campione adeguato di cellule mesenchimali ottenute dalle banche di cellule del consorzio, al fine di definire la variabilità individuale nella produzione di fattori solubili (fino a 25 per pannello di analiti) utili alla riparazione del tessuto neurale e controllo dell'infiammazione (panels "neuroprotection" e "inflammation"). Il numero di campioni sarà definito statisticamente in relazione alle variabili definite significative (fra le quali: sesso, età, trattamenti farmacologici in corso, patologie in atto) (12 mesi)</p> <p>RII: analisi statistica comparativa rispetto a dati anagrafici e clinici, al fine di definire un protocollo di adeguatezza del campione autologo ai fini della neuroprotezione/neuroriparazione (6 mesi)</p>	<p>18 mesi</p>	<p>SS1 mesi 0-12</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RII mesi 13-18</p> <p>Verifica protocollo</p>
<p><u>OR GENOMNIA-CNR</u></p>	<p>Utilizzo di tecniche di sequenziamento massivo degli acidi nucleici (Next Generation Sequencing, NGS) per il controllo qualità e sicurezza nell'uso</p>	<p>RI 1.1 Controllo di qualità e di assenza di bio-contaminanti in batch di cellule staminali. RNA totale, estratto dai campioni di cellule staminali (prima e dopo espansione in cultura), sarà sequenziato con tecnologie NGS. Tutte le sequenze ottenute che si allineano sul genoma</p>	<p>36 mesi</p>	<p>RI 1.1 (mesi 1-24)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 1.2 (mesi 1-24)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p>

	<p>terapeutico di cellule staminali</p>	<p>umano saranno sottratte “in silico” e le sequenze rimanenti saranno caratterizzate bioinformaticamente, permettendo di identificare con tecniche di metagenomica, tutti gli elementi contaminanti eventualmente presenti nel batch di cellule di partenza (virus; micoplasma; funghi; micobatteri etc).</p> <p>RI 1.2 Generazione di insiemi di marcatori di espressione genica (signatures), qualitativamente e quantitativamente significativi, utilizzabili per la determinazione e la caratterizzazione qualitativa dei diversi tipi di cellule staminali. I dati accumulati dall’analisi dei trascrittomi di diversi batch di cellule staminali (vedi punto precedente) saranno analizzati allo scopo di determinare il profilo di espressione genica caratteristico di un certo tipo cellulare in una determinata situazione di crescita. Questo profilo medio di ciascun tipo cellulare, sarà poi utilizzabile come “golden standard” per validare altri campioni simili.</p> <p>RI 1.3 Analisi della stabilità genomica delle cellule durante la fase di espansione in cultura. Tale analisi sarà condotta utilizzando la possibilità di sequenziare l’intero esoma della cellula oppure un pannello genico più ristretto, opportunamente scelto (oncogeni, oncosoppressori, etc). Il vantaggio di ridurre il bersaglio dell’analisi consiste nella possibilità, a parità di quantità di sequenza, di osservare anche eventi rari, limitati a poche cellule della cultura, che però poi avrebbero la possibilità di selezionarsi amplificandosi una volta trapiantate nel paziente.</p> <p>SS 1.4 Validazione dei risultati ottenuti attraverso le analisi bioinformatiche su nuove culture sperimentali</p>		<p>RI 1.3 (mesi 1-24)</p> <p>Verifica su report dell’attività</p> <p>SS 1.4 (mesi 24-36)</p> <p>Verifica report validazione dell’attività</p>
<p><u>OR CNR</u></p>	<p>Implementazione di sistemi HTS per l’identificazione di nuove molecole regolatrici della proliferazione e del differenziamento delle cellule staminali.</p>	<p>RI 2.1 ingegnerizzazione/costruzione di linee di cellule staminali murine adatte allo studio della proliferazione e/o differenziamento delle cellule staminali.</p> <p>RI 2.2 screening in automazione (HTS) di librerie di composti ‘farmacologicamente attivi’ sulla proliferazione e/o sul differenziamento delle cellule staminali.</p> <p>SS 2.3 validazione dell’attività dei composti identificati nello screening sulla proliferazione e/o differenziamento di cellule staminali umane.</p>	<p>36 mesi</p>	<p>RI 2.1 (mesi 1-6)</p> <p>Verifica su report dell’attività</p> <p>RI 2.2 (mesi 7-12)</p> <p>Verifica su report dell’attività</p> <p>SS 2.3 (mesi 13-36)</p> <p>Verifica report di validazione</p> <p>RI 2.4 (mesi 1-6)</p> <p>Verifica su report dell’attività</p> <p>RI 2.5 (mesi 7-12)</p> <p>Verifica su report</p>

		<p>RI 2.4 Analisi del differenziamento di mesoangioblasti murini: cellule progenitrici associate ai vasi sanguigni con elevate capacità miogeniche.</p> <p>RI 2.5 identificazione di molecole che siano in grado di indirizzare/modulare le scelte differenziative attraverso la perturbazione della rete di signalling intracellulare, con particolare riguardo al differenziamento del muscolo scheletrico e del muscolo liscio.</p> <p>RI 2.6 Analisi multiparametrica dei profili di attivazione di proteine regolatrici nei processi differenziativi dei mesoangioblasti.</p> <p>SS 2.7 Validazione degli effetti di queste molecole sull'attivazione dei vari pathway cellulari monitorati mediante analisi multiparametrica</p>		<p>dell'attività</p> <p>RI 2.6 (mesi 13-24)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>SS 2.7 (mesi 24-36)</p> <p>Verifica report di validazione</p>
<u>OR GENOMNIA-CNR 3</u>	<p>Identificazione e sviluppo di nuove strategie di ingegneria tissutale:</p> <p>implementazione di biomatrici in grado di controllare il differenziamento di cellule staminali verso fenotipo muscolare striato, modulando l'ambiente cellulare ed extracellulare, e stimolare l'angiogenesi</p>	<p>RI 3.1 le cellule iPS saranno preparate utilizzando il metodo di riprogrammazione per mRNA, più sicuro e più adatto per applicazioni cliniche rispetto ad infezioni virali.</p> <p>RI 3.2 le cellule iPS ottenute verranno indotte a differenziare in precursori miogenici grazie all'azione induttiva di activina, BMP4 e l'inibitore di Rock, quindi sarà quantificata la loro capacità differenziativa in muscolo scheletrico (formazione di miotubi in culture), in relazione alla loro origine.</p> <p>RI 3.3 caratterizzazione delle due diverse popolazioni iPS ottenute dai due diversi tessuti (dermico e muscolare) a livello molecolare, differenziativo e morfologico</p> <p>RI 3.4 progenitori muscolari ottenuti da espansione delle iPS saranno caricati su matrice di PF (un idrogel di PEG e Fibrinogeno) e coltivate in 3D per analisi in vitro delle capacità di differenziamento in muscolo scheletrico.</p> <p>RI 3.5 Ottimizzazione della matrice con molecole attive come fattori angiogenici (VEGF e PlGF) e fattori di crescita come (IGF e NGF) per migliorare la funzionalità del tessuto artificiale garantendo vascolarizzazione ed innervazione del tessuto in costruzione</p> <p>RI 3.6 Le combinazioni iPS – matrice che mostrando le migliori capacità miogeniche, verranno impiantate sottocute in ospiti murini per generare un tessuto artificiale muscolare completo sfruttando l'attività di particolari nicchie anatomiche (sottocute sulla superficie del tibiale</p>	36 mesi	<p>RI 3.1 (mesi 1-6 e mesi 12 – 24)</p> <p>Verifica report sulle attività</p> <p>RI 3.2 (mesi 7-12)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 3.3 (mesi 24-36)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 3.4 (mesi 1-12)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 3.5 (mesi 12-16)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 3.6 (mesi 16-36)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 3.7 (mesi 1-16)</p> <p>Verifica report sulle attività precliniche</p> <p>RI 3.8 (mesi 9-36)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 3.9 (mesi 9-36)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 3.10 (mesi 1-20)</p> <p>Verifica su report dell'attività</p>

		<p>anteriore).</p> <p>RI 3.7 Studi pre-clinici in modelli di danno muscolare acuto per valutare l'effetto sulla rigenerazione muscolare di molecole/piccoli peptidi in grado di regolare la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali.</p> <p>RI 3.8 Ottimizzazione di sistemi di rilascio controllato di molecole biotivite in grado di controllare la proliferazione e/o il differenziamento delle cellule staminali, in vitro ed in vivo, in modelli di danno muscolare acuto.</p> <p>RI 3.9 Implementazione di protocolli sperimentali per valutare l'effetto di molecole e/o piccoli peptidi sulla migrazione delle cellule staminali muscolari in coltura e/o ex vivo in fibre muscolari isolate.</p> <p>RI 3.10 Ottimizzazione di sistemi di rilascio controllato di molecole funzionalizzate a biomateriali in grado di modulare l'angiogenesi.</p>		
<u>OR AB MEDICA e AB TREMILA</u>	Progettazione, prototipizzazione e sperimentazione di scaffold in Degrapol® per applicazioni di ingegneria tissutale	<p>RI 4.1 Ricerca e individuazione di membrane di DegraPol® e finalizzazione di un alto grado di orientamento delle fibre ottenute mediante tecnica di elettrospinnig.</p> <p>RI 4.2 Funzionalizzazione biofarmacologica dello scaffold.</p> <p>RI 4.3 Progettazione, design e ottimizzazione di un bioreattore</p> <p>SS 4.4 Costruzione di prototipi, che saranno sperimentati in vitro e successivamente utilizzati nei test di impianto pre-clinico su animale per passare successivamente alla fase di sperimentazione clinica attraverso la realizzazione di trial clinici multicentrici</p> <p>RI 4.5 Progettazione e ottimizzazione di una mesh di DegraPol® non riassorbibile, costruita tramite elettrospinning, dotata di un lato costituito da rete macroporosa e un lato anti-aderente, per il corretto posizionamento intraperitoneale.</p> <p>SS 4.6 Impianto della mesh in animali e analisi, a diversi tempi, del livello di cellularizzazione e del grado di differenziamento ottenuto.</p> <p>SS 4.7 Funzionalizzazione della mesh con le molecole e i fattori selezionati nelle precedenti OR2 e OR3 per la loro abilità nello stimolare la crescita, il differenziamento cellulare e l'angiogenesi. Test in vivo in animali e analisi morfologica e molecolare del tessuto rigenerato.</p>	36 mesi	<p>RI 4.1 (mesi 1-6) Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 4.2 (mesi 7-24) Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 4.3 (mesi 1-12) Prototipo bioreattore</p> <p>SS 4.4 (mesi 25-36) Prototipi per tests preclinici e clinici</p> <p>RI 4.5 (mesi 1-6) Verifica su report dell'attività</p> <p>SS 4.6 (mesi 18-36) Verifica su report dell'attività</p> <p>SS 4.7 (mesi 24 – 36) Verifica su report dell'attività</p> <p>SS 4.8 (mesi 24 - 36) Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 4.9 (mesi 1-12) RI 4.10 (mesi 13-30) Prototipi di protesi endovascolari</p> <p>SS 4.11 (mesi 31-36) Sperimentazione clinica prototipi</p>

		<p>SS 4.8 Cellularizzazione delle mesh prima dell'impianto in animali, utilizzando le migliori combinazioni di cellule staminali e matrice selezionate nella OR3. Analisi morfologica e molecolare del tessuto rigenerato.</p> <p>RI 4.9 Progettazione di tubi di diverso diametro di DegraPol® che rispondano alle specifiche di una protesi endovascolare in termini di resistenza e forza longitudinale, utilizzando DegraPol® a rapido degrado DP_30, processato a forma tubolare mediante elettrospinning, da usare per la realizzazione di protesi endovascolari per il trattamento di aneurismi in arterie di piccolo e medio diametro.</p> <p>RI 4.10 Progettazione e realizzazione di protesi endovascolari di DegraPol® a rilascio di farmaco, costituiti da scaffold a porosità differenziata, capaci di incorporare e rilasciare in modo controllato farmaci e/o "drug carriers" in forma di micro- o nanoparticelle, con la possibilità di controllare cineticamente il dosaggio del componente farmacologico. Questo permetterebbe di realizzare approcci terapeutici in cui il principio attivo agisca soltanto dove necessario per tempi anche lunghi</p> <p>SS 4.11 Costruzione di prototipi, che saranno sperimentati in vitro e successivamente utilizzati nei test di impianto pre-clinico su animale per passare successivamente alla fase di sperimentazione clinica attraverso la realizzazione di trial clinici multicentrici.</p>		
<u>OR POLITO 1</u>	Fabbricazione di matrici tridimensionali (scaffold) biomimetiche per l'ingegneria dei tessuti. Ottimizzazione delle caratteristiche morfologiche, chimico-fisiche, meccaniche e superficiali dello scaffold al fine di realizzare un substrato adatto alla proliferazione e al differenziamento delle cellule staminali.	<p>SS1. Identificazione dei requisiti strutturali e chimico-fisici degli scaffold (6 mesi)</p> <p>SS2. Fabbricazione degli scaffold e ottimizzazione del processo produttivo (9 mesi)</p> <p>SS3. Analisi della risposta cellulare (9 MESI)</p> <p>RI1. Definizione protocolli standard per la fabbricazione degli scaffold secondo le normative vigenti (6 mesi)</p> <p>RI2. Fabbricazione di prototipi per la sperimentati in vivo su animali (test pre-clinici) e successivamente per la fase di sperimentazione clinica (6 mesi)</p>	36 mesi	<p>SS1 mesi 0-6</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>SS2 mesi 7-15</p> <p>Verifica prototipi</p> <p>SS3 mesi 16-24</p> <p>Verifica report analisi</p> <p>RI1 mesi 25-30</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI2 mesi 31-36</p> <p>Verifica prototipi</p>
<u>OR POLITO 2</u>	Messa a punto di gel termosensibili e	SS1. Ottimizzazione dei gel in PU come componente delle paste	36 mesi	SS1 mesi 0-4 Verifica su report

	facilmente iniettabili a temperature ambiente ed in grado di formare un gel in condizioni fisiologiche (37°C), da utilizzare per la preparazione di paste osteoinduttive e per il mantenimento in coltura di cellule staminali.	<p>osteoinduttive (4 mesi)</p> <p>SS2. Ottimizzazione dei gel in PU per l'incapsulamento delle cellule staminali (6 mesi)</p> <p>SS4 Analisi e ottimizzazione del rilascio delle molecole bioattive (8 mesi)</p> <p>SS3. Sperimentazione e analisi della risposta delle cellule incapsulate (6 mesi)</p> <p>RI1. Definizione protocolli standard per la fabbricazione degli scaffold secondo le normative vigenti (6 mesi)</p> <p>RI2. Fabbricazione di prototipi per la sperimentati in vivo su animali (test pre-clinici) e successivamente per la fase di sperimentazione clinica (6 mesi)</p>		<p>dell'attività</p> <p>SS2 mesi 5-10</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>SS3 mesi 11-18</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>SS4 mesi 19-24</p> <p>Verifica report sperimentazione</p> <p>RI1 mesi 25-30</p> <p>Verifica report protocolli</p> <p>RI2 mesi 31-36</p> <p>Verifica report prorotipi</p>
<u>OR Maria Pia Hospital del GVM care & research 1 (RI):</u>	Sviluppo e mantenimento di un servizio di comunicazione nei confronti dei soggetti non professionali e in particolare modo della pubblica amministrazione dei privati cittadini.	<p>RI 1 Studiare le modalità di comunicazione della Medicina Rigenerativa per eliminare i miti illusori e le false credenze.(6 mesi),</p> <p>RI2 Studiare le modalità di comunicazione dei risultati raggiunti dalla ricerca con chiarezza utilizzando un linguaggio comprensibile per i non addetti ai lavori (6 mesi).</p> <p>SS3 Realizzare prototipi di comunicazione relativi all'applicazione della Medicina Rigenerativa in ambito ambulatoriale e ospedaliero (3 mesi).</p> <p>SS4 Realizzare prototipi di comunicazione relativi all'applicazione della Medicina Rigenerativa nel miglioramento della Qualità della Vita (3 mesi)</p> <p>SS5 Realizzare prototipi di comunicazione per un aggiornamento costante dei servizi ambulatoriali e ospedalieri disponibili sul territorio nazionale per le applicazioni di Medicina Rigenerativa (3 mesi),</p> <p>SS6 Realizzare prototipi di comunicazione per presentare il ruolo di IRMI nello sviluppo della Medicina Rigenerativa in Italia (3 mesi).</p>	24 mesi	<p>RI1 mesi 0-6</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI2 mesi 7-12</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>SS3 mesi 13-15</p> <p>Verifica prototipi comunicazione</p> <p>SS4mesi 16-18</p> <p>Verifica prototipi comunicazione</p> <p>SS5 mesi 19-21</p> <p>Verifica prototipi comunicazione</p> <p>SS6 mesi 22-24</p> <p>Verifica prototipi comunicazione</p>
<u>OR Maria Pia Hospital del GVM care & research 2 (RI):</u>	Sviluppo di un programma di formazione dedicato a operatori sanitari e operatori della Comunicazione, <u>inserito all'interno del Piano di Formazione.</u>	<p>Formazione</p> <p>1. operatori sanitari specializzati nell'erogazione dei servizi della Medicina Rigenerativa in termini di erogazione e monitoraggio dei prodotti</p> <p>2. operatori della Comunicazione, attraverso seminari e materiali informativi preparati ad hoc, in modo da favorire la diffusione della corretta informazione sui temi della Medicina Rigenerativa, che molto spesso sono</p>	36 mesi	<p>PF 36 mesi</p> <p>L'obiettivo è inserito nel piano della formazione e le attività di verifica si baseranno sui risultati conseguiti dal piano proposto.</p>

		<p>oggetto di discussioni basate sui "sentito dire" e su argomentazioni non fondate su dati reali generando confusione e timori immotivati tra i cittadini e i responsabili delle pubbliche amministrazioni.</p>		
<p><u>OR Maria Pia Hospital del GVM care & research 3 (RI):</u></p>	<p>Progettazione e Implementazione di infrastrutture di un centro ambulatoriale di medicina rigenerativa</p>	<p>RI1 studio e progettazione per la creazione di locali adibiti ad ambulatori di medicina rigenerativa per la somministrazione di prodotti già riconosciuti quali ad esempio i PRP nei settori della chirurgia plastica ricostruttiva ed estetica, oculistica, ortopedia, vulnologia, chirurgia maxillo facciale/dentale, cardiocirurgia, ginecologia, tricologia, chirurgia spinale e per l'applicazione dei prodotti descritti dal progetto e che verranno immessi sul mercato. E' stato identificato uno spazio fisico ad hoc di circa 700 m² sito in via Villa della Regina 19 a Torino che è stato destinato alle attività ambulatoriali di medicina rigenerativa (6 mesi)</p> <p>RI2 studio, progettazione ed acquisto nell'allestimento degli ambulatori di opportune apparecchiature biomedicali per consentire la valutazione e l'efficacia delle cure nell'ambito della medicina rigenerativa (ecografi, lipoestrattori....) (6 mesi)</p> <p>SS1 adeguato progetto di formazione per preparare il personale destinato a gestire il percorso della medicina rigenerativa (12 mesi)</p> <p>SS2 allestimento di trials clinici per lo sviluppo di nuovi prodotti nell'ambito della medicina rigenerativa, presso la sede Maria Pia Hospital del GVM care & research, che coinvolga i seguenti settori: cardiologia, cardiocirurgia, ortopedia, oculistica, neurochirurgia, chirurgia vascolare, medicina interna/diabete. (36 mesi)</p>		<p>RI1 mesi 0-6 Verifica progettazione RI2 mesi 7-12 Verifica acquisizione SS1 mesi 13-24 Verifica efficacia progetto formativo SS2 mesi 25-36 Verifica documentazione trials clinici</p>

Timing of the OR and Regenerative Medicine products supported by IRMI

Development objects more quickly transferable to the market				
OBJECTIV /PARTNER	OR DESCRIPTION	ACTIVITIES	TOTAL DURATION	DIVISION OF MONTHS
<u>OR At Grade srl 1</u>	Clinical trial and submission of the dossier for registration as a drug at the EMA (European Medicines Agency) for advanced therapy medicinal products consist of allogeneic cells (by donation) expanded in vitro and seeded onto three-dimensional scaffolds	SS1: project evaluation of drug registration and preparation of documentation required for the realization of the study and patient recruitment protocol (under 150) (0-3 months) SS2: start-up of activities. Approval of protocols, CRFs, informed consent, brochures, identification of the centers involved, approval of the competent authority. (4-9 months) RI1: Start of recruitment and assessment, monitoring visits. Familiarization support tools (CRF, Database, etc ...). Data Management (10-20 months) RI2: Biostatistics. Preparing statistical analysis plan, charts, and final evaluation. (21-24 months) RI3: Preparation of Clinical Study Reports and presentation. (25-30 months)	30 months	SS1: months 0-3 Protocols verification SS2: months 4-9 Documents verification RI1: months 10-20 RI2: months 21-24 Final evaluation verification RI3: months 25-30 Clinical Study reports verification
<u>OR At Grade srl 2</u>	Studio di sperimentazione clinica e sottomissione del dossier per la registrazione come farmaco presso l'EMA (European Medicines Agency) of advanced therapy products consisting of cellule autologhe espanse in vitro e mantenute in sospensione	SS1: evaluation of the project registration of drugs and preparation of the necessary documentation for the work to complete the study protocol and patient recruitment (under 150) (0-3 months) SS2: start-up of activities. Approval protocols, CRFs, informed consent, brochures, identification of the centers involved, approval of the competent authority. (4-9 months) RI1: Start of operation recruitment and assessment, monitoring visits. Familiarization support tools (CRF, Database, etc ...). Data Management (10-20 months) RI2: Biostatistics. Preparing statistical analysis plan, charts, and final evaluation. (21-24 months) RI3: Preparation of Clinical Study Reports and presentation. (25-30 months)	30 month	SS1: months 0-3 Protocols verification SS2: months 4-9 Documents verification RI1: months 10-20 RI2: months 21-24 Final evaluation verification RI3: months 25-30 Clinical study report verification
<u>OR Laboratorio PROMETEO BCTM 1</u>	Design, prototyping, experimentation, production and commercialization of osteoinductive paste	SS1. Improvement of the paste formulation. The research will focus above all on the polymer choice, that should have two necessary features: biocompatibility and thermo-plasticity (capacity to induce to 37°C) (6 months); SS2. Prototyping, validation and experimentation (12 months); RI1. Scaling-up of the procedure (2 months); RI2. Implementation of the process validation of batch records, documental and informative material and packaging; IC. Commercialization. (2 months).	24 month	SS1 months 0-6 Activity report verification SS2 months 7-18 Prototype verification RI1 months 19-20 RI2 months 21-22 Documents and informative material verification (IC): months 23-24

<p><u>OR Laboratorio PROMETEO BCTM 2</u></p>	<p>Design, prototyping, experimentation, production and commercialization of bone derivatives that require high-precision manufacturing, through the use of a computerized cutting system</p>	<p>SS1. Design and drawing of the tissues through software CAD (6 months); SS2. Optimization of the miller with a numerical control (3 months); SS3. Optimization of the computerized shaping procedure for the bone (3 months); SS4. Prototyping, validation and experimentation (12 months); RII. Implementation of the process validation, of the batch record, documents and informative material and packaging (2 months); IC. Commercialization (2 months).</p>	<p>28 month</p>	<p>SS1 months 0-6 Activity report verification SS2 months 7-9 SS3 months 10-12 Activity report verification SS4 months 13-24 Prototype verification RII 25-26 Documents and informative material verification (IC) months 27-28</p>
<p><u>OR Laboratorio PROMETEO BCTM e Ospedale Niguarda</u></p>	<p>Definition of a new industrial research project, aiming at acquire purified cellular fractions of mesenchymal stem cells of adipous tissue processed through the system lipostem@, in a regime of non-relevant manipulation and the obtainment of the compulsory autorizations to commit these cells in clinical trials.</p>	<p>SS1. Standardization of the sample and homogenization of integrated cells cluster through device LIPOSISTEM@ (3 months); SS2. Analysis of the adipose tissue composition, obtained by the device LIPOSTEM (9 months); RII. Optimization of the mechanical purification procedure of the ASCs (6 months); SS3. Immunohistochemistry analysis of the purified ASC (4 months); RI2. Implementation of the process validation, of batch record and of documents, informative materials and packaging (2 months); RI3. Clinical experimentation, definition of clinical protocols and fulfillment of the authorization process (12 months).</p>	<p>36 month</p>	<p>SS1 months 0-3 Activity report verification SS2 months 4-12 Activity report verification RII months 13-18 Activity report verification SS3 months 19-22 Activity report verification RI2 months 23-24 Documents and informative materials verification RI3 months 25-36 Authorization verification</p>
<p><u>OR CMR/CIDSTEM 1</u></p>	<p>Clinical experimentation of urethral epithelium culture</p>	<p>SS. Fulfillment of the definition of the necessary conditions for culture for the identification and the maintenance of urethral stem cells, fulfillment of their molecular characterization and realization of the tabularized scaffolds that allow a one-step implant of urethral stem cells culture (12 months); RII. Implementation of the validation process, batch record , documents according to the GMP regulations, that governs clinical experimentations (6 months); RI2. Selection of adequate patients for the clinical experimentation, definition of clinical protocols and fulfillment of the authorization process for the experimentation (12 months); RI3. Implementation of the clinical experimentation, in particular Phase 1 and 2 of the bio-engineered product (6 months);</p>	<p>36 month</p>	<p>SS1 months 0-12 Activity report verification RII months 13-18 Documents verification RI2 months 19-30 Authorization verification RI3 months 31-36 Clinical trial reports verifications</p>
<p><u>OR CMR/CIDSTEM 2</u></p>	<p>Clinical experimentation of</p>	<p>SS1. Fulfillment of the definition of the culture conditions, necessary to identify the maintenance</p>	<p>36 month</p>	<p>SS1 months 0-8 Activity report</p>

	the buccal epithelium culture.	of the epithelial stem cells of the mouth mucous, fulfillment of their molecular characterization and realization of the cultivated epithelium flaps on fibrin, adequate for an implant of the ocular surface (8 months); RI1. Implementation of the validation process, of batch record, documents according to the GMP regulations that govern the clinical experimentation (6 months); RI2 . selection of adequate patients for the clinical experimentation, definition of clinical protocols and fulfillment of the authorization procedure (12 months); RI3. Implementation of the clinical experimentation, Phase I/II of the bio-engineered result (10 months).		verification RI1 months 9-14 Documents verification RI2months 15-26 Authorization verification RI3 months 27-36 Clinical trial reports verifications
OR <u>CIRI-SDV, Università di Bologna 1</u>	Certification bpl of the laboratory, for neurotoxicity proves and biocompatibility of in vitro and in vivo (with animals) materials.	RI1. Fulfillment of the procedure drafting (N=20) and presentation of the demand (6months); RI2. Response to the audit samples (audit time estimated: 9 months after the presentation of the demand; response to the sample: 3 months after the audit).	18 month	RI1 months 0-6 Procedures and certification demand verification RI2 months 7-18 Response to the audit samples verifications
OR <u>CIRI-SDV, Università di Bologna 2</u>	Design, prototyping, experimentation, production and commercialization of electrophilic of natural and synthetic polymers, biocompatible and with different geometry, to be used and associated to autologous mesenchymal stem cells and elettromagnetic fields with low frequency for the recovery of neurologic injuries.	SS1. Production of electrophilic scaffold made of biocompatible polymers, both bioabsorbable and biostable; functionalization of scaffold with proteins of extracellular matrix a, growth factors and drugs (8 months); SS2. Studying, in vitro, of the biological properties of mesenchyme cells on functioning scaffolds, also exposed to CEMP (surviving, anti-inflammatory and antiapoptotic properties, to be executed in conformity with GLP, through a platform of high-content analysis) (8 months); SS3: study of the biological properties of functioning scaffolds with the model of sciatic nerve injury and with the model of the traumatic spinal injury, even after the exposition of CEMP (biocompatibility, anti-inflammatory property and neuroprotective, to be designed in accordance with GLP) (12 months); RI. Design and development of electrophilic systems and protocols and functioning of the compatible electrophilic according to GMP, with cell therapies of the nervous system (8months).	36 month	SS1 months 0-8 First scaffold prototypes verifications SS2 months 9-16 Activity report verification SS3 months 17-28 Activity report verification RI1 months 29-36 Protocols verification
OR <u>CIRI-SDV, Università di Bologna e PROMETEO BCTM</u>	Deifinition of a congruity profile of the autocrine properties of mesenchymal autologous cells, aiming at monitoring the neuroinflammation and the neuroprotection (best practice protocol).	SS. Analysis of an adequate sample of mesenchymal cells, obtained from the bank of cells, belonging to the consortium, in order to define the individual variability in the production of soluble factors (till 25 for each analytes panel), useful for the recovery of the neural tissue and panels for neuroprotection and inflammation. The number of samples will be statistically defined in relation to the significant variables (e.g.: sex, age, ongoing pharmacological treatments, ongoing pathologies) (12 months); RI. Comparative statistical analysis, in respect to anagraphical and clinical data, in order to define an adequate protocol of the autologous sample for the	18 month	SS1 months 0-12 Activity report verification RI1 months 13-18 Protocols verification

		neuroprotection and the neurorecovery (6 months).		
<u>OR GENOMNIA-CNR</u>	Use of massive sequencing technique of nucleic acids (next generation sequencing) for the quality and safety control in the therapeutic use of stem cells.	<p>RI 1.1 (months 1-24) Control of quality and of the absence of bio-contaminants in batches of stem cells. Total RNA extracted from the stem cell samples (before and after expansion in culture) will be sequenced with NGS technologies. All obtained sequences that align with the human genome will be subtracted "in silico" and the remaining sequences will be characterized through bioinformatics, allowing the identification, thanks to techniques of metagenomic, of all the contaminants that may be present in the batch of starting cells (viruses, mycoplasma, fungi, mycobacteria, etc.).</p> <p>RI 1.2 (months 1-24) Generation of sets of markers of gene expression (signatures), qualitatively and quantitatively significant, used for the determination and qualitative characterization of the various types of stem cells. The accumulated data from the analysis of the transcriptome of different batch of stem cells (see previous paragraph) will be analyzed in order to determine the gene expression profile of a certain cell type in a given situation of growth. This average profile of each cell type, will then be used as a "golden standard" to validate other similar samples.</p> <p>RI 1.3 (months 1-24) Analysis of the genomic stability of the cells during the phase of expansion in culture. This analysis will be conducted using the possibility of sequencing the entire esoma of the cell or a narrower gene panel, suitably chosen (oncogenes, tumor suppressor genes, etc.). The advantage of reducing the target of the analysis consists in the possibility, for the same amount of sequence, also observe rare events, limited to a few cells of the culture, but then would have the possibility to select, amplifying, once transplanted into the patient.</p> <p>SS 1.4 (months 24-36) Validation of the results obtained through bioinformatics analysis of new experimental cultures</p>	36 month	<p>RI 1.1 (months 1-24) Activity report verification</p> <p>RI 1.2 (months 1-24) Activity report verification</p> <p>RI 1.3 (months 1-24) Activity report verification</p> <p>SS 1.4 (months 24-36) Activity validation report verification</p>
<u>OR CNR 2</u>	Implementation of hts systems for the identification of new regulation molecules of the proliferation and differentiation of stem cells.	<p>RI 2.1 (months 1-6) engineering / construction of murine stem cell lines suited to the study of the proliferation and / or differentiation of stem cells;</p> <p>(RI 2.2 (months 7-12) Automation screening (HTS) of libraries of compounds 'pharmacologically active' on the proliferation and / or differentiation of stem cells;</p> <p>(SS 2.3 (months 13-36) validation activity of the compounds identified in the screening on the proliferation and / or differentiation of human stem cells.</p> <p>RI 2.4 (months 1-6) Analysis of differentiation of murine mesonangioblasts: progenitor cells associated with blood vessels with high myogenic capacity.</p> <p>RI 2.5 (months 7-12) Identification of molecules that are able to target / modular differentiation choices through the disruption of the intracellular signaling network, particularly with regard to differentiation of skeletal muscle and smooth</p>	36 month	<p>RI 2.1 (months 1-6) Activity report verification</p> <p>RI 2.2 (months 7-12) Activity report verification</p> <p>SS 2.3 (months 13-36) Verifica report di validazione</p> <p>RI 2.4 (months 1-6) Activity report verification</p> <p>RI 2.5 (months 7-12) Activity report verification</p> <p>RI 2.6 (months 13-24) Activity report</p>

		<p>muscle.</p> <p>RI 2.6 (months 13-24) Multiparametric analysis of the profiles of activation of regulatory proteins in differentiation processes of mesoangioblasts.</p> <p>SS 2.7 (months 24-36) Validation of the effects of these molecules on the activation of various cellular pathways monitored by a multiparametric analysis</p>		<p>verification</p> <p>SS 2.7 (months 24-36)</p> <p>Validation report verification</p>
<u>OR GENOMNIA-CNR 3</u>	<p>Identification and development of new tissue engineering strategy: implementation of biomatrixes, able to control the differentiation of stem cells, towards a striped muscle phenotype, modulating the cellular and extra-cellular environment and stimulating the angiogenesis.</p>	<p>RI 3.1 (months 1-6 and months 12 - 24). Ips cells will be prepared using the flash method for mrna, safer and more suitable for clinical applications, compared to viral infections;</p> <p>RI 3.2. (months 7-12). The obtained ips cells will be induced to differentiate into myogenic precursors, thanks to the induction of activin. BMP4 and inhibitor of Rock will be quantified according to their ability to differentiate into skeletal muscle (training of myotubes in cultures), in relation to their origin.</p> <p>RI 3.3 (months 24-36). Characterization of two different ips populations, obtained from two different tissues (dermal and muscle) on a molecular, differentiate and morphological level.</p> <p>RI 3.4 (months 1-12). Muscle progenitors obtained by expansion of ips will be loaded onto PF matrix (a hydrogel of PEG and fibrinogen) and cultured in 3D for in vitro analysis of the ability to differentiate into skeletal muscle.</p> <p>RI 3.5 (months 12-16) Optimization of the matrix with active molecules as angiogenic factors (VEGF and plgf) and growth factors (IGF and NGF) to enhance the functionality of tissue vascularization and innervation of providing artificial tissue construction</p> <p>RI 3.6 (16-36 months). Combinations ips - matrix showing the best myogenic capacity, guests will be implanted subcutaneously in mice to generate an artificial muscle tissue fully exploiting the activity of particular anatomical niches (under the skin on the surface of the tibialis anterior).</p> <p>RI 3.7 (months 1-16) pre-clinical studies in models, considering the severe muscle injury, to evaluate the regenerative effect on the muscle molecules, of small peptides, able to regulate the proliferation and/or differentiation of stem cells;</p> <p>RI 3.8 (months 9-36) Optimization of systems for controlled release of bioactive molecules able to control the proliferation and / or differentiation of stem cells, in vitro and in vivo, in models of acute muscle injury;</p> <p>RI 3.9 (months 9-36) Implementation of experimental protocols to evaluate the effect of molecules and / or small peptides on the migration of muscle stem cells in culture and / or ex vivo in isolated muscle fibers.</p> <p>RI 3.10 (months 1-20) Optimization of systems for controlled release of molecules functionalized to biomaterials capable of modulating angiogenesis.</p>	36 month	<p>RI 3.1 (months 1-6 e months 12 – 24)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 3.2 (months 7-12)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 3.3 (months 24-36)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 3.4 (months 1-12)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 3.5 (months 12-16)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 3.6 (months 16-36)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 3.7 (months 1-16)</p> <p>Activities report verification precliniche</p> <p>RI 3.8 (months 9-36)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 3.9 (months 9-36)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 3.10 (months 1-20)</p> <p>Activities report verification</p>
<u>OR AB MEDICA e AB TREMILA</u>	<p>Progettazione, prototipizzazione e sperimentazione di scaffold in Degrapol® per applicazioni di</p>	<ul style="list-style-type: none"> • RI 4.1 (months 1-6) search and identification of membranes of DegraPol ® and finalization of a high degree of orientation of the fibers obtained by means of technical elettrospinnig. • RI 4.2 (months 7-24) biopharmacology 	36 month	<p>RI 4.1 (months 1-6)</p> <p>Activities report verification</p> <p>RI 4.2 (months 7-24)</p> <p>Activities report</p>

	ingegneria tissutale	<p>functionalization of the scaffold.</p> <ul style="list-style-type: none"> • RI 4.3 (months 1-12) Planning, design and optimization of a bioreactor • SS 4.4 (months 25-36) Construction of prototypes that will be tested in vitro and subsequently used in the test system of pre-clinical animal was then passed on to the stage of clinical trials through the development of multicenter clinical trials • RI 4.5 (months 1-6) Design and optimization of a mesh of DegraPol ® non-absorbable, built by electrospinning, with one side consisting of macroporous network side and a non-stick, for the correct positioning intraperitoneal. • SS 4.6 (months 18-36) Plant of the mesh in animals and analysis, at different times, the level of cellularisation and the degree of differentiation obtained. • SS 4.7 (months 24 - 36) Functionalization of the mesh with the molecules and factors selected in the previous OR2 and OR3 for their ability to stimulate growth, cell differentiation and angiogenesis. In vivo tests in animals and morphological analysis and molecular regenerated tissue. • SS 4.8 (months 24 - 36) cellularisation mesh before implantation in animals, using the best combination of stem cells and matrix selected in OR3. Morphological and molecular analysis of regenerated tissue. • RI 4.9 (months1-12) Designing of tubes of different diameters of DegraPol ® that meet the specifications of an endovascular prosthesis in terms of resistance and longitudinal force, using DegraPol ® to rapid degradation DP_30, processed in tubular form by electrospinning, to use for the realization of endovascular prosthesis for the treatment of aneurysms in arteries of small and medium diameter. • RI 4.10 (months 13-30) Design and manufacture of endovascular prosthesis of DegraPol ®-release of drug, consisting of scaffolds different porosity, able to incorporate and release drugs in a controlled manner and / or "drug carriers" in the form of micro - or nanoparticles, with the ability to kinetically control the dosage of the drug component. This would allow to achieve therapeutic approaches in which the active ingredient act only where necessary for even long times • SS 4.11 (months 31-36) Construction of prototypes that will be tested in vitro and subsequently used in the test system of pre-clinical animal was then passed on to the stage of clinical trials through the development of multicenter clinical trials. 		<p>verification</p> <p>RI 4.3 (months 1-12) Bioreactor prototype verification SS 4.4 (months 25-36) Preclinical and clinical tests prototype verification RI 4.5 (months 1-6) Activities report verification SS 4.6 (months 18-36) Activities report verification SS 4.7 (months 24 - 36) Activities report verification SS 4.8 (months 24 - 36) Activities report verification RI 4.9 (months1-12) RI 4.10 (months 13-30) Endovascular prosthesis prototype verification SS 4.11 (months 31-36) Prototypes clinical trials verification</p>
<u>OR POLITO 1</u>	Manufacturing of biomimetical scaffold for tissue engineering. Optimization of the morphological features, chemical and physical, mechanical	SS1. Identification of the structural requirements and the physical-chemical scaffold (6 months) SS2. Fabrication of scaffolds and optimization of the production process (9 months) SS3. Analysis of the cellular response (9 MONTHS) RI1. Definition standard protocols for the	36 month	SS1 months 0-6 Activity report verification SS2 months 7-15 Prototypes verification

	and superficial of the scaffold, in order to make an adequate substrate for the proliferation and the differentiation of stem cells	manufacture of scaffolds according to current regulations (6 months) RI2. Manufacture of prototypes for the tested in vivo on animals (pre-clinical) and subsequently for clinical trials (6 month)		SS3 months 16-24 Analysis report verification RI1 months 25-30 Activity report verification RI2 months 31-36 Prototypes verification
<u>OR POLITO 2</u>	Development of temperature sensitive gel injectable and easy to room temperature and able to form a gel in physiological conditions (37 ° c), to be used in the preparation of osteoinductive paste and sustaining culture of stem cells.	SS1. Optimization of PU gel as part of osteoinductive paste (4 months) SS2. Optimization of PU gel for encapsulation of stem cells (6 months) SS4 Analysis and optimization of the release of bioactive molecules (8 months) SS3. Testing and analysis of the response of encapsulated cells (6 months) RI1. Definition of standard protocols for the manufacture of scaffolds according to current regulations (6 months) RI2. Manufacture of prototypes for the in vivo tests on animals (pre-clinical) and subsequently for clinical trials (6 months)	36 month	SS1 months 0-4 Activity report verification SS2 months 5-10 Activity report verification SS3 months 11-18 Activity report verification SS4 months 19-24 Trial analysis verification RI1 months 25-30 Protocols report verification RI2 months 31-36 Prototype report verification
<u>OR Maria Pia Hospital del GVM care & research 1 (RI):</u>	Development and maintenance of a communication service for non-professional actors, and especially the Government of private citizens	RI1 Clarify the scope of activities of Regenerative Medicine to avoid illusion and false beliefs; RI2 Clarify clearly the achievements of the research using an understandable language for non-experts; SS3 Clarify the application of regenerative medicine in the clinical and hospital areas; SS4 Clarify the application of Regenerative Medicine in improving the Quality of Life; SS5 Provide a continuous update of clinical and hospital services, that are available on the national territory; SS6 Present the role of IRMI in the development of Regenerative Medicine in Italy.	24 month	RI1 months 0-6 Activities report verification RI2 months 7-12 Activities report verification SS3 months 13-15 Communication prototypes verification SS4months 16-18 Communication prototypes verification SS5 months 19-21 Communication prototypes verification SS6 months 22-24 Communication prototypes verification

<p><u>OR Maria Pia Hospital del GVM care & research 2 (RI):</u></p>	<p>Development of a training program dedicated to healthcare professionals and communicators</p>	<p>1 Health professionals specializing in the delivery of services of Regenerative Medicine in terms of disbursement and monitoring products</p> <p>2 For communicators, through seminars and briefing materials prepared ad hoc, in order to facilitate the dissemination of accurate information on the issues of Regenerative Medicine, which are often the subject of discussion based on "hearsay" and arguments, not based on real data, causing confusion and unwarranted fears among people and Public Administrations.</p>	<p>36 month</p>	<p>PF 36 months</p> <p>The objective is inserted in the training project and the verification activity will be based on the results reached by the proposed plan</p>
<p><u>OR Maria Pia Hospital del GVM care & research 3 (RI):</u></p>	<p>Design and Implementation of the infrastructure of an outpatient center for regenerative medicine</p>	<p>RI1 Creation of premises for regenerative medicine clinics for the delivery of products already recognized such as the PRP in the fields of reconstructive plastic surgery and aesthetic surgery, ophthalmology, orthopedics, ulcer care, maxillofacial surgery / dental, cardiac surgery, gynecology, trichology, spinal surgery and for the application of the products described by the project and that will be placed on the market. It has been identified physical space ad hoc approximately 700 m2 in via Villa della Regina 19 in Turin, which has been allocated to outpatient regenerative medicine</p> <p>RI2 In setting the surgeries it is necessary to acquire appropriate biomedical equipment for that evaluation and the effectiveness of treatments in regenerative medicine (ultrasound, lipoextractor)</p> <p>SS1 Adequate training project to prepare the staff to manage the path of regenerative medicine</p> <p>SS2 Preparation of clinical trials for the development of new products in regenerative medicine at the headquarters Maria Pia Hospital, involving the following areas: cardiology, cardiac surgery, orthopedics, ophthalmology, neurosurgery, vascular surgery, internal medicine / diabetes.</p>		<p>RI1 months 0-6</p> <p>Projecting verification</p> <p>RI2 months 7-12</p> <p>Acquisition verification</p> <p>SS1 months 13-24</p> <p>Training project verification</p> <p>SS2 months 25-36</p> <p>Clinical trials documentation verification</p>

8.1.3.2 OBIETTIVI REALIZZATIVI DEI GRUPPI CHE ADERISCONO AD IRMI, LA CUI TRASFERIBILITA' SUPERA LA DURATA TRIENNALE DEL PROGETTO

<p><u>OR CMR/CIDSTEM 3</u></p>	<p>Sperimentazioni cliniche di terapia genica basate su colture di cellule staminali epidermiche geneticamente modificate.</p>	<p>SS1. sviluppo di vettori gamma-retrovirali self-inactivated (SIN) di nuova generazione, in cui l'espressione dei cDNA (codon-optimized) di LAMB3, COL17A1 e COL7 è regolata dal promotore tessuto-specifico K14 (3 mesi); SS2. studi preclinici per valutare la correzione genetica e funzionale delle cellule staminali epidermiche (15 mesi); SS3. analisi del pattern di integrazione dei transgeni e sviluppo di innovative analisi di genotossicità cellulare (8 mesi); RI1. definizione protocolli clinici e implementazione di sperimentazioni cliniche di fase I/II di colture di epidermide autologa preparate con cellule staminali epidermiche geneticamente modificate (10 mesi).</p>	<p>36 mesi</p>	<p>SS1. mesi 0-3 Verifica su report dell'attività SS2. mesi 4-18 Report dell'attività preclinica SS3. mesi 19-26 Verifica su report dell'attività RI1. 27-36 Report attività cliniche</p>
<p><u>OR POLITO 3</u></p>	<p>Messa a punto e ottimizzazione dei processi di espansione cellulare mediante bioreattori in condizioni di null gravity.</p>	<p>SS1. Definizione dei requisiti dei processi (2 mesi) SS2. Identificazione dei bioreattori di riferimento per lo sviluppo (4 mesi) SS3. Identificazione dei dispositivi accessori (circuiti fluidodinamici, ossigenazione e rimozione di CO2, ecc.) (4 mesi) SS4. Definizione dei sistemi di sensorizzazione (4 mesi) SS5. Realizzazione dei set up sperimentali di produzione (10 mesi) SS6. Prove su casi pilota (6 mesi) SS7. Analisi dei risultati (2 mesi) RI1. Identificazione di varianti e ottimizzazione (2 mesi) RI2. Armonizzazione con le normative in vigore e/o previste alla data (2 mesi) RI3. Applicazione delle varianti e realizzazione dei set up di produzione (7 mesi) RI4. Prove di produzione e messa a punto dei manuali di uso (6 mesi) Attività di Formazione (3 mesi): AF1. Addestramento del personale e assistenza iniziale alla produzione</p>	<p>36 mesi</p>	<p>SS1 mesi 0-2 Verifica su report dell'attività SS2 mesi 1-5 Verifica su report dell'attività SS3 mesi 1-5 Verifica su report dell'attività SS4 mesi 4-7 Verifica su report dell'attività SS5 mesi 6-15 Prototipo bioreattore SS6 mesi 14-19 Verifica su report dell'attività pilota SS7 mesi 19-20 Verifica report RI1 mesi 21-22 Verifica report RI2 mesi 22-23</p>

				Verifica report RI3 mesi 23-29 Prototipo RI4 mesi 29-34 Verifica documentazione AF1 mesi 34-36
<u>OR POLITO 4</u>	Messa a punto e ottimizzazione dei processi di espansione cellulare/tessutale in bioreattori mediante ambiti funzionalizzanti .	SS1. Definizione dei requisiti dei processi (2 mesi) SS2. Identificazione dei bioreattori di riferimento per lo sviluppo (4 mesi) SS3. Identificazione dei dispositivi accessori (circuiti fluidodinamici, ossigenazione e rimozione di CO2, ecc.) (4 mesi) SS4. Definizione dei sistemi di sensorizzazione e controllo (4 mesi) SS5. Realizzazione dei set up sperimentali di produzione (10 mesi) SS6. Prove su casi pilota (6 mesi) SS7. Analisi dei risultati (2 mesi) RI1. Identificazione di varianti e ottimizzazione (2 mesi) RI2. Armonizzazione con le normative in vigore e/o previste alla data (2 mesi) RI3. Applicazione delle varianti e realizzazione dei set up di produzione (7 mesi) RI4. Prove di produzione e messa a punto dei manuali di uso (6 mesi) Attività di Formazione (3 mesi): PF1. Addestramento del personale e assistenza iniziale alla produzione	36 mesi	SS1 mesi 0-2 Verifica su report dell'attività SS2 mesi 1-5 Verifica su report dell'attività SS3 mesi 1-5 Verifica su report dell'attività SS4 mesi 4-7 Verifica su report dell'attività SS5 mesi 6-15 Prototipo bioreattore SS6 mesi 14-19 Verifica su report dell'attività pilota SS7 mesi 19-20 Verifica report RI1 mesi 21-22 Verifica report RI2 mesi 22-23 Verifica report RI3 mesi 23-29 Prototipo RI4 mesi 29-34 Verifica documentazione PF1 mesi 34-36
<u>OR POLITO 5</u>	Messa a punto e ottimizzazione dell'handling dei costrutti.	SS1. Definizione dei requisiti (2 mesi) SS2. Applicazione di varianti alle camere dei bioreattori da utilizzare (2 mesi) SS3. Studio e messa a punto dei dispositivi accessori (2mesi) RI1. Armonizzazione con le normative in vigore e/o previste alla data (2 mesi) RI2. Applicazione delle varianti e realizzazione dei set up di produzione (4 mesi) RI3. Prove e messa a punto dei manuali di uso (3 mesi)	15 mesi	SS1 mesi 0-2 Verifica su report dell'attività SS2 mesi 3-4 Verifica su report dell'attività SS3 mesi 5-6 Verifica su report dell'attività RI1 mesi 7-8

		PF1. Addestramento del personale e assistenza iniziale alla produzione		Verifica su report dell'attività RI2 mesi 9-12 prototipo RI3 mesi 12-15 Verifica documentazione PF1 mesi 34-36
OR UNITO-MBC Prof. Altruda/Silengo/Camussi	Sperimentazioni precliniche di terapia cellulare basata su colture di cellule staminali spermatogoniali differenziate in epatociti. Differenziazione delle cellule staminali spermatogoniali indotta da microvescicole. Dalla preclinica alla clinica	SS1-sviluppo di modelli murini di danno enzimatico e danno epatico acuto (6 mesi) SS2-trapianto di epatociti differenziati da GPSC in topi epatectomizzati e analisi di colonizzazione (6 mesi) SS3-effetto delle GPSC/MV in un modello di epatectomia 70% (6 mesi) SS4-sviluppo di protocolli terapeutici sperimentali basati sull'utilizzazione dei prodotti biologici delle cellule staminali epatiche quali MV o panel di citochine prodotte da queste cellule in cultura; (6 mesi) SS5-sviluppo di uno strumento per l'acquisizione di immagini 'in vivo che, in abbinamento con un MRI clinico, dovrà permettere lo studio in un piccolo animale della localizzazione dello sviluppo delle cellule trapiantate.(6 mesi) SS6-derivazione di epatociti da GPSC umane (6 mesi)	36 mesi	SS1 mesi 0-6 Verifica su report dell'attività SS2 mesi 7-12 Verifica su report dell'attività SS3 mesi 13-18 Verifica su report dell'attività SS4 mesi 19-24 Verifica su report dell'attività SS5 mesi 25-30 Verifica su report dell'attività SS6 mesi 31-36 Verifica su report dell'attività
OR UNITO-MBC Prof.Tarone/Brancaccio/Hirsch	Differenziazione delle cellule staminali spermatogoniali in cardiomiociti. Produzione di protocolli sperimentali di differenziamento e loro validazione. Analisi e caratterizzazione approfondita delle caratteristiche dei cardiomiociti ottenuti. Sperimentazione preclinica con cellule staminali spermatogoniali differenziate in cardiomiociti in modelli animali di scompenso cardiaco (infarto).	SS1 a)- I cardiomiociti verranno analizzati con anticorpi anti alfa-actinina sarcomerica; b)-Verrà misurata la lunghezza e l'area della sezione trasversale dei cardiomiociti c)-Per ulteriori approfondimenti sul grado di maturazione dei cardiomiociti, verrà effettuata un'analisi della concentrazione dei trascritti di noti marcatori di maturazione (alfa-actinina, alfa e beta miosina, SERCA e titina) tramite real time PCR; d)-Verrà analizzata l'attività contrattile dei cardiomiociti tramite microscopia time lapse. (24 mesi) SS2a-a) Topi C57 black verranno sottoposti ad infarto mediante legatura della coronaria sinistra anteriore discendente, secondo protocolli standard. b) I cardiomiociti differenziati e caratterizzati nei punti SS1 (a-d) verranno inoculati nella zona perinfartuale. (6 mesi) SS2b-Valutazione della funzionalità	36 mesi	SS1 mesi 0-24 Verifica su report dell'attività SS2A mesi 25-30 SS2B mesi 31-36

		cardiaca mediante ecocardiografia a diversi tempi dopo l'infarto. (6 mesi)		
<u>OR UNITO-MBC Prof. Tarella</u>	Organizzazione di un laboratorio che sia il Centro di riferimento in Italia per la valutazione del telomero, come parametro di senescenza cellulare, su campioni di cellule staminali; messa a punto di un bancaggio con aliquote di campioni di cellule staminali, che provengono da: a) campioni di materiale pre-trapianto; b) campioni di materiale ottenuto in varie fasi post-trapianto; c) campioni di soggetti sani, di diversa età	SS1a- Organizzare un laboratorio che sia il Centro di riferimento in Italia per la valutazione del telomero, come parametro di senescenza cellulare, su campioni di cellule staminali (12 mesi) SS1b- Mettere a punto un sistema di crioconservazione di campioni di cellule staminali, suddivisi in aliquote separatee disponibili per eventuali richieste di ulteriori controlli (12 mesi) SS2- Verificare la possibilità di mettere a disposizione una banca con aliquote di campioni di cellule staminali, che provengono da: a) campioni di materiale pre-trapianto; b) campioni di materiale ottenuto in varie fasi post-trapianto; c) campioni di soggetti sani, di diversa età (12 mesi)	36 mesi	SS1A mesi 0-12 Verifica su report dell'attività SS1B mesi 13-24 Prototipo SS2 mesi 25-36 Prototipo
<u>OR MBC Prof. Aime</u>	Messa a punto di nuovi composti e protocolli per il labelling cellulare, sia per internalizzazione che per ancoraggio della sonda per imaging all'esterno della membrana citoplasmatica Messa a punto di metodi per l'inclusione di sonde per imaging cellulare/molecolare, eventualmente responsive a parametri microambientali, in 'scaffold' polimerici per il trapianto di cellule sotto forma di aggregati cellulari tissuto-mimetici.	SS1a. Labeling extracellulare non covalente per formazione di un addotto supramolecolare tra i) la membrana cellulare (carica negativamente) ii) un polimero cationico (per esempio poliarginina), il quale creerà uno strato cationico sulla superficie cellulare e iii) un agente di contrasto dotato di forte carica negativa, anche in forma di nanosistema (liposomi, micelle ecc.). SS1b. Labeling extracellulare tramite sistema auto assemblante basato sull'interazione di legame tra acido ialuronico (HA) e recettore CD44. Liposomi cationici con chelati di Gd(III) verranno coperti con polimeri basati su HA (è disponibile un gran numero di derivati commerciali, inclusi quelli funzionalizzati con fluorescenti). Tale sistema sarà utilizzato per etichettare cellule esprimenti il recettore CD44 (6 mesi). SS2. Verrà eseguita l'ottimizzazione della struttura della sonda di imaging così come verranno ottimizzate le proprietà dei polimeri (struttura, carica netta, capacità di interazione con la superficie cellulare). Sarà stabilito il miglior compromesso tra la percentuale di copertura della superficie cellulare e mantenimento della funzionalità cellulare. Sarà valutata la persistenza della copertura paramagnetica in microambienti simulati ed in modelli in vivo. La distribuzione dell'agente di contrasto in vivo sarà valutata a diversi tempi post-impianto, sia attraverso RMI sia attraverso determinazione analitica del Gd(III) in tessuti espantati.(6 mesi) SS3. Validazione preclinica di	36 mesi	SS1A mesi 0-6 SS1B mesi 0-6 Prototipo SS2 mesi 7-12 Verifica su report dell'attività SS3 mesi 7-12 Verifica su report dell'attività SS4: mesi 13-36 Prototipo

		<p>protocolli RMI, per monitorare nel tempo l'integrazione e l'evoluzione delle cellule trapiantate. (6 mesi).</p> <p>SS4. Funzionalizzazione di 'scaffolds' basati su polimeri biodegradabili con molecole derivate dalla ECM (collagene, gelatine) contenenti siti specifici di idrolisi da parte delle gelatinasi (MMP2/9) e preventivamente bioconiugate ad alata densità con chelati di Gd(III). Questo dovrebbe portare a sistemi "silenti" (bassa rilassività longitudinale nonostante l'elevata densità di agente di contrasto), poiché i complessi paramagnetici inclusi in questi aggregati sono confinati in uno stato simile allo stato solido e lo scambio dell'acqua al centro paramagnetico è limitato. In questa forma, è atteso un basso contrasto in immagini RMI T1-pesate. In seguito ad aumentata attività delle gelatinasi, la matrice proteica adsorbita sullo scaffold sintetico viene idrolizzata e trasformata in frammenti solubili, in cui il centro paramagnetico risulta largamente accessibile all'acqua. In questa forma l'agente di contrasto viene "attivato" e produce iperintensità di segnale nelle immagini RMI. La comparsa di contrasto nel tempo può essere correlata con i livelli di MMP, e in definitiva, con la presenza di processi rigenerativi nella zona dell'impianto. La diminuzione a lungo termine di contrasto sarà indicativa di ulteriore degradazione della matrice proteica impiantata e clearance dei chelati di Gd(III). (24 mesi);</p>		
<u>OR 1 UNIMI</u>	<p>Immissione in commercio di prodotti per terapia cellulare: processamento, stoccaggio e distribuzione di epidermide/derma (cheratinociti e fibroblasti).</p>	<p>RI 1 (mesi 1-24)le cellule iPS saranno preparate utilizzando il metodo di Takahashi partendo da fibroblasti autologhi.</p> <p>RI 2 (mesi 24-36) le iPSCs saranno differenziate in cheratinociti e successivamente trasformate in cute tridimensionale con i marker di differenziazione epiteliale terminale.</p>	36 mesi	<p>RI 1 mesi 0-24</p> <p>Verifica su report dell'attività</p> <p>RI 2 mesi 25-36</p> <p>Prototipo</p>

**8.1.3.2 DEVELOPMENT OBJECTIVES OF GROUPS PARTICIPATING IN IRMI,
WHOSE TRANSFERABILITY 'EXCEEDS THE DURATION OF THE THREE-YEAR
PROJECT**

<p><u>OR CMR/CIDSTEM 3</u></p>	<p>clinical trials of gene therapy using cultures of genetically modified epidermal stem cells</p>	<p>SS1. development of self-inactivated (SIN) gamma-retroviral vectors of new generation, in which the expression of the cDNA (codon-optimized) of LAMB3, COL17A1 and COL7 is regulated by tissue-specific promoter K14 (3 months);</p> <p>SS2. preclinical studies to evaluate the genetic and functional correction of epidermal stem cells (15 months);</p> <p>SS3. analysis of the pattern of transgene integration and development of innovative analysis of cell genotoxicity (8 months);</p> <p>RI1. defining clinical protocols and implementation of phase I / II clinical trials of cultures of autologous epidermis prepared with epidermal stem cells genetically modified (10 months).</p>	<p>36 months</p>	<p>SS1. months 0-3 Activity reports verification</p> <p>SS2. months 4-18 Preclinical reports verification</p> <p>SS3. months 19-26 Activity reports verification</p> <p>RI1. 27-36 Clinical activity report verification</p>
<p><u>OR POLITO 3</u></p>	<p>Setting up and optimization of process by cell expansion bioreactors in terms of gravity null.</p>	<p>SS1. definition of process Requirements (2 months)</p> <p>(SS2. Identification of reference bioreactors for the development of (4 months)</p> <p>SS3. Identification of devices (hydraulic circuits, oxygenation and CO2 removal, etc..) (4 months)</p> <p>SS4. Definition of sensing systems (4 months)</p> <p>SS5. Realization of the experimental production set-up (10 months)</p> <p>SS6. Tests on pilot cases (6 months)</p> <p>SS7. Analysis of the results (2 months)</p> <p>RI1. Identification of variations and optimization (2 months)</p> <p>RI2. Harmonization with the existing regulations or forecasted (2 months)</p> <p>RI3. Application and realization of variants set up production (7 months)</p> <p>RI4. Production testing and tuning of the manuals of use (6 months)</p> <p>AF1. Staff training and initial support to the production</p>	<p>36 months</p>	<p>SS1 months 0-2 Activity reports verification</p> <p>SS2 months 1-5 Activity reports verification</p> <p>SS3 months 1-5 Activity reports verification</p> <p>SS4 months 4-7 Activity reports verification</p> <p>SS5 months 6-15 Bioreactor prototype verification</p> <p>SS6 months 14-19 Pilot cases reports verification</p> <p>SS7 months 19-20 Results report verification</p> <p>RI1 months 21-22 Report verification</p> <p>RI2 months 22-</p>

				<p>23</p> <p>Report verification</p> <p>RI3 months 23-29</p> <p>Prototipo</p> <p>RI4 months 29-34</p> <p>Documentation verification</p> <p>AF1 months 34-36</p>
<u>OR POLITO 4</u>	<p>SET-UP AND OPTIMIZATION of EXPANSION PROCESS OF CELL / TISSUE IN BIOREACTORS BY FUNCTIONAL AREAS.</p>	<p>SS1. definition of process Requirements (2 months)</p> <p>(SS2. Identification of reference bioreactors for the development of (4 months)</p> <p>SS3. Identification of devices (hydraulic circuits, oxygenation and CO2 removal, etc..) (4 months)</p> <p>SS4. Definition of sensing systems (4 months)</p> <p>SS5. Realization of the experimental production set-up (10 months)</p> <p>SS6. Tests on pilot cases (6 months)</p> <p>SS7. Analysis of the results (2 months)</p> <p>RI1. Identification of variations and optimization (2 months)</p> <p>RI2. Harmonization with the existing regulations or forecasted (2 months)</p> <p>RI3. Application and realization of variants set up production (7 months)</p> <p>RI4. Production testing and tuning of the manuals of use (6 months)</p> <p>AF1. Staff training and initial support to the production</p>	36 months	<p>SS1 months 0-2</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS2 months 1-5</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS3 months 1-5</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS4 months 4-7</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS5 months 6-15</p> <p>Bioreactor prototype verification</p> <p>SS6 months 14-19</p> <p>Pilot cases reports verification</p> <p>SS7 months 19-20</p> <p>Results report verification</p> <p>RI1 months 21-22</p> <p>Report verification</p> <p>RI2 months 22-23</p> <p>Report verification</p> <p>RI3 months 23-29</p> <p>Prototipo</p> <p>RI4 months 29-34</p> <p>Documentation verification</p> <p>AF1 months 34-36</p>
<u>OR POLITO 5</u>	<p>Setting up and optimization of constructs</p> <p>Handling</p>	<p>SS1. Requirements definition (2 months)</p> <p>SS2. Application of variants to the rooms of the bioreactors to be used (2</p>	14 months	<p>SS1 months 0-2</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS2 months 3-4</p>

		<p>months)</p> <p>SS3. Study and development of ancillary equipment (2months)</p> <p>RI1. Armonizzazione with existing or forecasted Regulations</p> <p>RI2. Application and realization of variants set up production (4 months)</p> <p>RI3. Testing and development of user manuals (3 months)</p> <p>AF1. Staff training and initial support to the production</p>		<p>Activity reports verification</p> <p>SS3 months 5-6</p> <p>Activity reports verification</p> <p>RI1 months 7-8</p> <p>Activity reports verification</p> <p>RI2 months 9-12</p> <p>prototipo</p> <p>RI3 months 12-15</p> <p>Verifica documentazione</p> <p>PF1 months 34-36</p>
<p>OR UNITO-MBC Proff. Altruda/Silengo/Camussi</p>	<p>Preclinical models for the development of therapies with stem cells for the hepatic regeneration</p>	<p>SS1 Development of murine models concerning the enzymatic injury and acute hepatic one;</p> <p>SS2 Implantation of differentiated hepatocytes respect to GPSC in hepatectomized mice and colonization analysis;</p> <p>SS3 Effect of GPSC/MV in a hepatectomy model 70%;</p> <p>SS4 Development of therapeutic experimental protocols, based on the use of biological products of hepatic stem cells, such as MV or cytochine panel produced by these cells in culture;</p> <p>SS5 Development of an acquisition tool for images in vivo, that, with a clinical MRI, will allow the study on a small animal concerning the localization of the development of the implanted cells.</p> <p>SS6 Derivation of hepatocytes from human GPSC.</p>	36 months	<p>SS1 months 0-6</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS2 months 7-12</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS3 months 13-18</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS4 months 19-24</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS5 months 25-30</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS6 months 31-36</p> <p>Activity reports verification</p>
<p>OR UNITO-MBC Proff. Tarone/Brancaccio/Hirsch</p>	<p>REGENERATION OF THE ATTACKED MYOCARDIUM THROUGH POWERFUL ADULT STEM CELLS.</p> <p>We intend to use spermatoc stem cells to induce the differentiation in cardiomyocytes in vitro. Several differentiation protocols will be tested and validated. The differentiation level will be evaluated in a series of bio-chemical and molecular analysis. Differentiated cells will be injected in the peri-infarct of</p>	<p>SS1 a) Cardiomyocytes will be analyzed with anti sarcomeric alpha-actinin; b) The length and the transversal section area of cardiomyocytes will be measured; c) For other details regarding the level of cardiomyocytes maturation, an analysis on the concentration of the transcription will be done regarding notable markers of maturation (alpha-actinin, alpha and beta myosin, SERCA and titin) through real time PCR; d) The contractile activity of cardiomyocytes will be analyzed through time lapse microscopy;</p> <p>SS2a-a) C57 black mice will be subjected to heart-attack through a</p>	36 months	<p>SS1 months 0-24</p> <p>Activity reports verification</p> <p>SS2A months 25-30</p> <p>SS2B months 31-36</p>

	mice hearts. The heart functionality will be evaluated through high frequency echocardiography.	ligation of the left anterior descending coronary artery according to standard protocols; cardiomyocytes differentiated and characterized the points to be inoculated into the peri-infarct zone SS2b-assessment of cardiac functionality by echocardiography at different times after the stroke		
<u>OR UNITO-MBC Prof. Tarella</u>	We propose the development of protocols for the analysis of the degree of cell aging, evaluated on the basis of telomere length, applicable to stem cells.	Planned activities: - SS1a-Organizing a laboratory that is the center of reference in Italy for the evaluation of the telomere, as - Parameter of cellular senescence on stem cell samples - SS1b-Develop a system for cryopreservation of stem cell samples, divided into separate aliquots - And available for any request for additional controls - SS2-To provide a bank with aliquots of samples of stem cells, which come from: a) Samples of pre-transplant b) Samples of material obtained at various stages post-transplant c) samples from healthy subjects of different ages	36 months	SS1A months 0-12 Activity reports verification SS1B months 13-24 Prototype verification SS2 months 25-36 Prototype verification
<u>OR MBC Prof. Aime</u>	Creation of new compounds and protocols for the cellular labelling, both for internalization and for anchorage of the probe for the external imaging of the cytoplasmic membrane. Development of methods for the inclusion of cellular and molecular imaging probes, possibly responsive to micro-environmental parameters, in polymeric scaffolds for cell transplantation in the form of tissue-mimetic cell aggregates	SS1a. Extracellular non-covalent supramolecular labeling for formation of an adduct between i) the cell membrane (negatively charged) ii) a cation polymer (for example polyarginine), which will create a layer on the cationic cell surface and iii) a contrast agent with strong negative charging, also in the form of nanosystem (liposomes, micelles etc..) (12 months) SS1b. Labeling system via extracellular auto-assembled based on binding interaction between hyaluronic acid (HA) and CD44 receptor. Cationic liposomes with chelated Gd (III) will be covered with polymers based on HA (there is a large number of commercial derivatives, including those with functionalized fluorescent). This system will be used to label cells expressing the CD44 receptors. (12 months). SS2. Optimization of the structure of the imaging probe will be optimized as well as the properties of polymers (structure, net charge, capacity of interaction with the cell surface). This will set the best compromise between the percentage of coverage of the cell surface and maintenance of cell function. This will assess the	36 months	SS1A months 0-6 SS1B months 0-6 Prototype verification SS2 months 7-12 Activity reports verification SS3 months 7-12 Activity reports verification SS4: months 13-36 Prototype verification

		<p>persistence of coverage in paramagnetic micro-simulated and in vivo models. The in vivo distribution will be evaluated at different times after the implantation, both through RMI and through the analytical determination of Gd (III) in explanted tissue. (12 months)</p> <p>SS3. Preclinical validation of RMI protocols to monitor over time the integration and evolution of the transplanted cells (12 months).</p> <p>SS4. Functionalization of scaffolds, based on biodegradable polymers with molecules derived from ECM (collagene, jellies) containing specific sites of hydrolysis by gelatinases (MMP2 / 9) and advance bio-conjugated high density chelates with Gd (III). This should lead to silent systems (low longitudinal relaxivity despite the high density of contrast agent), since the paramagnetic complexes included in these aggregates are confined in a similar-solid state and the exchange of water to the paramagnetic center is limited. In this form, it is expected a low-contrast T1-weighted MRI images. As a result of increased activities all of gelatinizes, the protein matrix absorbed in the synthetic scaffold is hydrolyzed and converted into soluble fragments, in which the paramagnetic center is widely accessible to water. In this form the contrast agent is activated and produces hyper-intensity signal in the images RMI. The appearance of contrast over time can be correlated with the levels of MMP, and ultimately, with the presence of regenerative processes in the area of the plant In the long term, the decrease contrast will be indicative of further degradation of the protein matrix implanted and clearance of the chelates of Gd (III). (24 months).</p>		
<u>OR 1 UNIMI</u>	<p>Production of ipscs fro autologous fibroblasts and of 3Dskin for THE TREATMENT epidermolysis bullosa (DREB).</p>	<p>RI 1 (months 1-24) iPS cells will be prepared using the method of Takahashi starting from autologous fibroblasts.</p> <p>(ii) RI 2 (months 24-36) the iPSCs are differentiated keratinocytes and subsequently transformed into three-dimensional skin with markers of epithelial differentiation terminal.</p>	36 months	<p>RI 1 months 0-24</p> <p>Activity reports verification</p> <p>RI 2 months 25-36</p> <p>Prototype verification</p>

DIAGRAMMA DI GANNT (GANNT CHART)

Vedasi diagramma allegato (please, see the Chart attached)



8.5 PROGETTO REALIZZATO NEL QUADRO DI ACCORDI DI COLLABORAZIONE INTERNAZIONALE IN ESSERE O IN FASE DI AVVIO

L'attuale congiuntura economica mondiale e la portata delle sfide scientifiche e tecnologiche di questo periodo storico indicano nell'internazionalizzazione della ricerca la strada più efficace per la produzione di nuova scienza, per la formazione di una classe scientifica "europea e globale" e per il miglioramento del rapporto tra la ricerca e le sue applicazioni, in particolare industriali, sanitarie e sociali.

In un simile contesto, la creazione di un'infrastruttura di medicina rigenerativa, di livello e priorità pan-europei ed internazionali, rappresenterebbe un elemento di forte innovazione dell'attività scientifico-industriale italiana e renderebbe determinante il contributo dell'Italia alla creazione dello standard terapeutico del futuro.

Pertanto, la collaborazione con infrastrutture, industrie ed enti di ricerca europei ed extra-europei costituirà una delle priorità dell'IRMI, consentendo:

- mirata promozione e commercializzazione all'estero, nel rigoroso rispetto delle normative vigenti in loco, di prodotti per terapie avanzate studiati e sviluppati dai partners dell'IRMI;
- partecipazione dei membri del consorzio, forti di una rete di collaborazioni internazionali tale da renderli maggiormente competitivi, ai più prestigiosi bandi di ricerca europei ed extraeuropei;
- valorizzazione dei punti di forza del sistema di ricerca italiano, tramite la possibilità offerta ai ricercatori di inserirsi nei più alti livelli di collaborazione internazionale;
- investimenti e finanziamenti da parte di soggetti privati internazionali, a fronte del maggiore risalto fornito ai risultati ottenuti tramite diffusione sul web, pubblicazioni e congressi.

L'IRMI si prefigge dunque di essere determinante sia per attivare ex novo una rete di collaborazioni internazionali con altre simili infrastrutture ed associazioni nel campo della medicina rigenerativa, quali ad esempio l'ARM, il CIRM, il cluster REBIRTH e il Kobe Biomedical Innovation Center, sia per consolidare le preesistenti relazioni dei singoli partners con soggetti esteri poiché, infatti, numerosi accordi di collaborazione nazionale ed internazionale sono già in essere con altri cluster europei ed associati, centri di ricerca Statunitensi e Coreani. Ad esempio:

- La Banca del Tessuto della Regione Emilia Romagna ha accordi di collaborazione strategica per la ricerca e sviluppo di nuovi tessuti umani con le più importanti Banche di Tessuto Americane come Lifenet Health, Allosource, Regeneration Technologies e Axogen.
- L'Istituto Ortopedico Rizzoli ha in attivo il progetto Progetto Europeo "Adipose derived stromal cells for osteoarthritis treatment" Project (ADIPOA), finanziato nell'ambito del "Seventh Frame Work European Programme", progetto n. 241719.
- La Banca della Cute di Niguarda ha collaborazioni strategiche con i gruppi di ricerca di Miami coordinati dal Prof. Camillo Ricordi, con cui collabora anche la Lipostem.
- Il CMR/CIDSTEM ha accordi di collaborazione scientifica con il Department of Dermatology della Paracelsus Private Medical University di Salzburg (Austria), con la Medizinische Hochschule Hannover di Hannover (Germania) e con la University of Jordan di Amman (Giordania).
- Il CIRI-SDV ha collaborazioni con l'Ecole Polytechnique Federale de Lausanne, Integrated System Laboratory (Dr. Sandro Carrara) per lo sviluppo di sensori metabolici da impiegare nel monitoraggio biologico, anche in vivo, della risposta del tessuto nervoso all'impianto di cellule.

Sia il Centro di Medicina Rigenerativa di Modena che il LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR di Bologna aderiscono ad IATRIS (Italian Advanced Translational Research Infrastructure), nodo nazionale di EATRIS (European Advanced Translational Research Infrastructure), che ha ufficialmente chiesto alla Commissione Europea il riconoscimento di Infrastruttura Europea per la Ricerca Traslazionale.

Inoltre le altre strutture aderenti hanno rapporti scientifici e di sviluppo consolidati, anche con progetti europei approvati ed in corso, con i maggiori gruppi europei ed americani.

Ad esempio il LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR ha un agreement di collaborazione bilaterale con la Banca non profit americana Lifenet Health per lo sviluppo di nuove metodiche di processazione e nuovi tessuti come quelli contenuti nel presente progetto. Lifenet Health collaborerà con IRMI tramite il LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR per lo sviluppo delle cage intervertebrali e per i tessuti umani decellularizzati, come cute e cartilagine.

Al progetto sono allegati i documenti ufficiali relativi agli accordi di collaborazione del LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR

Il gruppo di Bioingegneria Industriale del Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale del Politecnico di Torino (POLITO) ha collaborazioni consolidate con i seguenti Centri di ricerca ed Università stranieri:

Universitas Gadjah Mada Department of Mechanical and Industrial Engineering, Yogyakarta, Indonesia	Prof. Alva E. Tontowi alvaedytontowi@ugm.ac.id
University of Maribor Faculty of Mechanical Engineering Institute for Engineering Materials and Design Maribor, Slovenia	Dr. Vanja Kokol vanja.kokol@uni-mb.si
Ruhr-University Organic Chemistry I, Bochum, Germany	Prof Chiara Cabrele Chiara.Cabrele@rub.de
Institute of Human Genetics International Centre for Life Newcastle University, Newcastle upon Tyne, UK	Dr Annette Meeson annette.meeson@ncl.ac.uk
University of Minho European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, Guimaraes, Portugal	Prof. Rui L. Reis rgreis@dep.uminho.pt
Centre for Biomaterials & Tissue Engineering School of Clinical Dentistry, Claremont Crescent Sheffield, UK	Prof. P.V. Hatton paul.hatton@sheffield.ac.uk
School of Pharmacy Royal College of Surgeons in Ireland Dublin, Ireland	Prof. Zeibun Ramtoola zramtoola@rcsi.ie
Laboratorio di Diagnostica Molecolare (LDM) Cardiocentro Ticino, Swiss Stem Cell Foundation Lugano, Switzerland	Dr. Gianni Soldati gianni.soldati@ldm.ch
Institute of Cellular Medicine Musculoskeletal Research Group The Medical School, Newcastle, UK	Prof. Mark A Birch mark.birch@newcastle.ac.uk
École polytechnique fédérale de Lausanne EPFL Lausanne, Switzerland	Prof. Matthias Lutolf matthias.lutolf@epfl.ch
Laboratory of Water-Soluble Polymers, Polyelectrolytes and Biopolymers University of Sofia, Sofia, Bulgaria	Prof. George Georgiev Georgs@chem.uni-sofia.bg
Department of Biomedical Science The University of Sheffield Sheffield, UK	Prof. Beppe Battaglia g.battaglia@sheffield.ac.uk
Mechanobiology Laboratory	Prof. Roger D. Kamm

MIT Massachusset Institute of Technology, MA, USA	rdkamm@mit.edu
Institute of fluid mechanics and aerodinamics Bundeswehr, Munich, DE	Prof. Christian J. Kahler christian.kaehler@unibw.de
Department of Chemistry University of Southampton, Southampton, UK	Prof. Jonathan W. Essex J.W.Essex@soton.ac.uk
Center for Integrative Science University of Chicago, USA	Margaret Gardel, Gordon gardel@uchicago.edu
Department of Mechanical Engineering University of Zaragoza, SP	Jose Manuel Garcia Aznar jmgaraz@unizar.es
Laboratory for Biomaterials and Bioengineering Department of Materials Engineering Laval University – Quebec City, CA	Prof. Diego Mantovani Diego.Mantovani@gmn.ulaval.ca
University of Minho European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine Guimaraes, Portugal	Prof. Rui L. Reis rgreis@dep.uminho.pt
Centre for Biomaterials & Tissue Engineering School of Clinical Dentistry, Claremont Crescent Sheffield, UK	Prof. P.V. Hatton paul.hatton@sheffield.ac.uk
School of Pharmacy Royal College of Surgeons in Ireland Dublin, Ireland	Prof. Zeibun Ramtoola zramtoola@rcsi.ie
Laboratorio di Diagnostica Molecolare (LDM) Cardiocentro Ticino, Swiss Stem Cell Foundation Lugano, Switzerland	Dr. Gianni Soldati gianni.soldati@ldm.ch
Institute of Cellular Medicine Musculoskeletal Research Group The Medical School, Newcastle, UK	Prof. Mark A Birch mark.birch@newcastle.ac.uk
École polytechnique fédérale de Lausanne EPFL Lausanne, Switzerland	Prof. Matthias Lutolf matthias.lutolf@epfl.ch
Laboratory of Water-Soluble Polymers Polyelectrolytes and Biopolymers University of Sofia, Sofia, Bulgaria	Prof. George Georgiev Georgs@chem.uni-sofia.bg
Department of Biomedical Science The University of Sheffield Sheffield, UK	Prof. Beppe Battaglia g.battaglia@sheffield.ac.uk
University Hospital Basel Institute for Surgical Research and Hospital Management Basel - Switzerland	Prof. Anna Marsano amarsano@uhbs.ch

Al progetto sono allegate le lettere che confermano tali collaborazioni.

IRMI potrà rappresentare il tassello industriale di IATRIS, che è costituito esclusivamente da strutture pubbliche di ricerca e ,quindi, offre ad EATRIS un importante contributo anche per la partecipazione ai progetti di ricerca europei con coinvolgimento delle PMI.

8.5 PROJECT REALIZED WITHIN A FRAMEWORK OF INTERNATIONAL COOPERATION AGREEMENTS, THAT ARE EITHER OPERATIONAL OR IN THE STARTING UP PHASE.

The actual global economic situation and the scientific and technological challenges of this time make the internationalization of research, the most effective way to develop a new science, to educate a European and global scientific class and to improve the relationship between the research and its industrial, health and social applications.

In a similar context, the creation of a European and international infrastructure dedicated to the regenerative medicine, represents a strong innovation element of the Italian scientific-industrial activity and it makes the contribution of Italy relevant for the creation of the next therapeutic standard.

Therefore, the cooperation with infrastructures, industry and European and Non-European research centers, will constitute one of the priorities of IRMI and it will allow:

- *Promotion and commercialization abroad, in accordance with laws in force, of products and advanced therapies, studied and developed by IRMI partners;*
- *Participation of the consortium members to important European and no-European announcements for research, considering that they are very competitive thanks to their strong international network;*
- *Strengthen the Italian research system, creating opportunities for researchers to be part of the highest levels of the international cooperation;*
- *Investments and financing made by international private realities, thanks to the emphasis given to research results dissemination through internet, publication and congresses.*

Hence, IRMI intends to activate and develop ex novo an international cooperation network with similar infrastructures and associations in the regenerative medicine field, like for example ARM, CIRM, REBIRTH cluster and KOBE Biomedical Innovation Center, both to consolidate the already existent relationships of each partner with foreign realities, also because some cooperation agreements are already in force with other European clusters and associates, American and Korean research centers. For example:

- *The Tissue Bank of Regione Emilia Romagna boasts about cooperation strategic agreements for research and development of new human tissues with the most important American tissue banks, as e.g. Lifenet Health, Allsource, Regeneration Technologies and Axogen.*
- *The orthopedic Institute Rizzoli is part of the European Project “Adipose derived stromal cells for osteoarthritis treatment” (ADIPOA), financed by the “Seventh Framework European Program”, project no. 241719.*
- *The Cutis Bank of Niguarda boasts about strategic collaborations with research groups, based in Miami and coordinated by Prof. Camillo Ricordi, that works also with Lipostem.*
- *CMR/CIDSTEM has scientific cooperation agreements with the Department of Dermatology of Paracelsus Private Medical University in Salzburg (Austria), with the MEDizinische Hochschule Hannover, in Hannover (Germany) and University of Jordan, in Amman (Jordan).*
- *CIRI-SDV has cooperation agreements with the Ecole Polytechnique Federale de Lausanne, Integrated System Laboratory (Dr. Sandro Carrara) for the development of metabolic sensors for the biological monitoring (in vivo included) of the response of the nervous tissue to a cells implant.*

Both the center of Regenerative Medicine of Modena and the Laboratory Prometeo BCTM IOR of Bologna join IATRIS (Italian Advanced Translational Research Infrastructure), national hub of EATRIS (European Advanced Translational Research Infrastructure), that has officially asked to the European Commission the acknowledgment as European Infrastructure for the Translational Research.

Moreover, the other joint partners have consolidated scientific and development relationships, also regarding both approved and ongoing European projects, dealt with the major European and American groups.

For example, the Laboratory Prometeo BCTM IOR has a bilateral cooperation agreement with the Non-profit Bank Lifenet Health, aiming at developing of new processing methods and new tissues like the ones contained in the present project. Lifenet Health cooperates with IRMI, through the Laboratory Prometeo BCTM IOR to develop intervertebral cages and decellularized human tissues, like cutis and cartilage.

Official documents related to the cooperation agreements of the Laboratory Prometeo BCTM IOR are attached to the project.

The Group of Industrial Bioengineering of the Department of Mechanic and Aerospace Engineering of the Polytechnic of Turin (POLITO) has got consolidated collaborations with the following Research centers and Foreign Universities:

Universitas Gadjah Mada Department of Mechanical and Industrial Engineering, Yogyakarta, Indonesia	Prof. Alva E. Tontowi alvaedytontowi@ugm.ac.id
University of Maribor Faculty of Mechanical Engineering Institute for Engineering Materials and Design Maribor, Slovenia	Dr. Vanja Kokol vanja.kokol@uni-mb.si
Ruhr-University Organic Chemistry I, Bochum, Germany	Prof Chiara Cabrele Chiara.Cabrele@rub.de
Institute of Human Genetics International Centre for Life Newcastle University, Newcastle upon Tyne, UK	Dr Annette Meeson annette.meeson@ncl.ac.uk
University of Minho European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine, Guimaraes, Portugal	Prof. Rui L. Reis rgreis@dep.uminho.pt
Centre for Biomaterials & Tissue Engineering School of Clinical Dentistry, Claremont Crescent Sheffield, UK	Prof. P.V. Hatton paul.hatton@sheffield.ac.uk
School of Pharmacy Royal College of Surgeons in Ireland Dublin, Ireland	Prof. Zeibun Ramtoola zramtoola@rcsi.ie
Laboratorio di Diagnostica Molecolare (LDM) Cardiocentro Ticino, Swiss Stem Cell Foundation Lugano, Switzerland	Dr. Gianni Soldati gianni.soldati@ldm.ch
Institute of Cellular Medicine Musculoskeletal Research Group The Medical School, Newcastle, UK	Prof. Mark A Birch mark.birch@newcastle.ac.uk

École polytechnique fédérale de Lausanne EPFL Lausanne, Switzerland	Prof. Matthias Lutolf matthias.lutolf@epfl.ch
Laboratory of Water-Soluble Polymers, Polyelectrolytes and Biopolymers University of Sofia, Sofia, Bulgaria	Prof. George Georgiev Georgs@chem.uni-sofia.bg
Department of Biomedical Science The University of Sheffield Sheffield, UK	Prof. Beppe Battaglia g.battaglia@sheffield.ac.uk
Mechanobiology Laboratory MIT Massachusset Institute of Technology, MA, USA	Prof. Roger D. Kamm rdkamm@mit.edu
Institute of fluid mechanics and aerodinamics Bundeswehr, Munich, DE	Prof. Christian J. Kahler christian.kaehler@unibw.de
Department of Chemistry University of Southampton, Southampton, UK	Prof. Jonathan W. Essex J.W.Essex@soton.ac.uk
Center for Integrative Science University of Chicago, USA	Margaret Gardel, Gordon gardel@uchicago.edu
Department of Mechanical Engineering University of Zaragoza, SP	Jose Manuel Garcia Aznar jmgaraz@unizar.es
Laboratory for Biomaterials and Bioengineering Department of Materials Engineering Laval University – Quebec City, CA	Prof. Diego Mantovani Diego.Mantovani@gmn.ulaval.ca
University of Minho European Institute of Excellence on Tissue Engineering and Regenerative Medicine Guimaraes, Portugal	Prof. Rui L. Reis rgreis@dep.uminho.pt
Centre for Biomaterials & Tissue Engineering School of Clinical Dentistry, Claremont Crescent Sheffield, UK	Prof. P.V. Hatton paul.hatton@sheffield.ac.uk
School of Pharmacy Royal College of Surgeons in Ireland Dublin, Ireland	Prof. Zeibun Ramtoola zramtoola@rcsi.ie
Laboratorio di Diagnostica Molecolare (LDM) Cardiocentro Ticino, Swiss Stem Cell Foundation Lugano, Switzerland	Dr. Gianni Soldati gianni.soldati@ldm.ch
Institute of Cellular Medicine Musculoskeletal Research Group The Medical School, Newcastle, UK	Prof. Mark A Birch mark.birch@newcastle.ac.uk
École polytechnique fédérale de Lausanne EPFL Lausanne, Switzerland	Prof. Matthias Lutolf matthias.lutolf@epfl.ch
Laboratory of Water-Soluble Polymers Polyelectrolytes and Biopolymers University of Sofia, Sofia, Bulgaria	Prof. George Georgiev Georgs@chem.uni-sofia.bg
Department of Biomedical Science	Prof. Beppe Battaglia

The University of Sheffield Sheffield, UK	g.battaglia@sheffield.ac.uk
University Hospital Basel Institute for Surgical Research and Hospital Management Basel - Switzerland	Prof. Anna Marsano amarsano@uhbs.ch

The project includes letters that confirm such collaborations.

IRMI could represent the industrial piece of IATRIS, which consists exclusively of public research facilities and, therefore, provides an important contribution to EATRIS for participation in European research projects with SME involvement.

- **Partecipanti al progetto/programma internazionale**

Elencare i partecipanti all'intero progetto/programma internazionale, indicandone la nazionalità e descrivere sinteticamente i compiti di ciascun partner all'interno del progetto/programma internazionale

In tutta Europa, vi è una crescente incidenza di cancro, malattie cardiovascolari e di altro tipo, come l'Alzheimer a causa dell'allungamento della speranza di vita e cambiamenti nello stile di vita. Allo stesso tempo la pressione sui bilanci sanitari e servizi medici è aumentato significativamente. Pertanto, è essenziale sviluppare innovativi e convenienti tecnologie, prodotti e opzioni di trattamento per i pazienti. Al fine di generare queste nuove soluzioni, i risultati della ricerca di base devono essere "tradotti" in applicazioni cliniche. Ma ancora le scoperte della ricerca biomedica rimangono troppo spesso nei laboratori e sulle riviste scientifiche invece di generare conseguentemente nuove terapie innovative e strumenti diagnostici.

È in questo contesto che i governi europei e dei centri leader in ricerca biomedica traslazionale si sono riuniti per creare EATRIS come infrastruttura per supportare gli scienziati biomedici a "tradurre" i loro risultati in ricerca ed aumentare il numero di nuovi prodotti innovativi medicinali. Dare un paneuropeo accesso all'esperienza traslazionale ed alle importanti infrastrutture non solo può portare ad una migliore assistenza sanitaria, ma anche creare ponti tra i paesi a diversa capacità traslazionale e rendere l'Europa più competitiva.

Impostazione dell'infrastruttura EATRIS che si rivolge ad una vasta gamma di malattie e un ampio spettro di trattamenti richiede l'azione concertata dei paesi. Con l'attività congiunta dei suoi partner, EATRIS creerà un ambiente di ricerca altamente produttivo in tutta Europa, utilizzando le sinergie europee a creare state-of-the-art in combinazione con competenze traslazionali e aprirli alla comunità di ricerca. Tale concertazione sarà un importante contributo per rafforzare lo slancio per l'innovazione e riportare gli investimenti nel settore LifeScience in Europa.

Attualmente sono otto paesi europei partner del consorzio EATRIS: Repubblica Ceca, Danimarca, Finlandia, Germania, Italia, Norvegia, Paesi Bassi e Spagna.

Ogni paese è rappresentato politicamente e scientificamente. Il "Partner governativo" rappresenta l'organismo nazionale di finanziamenti per la ricerca, mentre il "Partner scientifico" rappresenta la comunità nazionale di ricerca biomedica traslazionale

EATRIS ha costruito il suo consorzio intorno a cinque settori chiave della tecnologia (denominata Gruppi di prodotto)

- 1) Vaccini
- 2) Imaging e traccianti
- 3) Biomarcatori
- 4) Medicinali per terapie avanzate (ATMP) e Biologics

5) Molecole piccole.

Ogni gruppo di prodotti è composta da diversi centri con la necessaria competenza e possesso di infrastrutture e servizi. Questi gruppi di prodotti sono stati selezionati sulla base di discussioni con potenziali utenti di infrastrutture di ricerca traslazionale (mondo accademico, PMI e grandi biotech / farmaceutico aziende), che hanno indicato che esiste una domanda sufficiente, e sufficiente esperienza (anche se frammentata e non facilmente accessibile). Inoltre, la produzione di queste zone di attività può contribuire in modo significativo alle esigenze del settore sanitario e della società.

Nell'ambito di Eatris, l'obiettivo generale della IATRIS è l'erogazione di servizi per la medicina traslazionale nell'ambito dei PMTA (Prodotti Medicinali per Terapie Avanzate), delle "Small Molecules", dei "Tracers per imaging" e dei "Biomarkers".

Tale obiettivo sarà raggiunto attraverso:

- lo sviluppo di modelli innovativi di valutazione in campo regolatorio, comprese la definizione dei dati e dei marcatori chiave per assicurare la sicurezza delle terapie avanzate e le modalità di progressione verso la sperimentazione clinica;
- azioni di informazione, formazione, ricerca finalizzata e servizi dedicati a recepire le esigenze degli utenti con progettualità di sviluppo di PMTA, come pure di "Small Molecules" e prodotti e metodi per imaging;
- il training avanzato di personale negli ambiti sopradescritti;
- il supporto logistico, e l'assistenza ai centri operanti in GCP (Good Clinical Practice) e GMP (Good Manufacturing Practice) nell'ambito delle terapie molecolari e le biotecnologiche avanzate;
- accesso a strutture GLP (Good Laboratory Practice), GMP e GCP dedicate alla medicina traslazionale per lo sviluppo di PMTA, "Small molecules" e prodotti per "imaging", prevalentemente nelle aree di patologia del cancro e delle malattie neurologiche.

Il LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR ed il CMR di Modena partecipano ad IATRIS quali strutture di produzione di PMTA rispettivamente per la rigenerazione di tessuto osseo e cartilagineo e per tessuto corneale ed epiteliale.

Across Europe, there is a growing incidence of cancer, cardiovascular diseases and other, such as Alzheimer due to the lengthening of life expectancy and changes in lifestyle. At the same time the pressure on Health and medical services budgets has increased significantly. Therefore, it seems to be essential to develop innovative and cost-effective technologies, products and treatment options for patients. In order to generate these new solutions, the results of basic research must be "translated" into clinical applications. But, the discoveries of biomedical research still remain too often into laboratories and scientific magazines instead of throwing consequently new innovative therapies and diagnostic tools.

In this context the European Governments and leading centers in biomedical translational research came together to create EATRIS as infrastructure aimed to support biomedical scientists to "translate" their results and increase the number of new innovative medical products. Give a pan-European access to the translational experience and infrastructure, not only can lead to better health care, but also create bridges between different countries and translational capacities, making Europe more competitive.

Setting of EATRIS' infrastructure that caters to a wide range of diseases and a wide spectrum of treatments requires joint efforts of different countries. With joint activities of its partners, EATRIS will create a highly productive research environment across Europe, using European synergies to create state-of-the-art in combination with translational competences and to open that information to the research community. This cooperation will be an important contribution to strengthening the momentum for innovation and to bring investment in the European Life Science sector.

There are currently eight European countries partner of the Consortium EATRIS: Czech Republic, Denmark, Finland, Germany, Italy, Norway, Netherlands and Spain.

Each country is represented politically and scientifically. The "governmental Partner" represents the national Agency for research funding, while the "scientific Partner" represents the national community of translational biomedical research.

EATRIS has built its consortium around five key areas of technology (named "Product groups")

- 1) Vaccines
- 2) Imaging and tracers
- 3) Biomarkers
- 4) Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP) and Biologics
- 5) Small molecules

Each product group is composed of several centers with the necessary competence and ownership of infrastructure and services. These product groups were selected on the basis of discussions with potential users of translational research infrastructures (academia, SMEs and large biotech/pharmaceutical companies), which showed a sufficient demand and sufficient experience (although fragmented and not easily accessible). In addition, the production of these areas of activity may contribute significantly to the needs of the healthcare industry and society.

Under EATRIS, the overall goal of IATRIS is the provision of services for translational medicine in the area of ATMP (Advanced Therapy Medicinal Products), "Small Molecules", "Tracers for imaging" and "Biomarkers".

This objective will be achieved through:

- *the development of innovative models for assessing in the regulatory field, including the data definition and key markers to ensure safety of advanced therapies and modalities for progression to clinical trials;*
- *information campaigns, training, finalized research and services dedicated to understanding the users' needs with ATMP development planning, as well as "Small Molecules" and products and methods for imaging;*
- *advanced training of staff in the fields above;*
- *logistical support and assistance to the centers operating in GCP (Good Clinical Practice) and GMP (Good Manufacturing Practice) in the molecular therapies and advanced biotechnology;*
- *access to facilities GLP (Good Laboratory Practice), GMP and GCP devoted to translational medicine for developing ATMP, "Small molecules" and "imaging products", mainly in areas of pathology of cancer and neurological diseases.*

The PROMETEO LABORATORY BCTM IOR and the CNR of Modena take part to IATRIS such ATMP production structures, respectively for the regeneration of bone and cartilage tissue and epithelial and corneal tissue.

- **Tempistica**

A marzo 2011 la IATRIS ha avviato una prima fase sperimentale di apertura dell'infrastruttura agli utenti nazionali mediante un bando per **Progetti Pilota** di Ricerca Traslazionale. Il coordinamento ha ricevuto 15 proposte per la valutazione e, con il supporto di esperti delle istituzioni partner della IATRIS stessa (Task Force di competenza), ne ha selezionate 11 sulla base sia dell'interesse biomedico e sanitario, sia della reale possibilità di supportarne il passaggio alla sperimentazione clinica, attraverso le risorse esistenti nella IATRIS.

I progetti sono stati oggetto di numerose teleconferenze e incontri dedicati a valutare le criticità per la loro trasferibilità alla sperimentazione clinica, cercando di individuare le modalità di garantire, a seconda della specificità del progetto, supporto diretto o indiretto. Inoltre, tali progetti sono stati presentati al workshop **"Promuovere la Medicina Traslazionale attraverso le Infrastrutture dedicate alla Salute e alla Ricerca"**, svolto all'ISS lo scorso 14 febbraio.

Si prospetta, auspicando il supporto di stakeholder pubblici e privati, il lancio di una nuova call per progetti pilota IATRIS entro il 2012 ed un collegamento di tali iniziative nazionali a quelle che saranno attivate dall'infrastruttura di ricerca europea EATRIS.

IRMI si propone di partecipare come tassello industriale alle attività di IATRIS all'interno di EATRIS al fine di potenziare il rapporto collaborativo pubblico-privato ed accelerare la traslazione clinica dei prodotti innovativi per le terapie rigenerative.

Il programma internazionale è in via di costituzione e, quindi, IRMI parteciperà a tutte le fasi realizzative del progetto.

*In March 2011 IATRIS launched a first experimental phase of opening national infrastructure users by means of a call for **Pilot Projects** of translational research. The coordination has received 15 proposals for assessment and, with the support of experts from partner institutions of the IATRIS (Task Force of competence), has selected 11 proposals based on both biomedical and healthcare interest, both the real chance to support the transition to clinical trials, through existing resources in IATRIS.*

*The projects were the subject of numerous teleconferences and meetings devoted to evaluating the criticalities of their transferability to clinical trials, trying to find ways to guarantee their support either directly or indirectly, depending on the specificities of the project. In addition, these projects were presented at the workshop "**Promuovere la Medicina Traslazionale attraverso le Infrastrutture dedicate alla Salute e alla Ricerca**" (Promotion of Translational Medicine through the Infrastructures dedicated to Health and Research), played at the ISS, on last February 14th.*

Hoping a support from private and public stakeholders, it will be launched a new call for IATRIS Pilot Projects by 2012 and a connection of such national initiatives to the initiatives that will be activated by the European research infrastructure EATRIS.

IRMI aims to participate as industrial plug to the IATRIS activities within EATRIS, in order to strengthen a public-private collaborative relationships and accelerate clinical translation of innovative products for regenerative therapies.

The international programme is being established and, therefore, IRMI will participate in all of the stages of the project.

9) SCHEDE DEI COSTI AMMISSIBILI

BUDGET						
Partner	regione	RI	SS	RI+SS	Formazione	TOTALE
ATGRADE	Lombardia	€ 200.000,00	€ 700.000,00	€ 900.000,00	€ 150.000,00	€ 1.050.000,00
ATI		€ 5.148.000,00	€ 817.000,00	€ 5.965.000,00	€ 627.743,00	€ 6.592.743,00
ABMEDICA	Lombardia	€ 490.000,00	€ 220.000,00	€ 710.000,00	€ 88.495,00	€ 798.495,00
AB Tremila	Lazio	€ 140.000,00	€ 40.000,00	€ 180.000,00	€ -	€ 180.000,00
Genomnia	Lombardia, Campania	€ 600.000,00	€ 200.000,00	€ 800.000,00	€ 44.248,00	€ 844.248,00
IGEA	Emilia Romagna	€ 218.000,00	€ 52.000,00	€ 270.000,00	€ -	€ 270.000,00
Manatee Srl	Lombardia	€ 20.000,00	€ 60.000,00	€ 80.000,00	€ 20.000,00	€ 100.000,00
Chiesi Farmaceutici	Emilia Romagna	€ 330.000,00	€ 45.000,00	€ 375.000,00	€ 25.000,00	€ 400.000,00
ISMETT	Sicilia	€ 350.000,00	€ 200.000,00	€ 550.000,00	€ 50.000,00	€ 600.000,00
Villa Maria Hospital (GVM)	Piemonte	€ 3.000.000,00	€ -	€ 3.000.000,00	€ 400.000,00	€ 3.400.000,00
IOR	EMILIA ROMAGNA	€ 189.000,00	€ 419.000,00	€ 608.000,00	€ 22.000,00	€ 630.000,00
Università Milano	LOMBARDIA	€ 200.000,00	€ 80.000,00	€ 280.000,00	€ 20.000,00	€ 300.000,00
Università Bologna	EMILIA ROMAGNA	€ 145.000,00	€ 177.000,00	€ 322.000,00	€ 84.000,00	€ 406.000,00
Università Modena	EMILIA ROMAGNA	€ 187.000,00	€ 125.000,00	€ 312.000,00	€ 84.000,00	€ 396.000,00
Politecnico Torino	PIEMONTE	€ 148.000,00	€ 236.000,00	€ 384.000,00	€ 67.000,00	€ 451.000,00
CNR Roma	LAZIO	€ 436.250,00	€ 63.750,00	€ 500.000,00	€ -	€ 500.000,00
		€ 6.653.250,00	€ 2.617.750,00	€ 9.271.000,00	€ 1.054.743,00	€ 10.325.743,00

10) ARTICOLAZIONE DEI COSTI PER LE ATTIVITA' PREVISTE

Indicare per ciascun obiettivo realizzativo l'articolazione dei costi.

Di seguito sono indicati i costi indicativi degli OR di cui a pagg.

OR	Attività Activities	Costi previsti (€) (Estimated costs)
OR At Grade 1	SS1	116.667
	SS2	233.393
	RI1	45.450
	RI2	18.180
	RI3	27.270
OR At Grade 2	SS1	116.667
	SS2	233.393
	RI1	45.450
	RI2	18.180
	RI3	27.270
OR Laboratorio Prometeo BTCM 1	SS1	46.344
	SS2	92.688
	RI1	20.306
	RI2	20.306
	IC	-
OR Laboratorio Prometeo BTCM 2	SS1	46.344
	SS2	23.172
	SS3	23.172
	SS4	92.688
	RI1	20.306
	IC	-
OR Laboratorio Prometeo BTCM / Ospedale Niguarda	SS1	23.172
	SS2	69.516
	RI1	60.918
	SSR	30.896
	RI2	20.306
	RI3	121.836
	IC	-
OR CMR/CIDSTEM 1	RI1	25.172
	RI2	64.728
	RI3	10.788
	IC	-
OR CMR/CIDSTEM 2	SS1	125.000
	RI1	21.576
	RI2	43.152
	RI3	21.576
OR CIRI-SDV, Università di Bologna 1	RI1	40.312,50
	RI2	80.625
OR CIRI-SDV, Università di Bologna 2	SS1	35.400

	SS2	35.400
	SS3	53.100
	RI1	53.750
OR CIRI-SDV, Università di Bologna e PROMETEO BCTM	SS1	53.100
	RI1	40.312,50
OR GENOMNIA-CNR 1	RI 1.1	24.858
	RI 1.2	99.432
	RI 1.3	99.432
	SS 1.4	263.750
OR CNR	RI 2.1	72.708
	RI 2.2	72.708
	SS 2.3	58.848
	RI 2.4	72.708
	RI 2.5	72.708
	RI 2.6	145.416
	SS 2.7	31.876
OR GENOMNIA-CNR 2	RI 3.1	78.717
	RI 3.2	24.858
	RI 3.3	53.859
	RI 3.4	49.716
	RI 3.5	20.715
	RI 3.6	87.003
	RI 3.7	66.288
	RI 3.8	116.004
	RI 3.9	116.004
	RI 3.10	87.003
OR AB MEDICA e AB TREMILA	RI 4.1	61000
	RI 4.2	183000
	RI 4.3	122000
	SS 4.4	62400
	RI 4.5	61000
	SS 4.6	98800
	SS 4.7	67600
	SS 4.8	
	RI 4.9	122000
	RI 4.10	183000
	SS 4.11	31200
OR POLITO 1	SS1	29500.02
	SS2	44250.03
	SS3	44250.03
	RI1	37000.02
	RI2	37000.02
OR POLITO 2	SS1	19666.68
	SS2	29500.02
	SS3	39333.36

	SS4	29500.02
	RI1	37000.02
	RI2	37000.02
OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 1	RI1	214285,8
	RI2	214285,8
	SS3	107142,9
	SS4	107142,9
	SS5	107142,9
	SS6	107142,9
OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 2	PF1	200.000
	PF2	200.000
OR Villa Maria Pia Hospital (GVM) 3	RI1	214285,8
	RI2	214285,8
	SS1	428571,6
	SS2	1285714,8
OR CMR/CIDSTEM 3	SS1	125000
	RI1	29526.3
	RI2	59052.6
	RI3	49210.5
	RI1.	49210.5
OR POLITO 3	SS1	6555.56
	SS2	16388.9
	SS3	16388.9
	SS4	13111.12
	SS5	32777.8
	SS6	19666.68
	SS7	6555.56
	RI1	6883.72
	RI2	6883.72
	RI3	24093.02
	RI4	20651.16
	PF1	22333.33
OR POLITO 4	SS1	6555.56
	SS2	13111.12
	SS3	13111.12
	SS4	13111.12
	SS5	32777.8
	SS6	19666.68
	SS7	6555.56
	RI1	6883.72
	RI2	6883.72
	RI3	24093.02
	RI4	20651.16
	PF1	22333.33
OR POLITO 5	SS1	6555.56

	SS2	6555.56
	SS3	6555.56
	RI1	6883.72
	RI2	13767.44
	RI3	10325.58
	PF1	22333.33
OR UNITO-MBC Proff. Altruda/Silengo/Camussi	SS1	125000
	SS2	125000
	SS3	125000
	SS4	125000
	SS5	125000
	SS6	125000
OR UNITO-MBC Proff.Tarone/Brancaccio/Hirsch	SS1	479166,59
	SS2A	145.833,31
	SS2B	125.000
OR UNITO-MBC Prof. Tarella	SS1A	125.000
	SS1B	125.000
	SS2	250.000
OR MBC Prof. Aime	SS1A	125.000
	SS1B	125.000
	SS2	125.000
	SS3	125.000
	SS4	499.999
OR 1 UNIMI	RI1	194.594.64
	RI2	105.405.43

11) VERIFICA DELL'ESITO DEL PROGETTO DI RICERCA

11.1 Verifica intermedia

Come mostrato al capitolo 8.2, nella Tabella al Capitolo 8.4.1 e nel GANTT, gli obiettivi realizzativi sono stati suddivisi in attività di di Ricerca Industriale (RI) o di Sviluppo Sperimentale (SS). La Tabella indica anche per ogni O.R. quale tipo di verifica sarà utilizzata.

Le possibilità di verifica e validazione sono:

- 1) Verifica dei prototipi,
- 2) Verifica e validazione delle prestazioni, attraverso la valutazione dei report prodotti,
- 3) Verifica degli step di attuazione dell'OR e della trasferibilità della tecnologia ad altri gruppi.

Il metodo previsto è il seguente:

Al termine di ogni attività prevista, il partner associato che ha curato il proprio progetto è tenuto a redigere una relazione ed inviarla all'Ufficio Relazioni Interne. L'Ufficio Relazione Interne ha il compito di raccogliere ed organizzare i report dei soggetti associati e trasmetterli al Comitato Scientifico.

Il Comitato Scientifico studia suddette relazioni ed informa gli organi amministrativi (Assemblea dei Soci, Presidente, Consiglio di Amministrazione e Direttore). Gli organi amministrativi valutano i progetti e deliberano in merito.

Tutti i report e le delibere saranno riportati sul sito internet, in una area privata aa cui potranno accedere solo i soci della infrastruttura.

As shown in Chapter 8.2, in the table at chapter 8.4.1 and in the GANTT chart, realization goals were divided into "Research activities" and "Development activities". Such Table also indicates for each O.R. what type of verification method will be employed.

The verification and validation possibilities are:

- 1) *Verification of the prototypes,*
- 2) *Verification and validation of performance by evaluating the reports produced;*
- 3) *Checking of the steps for the implementation of the OR and the transferability of the technology to other groups.*

At the end of each activity, the associated partner who worked on his project is required to prepare a report and send it to the Internal Relationships Office. The Internal Relationships Office has the task to collect and organize the reports of partners and send them to the Scientific Committee.

At the end of each task, both for Industrial Research (RI) or Experimental Development (SS) topics, the partner who oversaw that project is required to draw up a report and send it to the Internal Relations Office. The Internal Relations Office has the task of collecting and organizing each topic's report and transmit it to the Scientific Committee.

The Scientific Committee investigates these reports and inform administrative bodies (General Assembly, President, Board of Directors and Director). Administrative organs shall evaluate the projects and deliberate.

All reports and decisions will be listed on IRMI website, in a private area where they can access only the associates of the infrastructure.

11.2 Verifica finale

Alla fine del progetto, tutti i partners sono tenuti a preparare una relazione finale riguardante le attività svolte durante il corso dei primi 3 anni del progetto.

La verifica verrà attuata utilizzando i seguenti criteri:

- 1) Realizzazione degli obiettivi dell'OR,
- 2) Trasferibilità industriale dei risultati dell'OR,
- 3) Analisi dei vantaggi competitivi derivanti dai risultati dell'OR,
- 4) Analisi della ricaduta socioeconomica dei risultati dell'OR,
- 5) Analisi della ripetibilità delle prestazioni ottenute dall'OR.

L'Ufficio Relazione Interne ha il compito di raccogliere ed organizzare i report dei soggetti associati e trasmetterli al Comitato Scientifico.

Il Comitato Scientifico studia suddette relazioni ed informa gli organi amministrativi (Assemblea dei Soci, Presidente, Consiglio di Amministrazione e Direttore). Gli organi amministrativi valutano i progetti e deliberano in merito.

Tutti le relazioni finali e le delibere saranno riportate sul sito internet, in una area privata a cui potranno accedere solo i soci della infrastruttura. Gli obiettivi raggiunti, invece, saranno resi pubblici sul sito internet e divulgati secondo i canali informativi previsti dalla Assemblea dei Soci.

At the end of the project, all partners are required to prepare a final report on the activities carried out during the first three years of the project.

The verification will be carried out employing the following evaluation criteria:

- 1) Achieving of the OR objectives;*
- 2) Industrial Transferability of the OR results;*
- 3) Analysis of the competitive advantages arising from the OR results;*
- 4) Analysis of the socio-economic impact of the OR results;*
- 5) Repeatability analysis of the performance obtained by the OR.*

The Internal Relationships Office has the task to collect and organize the reports of partners and send them to the Scientific Committee.

The Scientific Committee investigates these reports and inform administrative bodies (General Assembly, President, Board of Directors and Director). Administrative organs shall evaluate the projects and deliberate.

All the final reports and decisions will be listed on IRMI website, in a private area where they can access only the associates of the infrastructure. Instead the goals achieved will be made public on the website and disclosed in accordance with the information channels provided by the General Assembly.

SECONDA PARTE

1) ELEMENTI PER LA VALUTAZIONE DELL'EFFETTO INCENTIVANTE DELL'INTERVENTO PUBBLICO

Essendo l'A.T.I. costituita allo scopo di sinergizzare le attività delle imprese aderenti, indirizzandone sforzi e pianificandone attività di sviluppo congiunte, in maniera da costituire parte industriale di reale supporto ai centri di ricerca, essa non si costituisce come vero e proprio centro di imputazione di costi, lasciando quindi l'autonomia alle singole imprese della gestione della R&S. In tal modo, nessun soggetto partecipante all'ATI non richiede un intervento pubblico pari o maggiore a 7,5 milioni di Euro.

Since the A. T.I. is created to synergize the activities of its members, by directing efforts and activities and planning joint development, to form an industrial part that support the research centers, it does not constitute a center of ascribing costs, leaving the autonomy of the individual companies in the management of R&D. In this way, any company participating in the A.T.I. does not require public assistance equal to or greater than 7.5 million.

2) CARATTERISTICHE INNOVATIVE E TECNICO-SCIENTIFICHE

CONTRIBUTO DEL PROGETTO

Come detto, IRMI intende creare una rete di collaborazioni attive tra i membri dell'infrastruttura, avviando un processo di specializzazione tutta Italiana nel settore della Medicina Rigenerativa, con il fine ultimo di:

- 10) potenziare le infrastrutture di bio-banking, di manipolazione cellulare e di supporto alle attività di ricerca e sviluppo industriale dei prodotti per terapia avanzata, comprensiva della ricerca clinica traslazionale;
- 11) offrire nuove opportunità di *bancaggio* autologo di cellule e tessuti, con l'esclusione del sangue cordonale;
- 12) attivare e realizzare un piano triennale di formazione per nuove figure professionali nelle diverse articolazioni della medicina rigenerativa,
- 13) immettere sul mercato, :
 - almeno quattro tra tessuti umani de-cellularizzati, paste osteoinduttive termoplastiche e malleabili, tessuti ossei a taglio e dimensionamento automatizzato, membrane biologiche elettrofilate, biomatrici e polimeri biocompatibili;
 - un nuovo prodotto a manipolazione non rilevante, basato su scaffold innovativi, che sfruttino le caratteristiche e potenzialità innovative e distintive del Degrapol®, al fine dell'ottenimento di tessuti autologici capaci di favorire la ricrescita, la migrazione e la rigenerazione cellulare
 - un nuovo prodotto a manipolazione non rilevante, basato su cellule staminali mesenchimali da frazione vascolare stromale del tessuto adiposo (Lipostem) per uso clinico;
 - almeno un prodotto a manipolazione rilevante basato su colture di cellule staminali epiteliali;
 - almeno un farmaco cellulare orfano per la terapia della sclerodermia;
- 14) portare in fase II di sperimentazione clinica almeno due prodotti cellulari a manipolazione rilevante, basati sulla tecnologia Lipostem come fonte cellulare;

- 15) portare in fase II di sperimentazione clinica almeno due prodotti cellulari a manipolazione rilevante, basato su colture di cellule staminali epiteliali;
- 16) portare in fase II di sperimentazione clinica almeno 2 prodotti di terapia avanzata per la rigenerazione delle lesioni cutanee.

CONTRIBUTION OF THE PROJECT

As described before, IRMI is willing to create a network of active collaboration among the members of the consortium, launching a process of specialization “all Italian” in the field of Regenerative Medicine, with the ultimate aim of:

- 10) improving the infrastructure for: biobanking, cell manipulation and support to research activities and industrial development of products for advanced therapy, including translational clinical research;*
- 11) offering new opportunities for autologous “Banking” of cells and tissues, with the exception of cord blood;*
- 12) to activate and implement a three-year training plan for new professionals figures in the various articulations of regenerative medicine,*
- 13) to place on the market, at the end of the process of research and development:*
 - At least four between: decellularized human tissues, osteo-inductive malleable thermoplastic pastes, bone tissue with automated cut and sizing, electro-spun biological membranes, biomatrixs and biocompatible polymers;*
 - A new product with not relevant manipulation, based on mesenchymal stem cells from the stromal vascular fraction of dipose tissue (Lipostem) for clinical use;*
 - At least one product with relevant manipulation based on cultures of epithelial stem cell;*
 - At least one cellular orphan drug for the treatment of scleroderma;*
- 14) to bring in phase II of clinical trial at least two cellular products with relevant manipulation, based on Lipostem technology as cellular source.*
- 15) to bring in phase II clinical trial at least two cellular products with relevant manipulation, based on cultures of epithelial stem cells;*
- 16) to bring in phase II clinical trial at least two products of advanced therapy for regeneration of cutaneous lesions.*

INTEGRAZIONE DELLE COMPETENZE e degli OBIETTIVI SCIENTIFICI

Grazie all'elevato numero di gruppi che hanno aderito ad IRMI, alla competenza acquisita che assicurerà ad IRMI visibilità ed appetibilità per nuovi investitori e alla partecipazione mirata a bandi di ricerca nazionali ed internazionali, soprattutto ai finanziamenti di Horizon 2020, forte della massa critica che raccoglierà le massime competenze italiane in materia, alla fine dei primi 5 anni di attività, si prevede che l'IRMI sarà in grado di autofinanziarsi, non gravando sullo Stato ed altresì creando nuove figure professionali, nuovi posti di lavoro e promuovendo borse di studio e corsi di formazione.

L'infrastruttura rappresenta la naturale evoluzione della medicina rigenerativa, in quanto fornisce, a livello locale, una rete di conoscenze necessarie per ottimizzare ogni singola scoperta nel settore, rendendola

immediatamente disponibile a tutti gli altri laboratori e campi applicativi della rete, che potranno da un lato integrarla nei loro processi, dall'altro perfezionarla. In questa maniera, i partners della infrastruttura non devono ogni volta far partire il processo di ricerca da zero, ma possono avvalersi delle conoscenze che magari altri laboratori già possiedono.

IRMI favorirà la crescita scientifico-industriale nel settore producendo:

- 11) il potenziamento delle strutture di biobanking presso l'Ospedale Niguarda di Milano e LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR di Bologna, offrendo la nuova opportunità di stoccaggio sia autologo che allogenico di cellule e tessuti, con l'esclusione del sangue cordonale. Ad oggi manca in Italia un'infrastruttura adeguata in termini di spazi e di personale in grado di manipolare, stoccare e distribuire i nuovi tessuti come ad esempio il grasso da liposuzione o il dente deciduo.
- 12) il potenziamento e la razionalizzazione delle strutture di manipolazione cellulare. Le strutture di manipolazione cellulare richiedono un investimento più importante per il funzionamento ordinario che per la progettazione e realizzazione degli ambienti. Le attuali strutture aderenti ad IRMI approvate da AIFA sono 3 e 2 sono in fase di realizzazione ed autorizzazione. La proposta di IRMI è che le strutture siano coordinate ed operino collaborativamente fornendo anche tutti i servizi necessari per l'organizzazione, gestione ed analisi dei trials clinici e l'interfaccia con gli Enti regolatori, sia per i trials clinici che per l'autorizzazione all'immissione in commercio dei farmaci. Occorre superare la frammentazione e distanza tra accademia ed impresa: IRMI rappresenta il luogo fisico di tale incontro virtuoso. IRMI, proprio per la coesistenza nell'organizzazione di centri di ricerca accademici e di imprese raggiungerà l'obiettivo di un trasferimento tecnologico continuo per uno sviluppo tecnologicamente competitivo. Chiesi Farmaceutici, con la sua grande esperienza ed un'organizzazione finalizzata sia alla ricerca clinica sia ai rapporti con gli Enti regolatori consentirà ad IRMI di disporre di uno strumento operativo determinante.
- 13) Ricerca e sviluppo sperimentale di nuovi tessuti umani decellularizzati, paste osteoinduttive termoplastiche e malleabili, tessuti ossei a taglio e dimensionamento automatizzato, membrane biologiche elettrofilate, biomatrici e polimeri biocompatibili. I tessuti ossei termoplastici e malleabili a base di DBM, ad oggi, sono quasi esclusivamente importate dagli USA, per la ridotta produzione europea: il LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR è ad oggi l'unico produttore europeo di paste osteoinduttive, ma necessita di un forte potenziamento della sua capacità produttiva. La problematica risiede nella capacità di disporre di dispositivi medici biologicamente compatibili ed efficaci nel raggiungimento degli obiettivi indicati, a costi accettabili. IRMI ha nella sua compagine gruppi di ricerca sia accademici che industriali impegnati nella creazione di biomateriali innovativi, che verranno testati ed utilizzati in combinazione a scopo prototipale.
- 14) Ricerca e sviluppo sperimentale di almeno un prodotto cellulare a base di cellule staminali mesenchimali da tessuto adiposo, ottenuto con la tecnologia Lipostem, che garantisce un'elevatissima ed unica qualità cellulare per il suo isolamento esclusivamente di tipo fisico. A livello internazionale sono disponibili altre metodiche di manipolazione del tessuto adiposo, ma tutte utilizzano metodi enzimatici od ultrasuoni, che comportano un'alterazione delle capacità rigenerative delle cellule stesse ed una loro modificazione biologica, che ha indotto una identificazione del prodotto finale da parte di FDA come "biologics".
- 15) Ricerca e sviluppo sperimentale di cellule staminali per trials clinici sia a rilevante che a non rilevante manipolazione in patologie orfane (sclerodermia, epidermolisi bollosa) ed in malattie croniche ad elevata incidenza, attualmente curabili, ma non guaribili. La gran parte dei trials

clinici su terapie avanzate sono attualmente in corso in USA, Australia e Giappone. In Europa solo pochi trials sono attualmente in corso.

L'IRMI si propone di promuovere, dopo l'iter di ricerca e sviluppo sperimentale, la traslazione alla clinica di due tipologie di prodotti di medicina rigenerativa: prodotti a manipolazione non rilevante e a manipolazione rilevante. Grazie a queste due differenti tipologie di prodotti, l'IRMI intende attivare, prevalentemente al termine del progetto, un programma di immissione continua sul mercato di nuovi derivati per le terapie avanzate.

SCIENTIFIC PURPOSE AND COMPETENCE INTEGRATION

Thanks to the high number of groups that joined IRMI and to the expertise gained, that will guarantee IRMI visibility and attractiveness to new investors and participation in targeted national and international research calls, especially the funding of Horizon 2020, also on the strength of the critical mass resulting from the gathering of the highest Italian expertise in the field. At the end of the first 5 years of operation, it is expected that the IRMI will be able to finance itself, it will not be a burden on the State and also creating new professions, new jobs and promoting scholarships and training courses.

The infrastructure represents a natural evolution of regenerative medicine since it provides, locally, a network of knowledge necessary to optimize each discovery within the sector, yielding it immediately available to any other laboratory and application filed of the same network; on the one side they can integrate within their processes, on the other side they can perfection it. As a consequence, the infrastructure participants shall not open the search process each time by the beginning but they could count on knowledge other laboratories still own.

More specifically, IRMI will support the growth in the scientific-industrial sector producing:

- 11) the strengthening of existing biobanking structures at the Niguarda Hospital and at the LABORATORY PROMETEO BCTM IOR in Bologna, offering new opportunities for storage of both autologous and allogeneic cells and tissues, with the exception of cord blood. As of today, Italy lacks an appropriate infrastructure in terms of space and personnel able to manipulate, store and distribute the new tissues such as fat from liposuction or deciduous tooth;*
- 12) the strengthening and rationalization of cell manipulation structures; The structures for cell manipulation require an investment more important for the normal operation than for the design and construction of structures. The achievement and the maintenance of GMP by AIFA for experimental production not of products advanced therapies represent a high cost depreciable only against a sufficient production of drugs. The current structures belonging to IRMI approved by AIFA are 3 and 2 are under construction and in authorization phase. The IRMI proposal is that the structures are coordinated and operate collaboratively; providing all the necessary services for the organization, management and analysis of clinical trials and the 'interface with authorities, both for clinical trials and for the marketing authorization.*
- 13) Research and development of new decellularized human tissues, osteo-inductive malleable thermoplastic pastes, bone tissue with automated cut and sizing, electro-spun biological membranes, biomatrix and biocompatible polymers. Bone tissues thermoplastic and malleable based on DBM, as of today are almost exclusively imported from the USA, due to the reduced production in Europe: the PROMETHEUS LAB BCTM IOR is currently the only*

European manufacturer of osteoinductive paste , but requires a substantial expansion of its capacity The problem lies in the ability to dispose of medical devices biologically compatible and effective in achieving the stated goals, at an acceptable cost. IRMI has in his team research groups both academic and industry engaged in the creation of innovative biomaterials, which will be tested and used in combination in prototype.

- 14) Research and development of at least one cellular product based on mesenchymal stem cells from adipose tissue , obtained with technology Lipostem, that guarantees high and unique cellular quality thanks to its isolation exclusively physical. At the international level there are other methods of manipulation of adipose tissue, but all are using enzymatic or ultrasound methods, entailing an alteration of the regenerative capacity of the cells and their biological modification, which led to an identification of the final product by FDA as "biologics". Main problem is the classification of the product and therefore, the regulatory process that must be submitted before release. The proposed solution is a request for advice to AIFA and EMA prior to clinical use.*
- 15) Research and experimental development of stem cells for clinical trials, (with relevant manipulation as well as with not relevant manipulation), in orphan diseases (scleroderma, epidermolysis bullosa) and in chronic diseases with high incidence, currently treatable but not curable. The vast majority of clinical trials on advanced therapies are currently underway in the Usa, Australia and Japan. In Europe, only a few trials are currently underway.*

The IRMI aims to promote, after the process of research and experimental development, the translation to the clinic of two types of products for regenerative medicine: products with manipulation not relevant and with relevant manipulation. The products with manipulation not relevant have a process more facilitated for their use in therapy compared to those with manipulation relevant. Thanks to these two different types of products, the IRMI intend to activate, mainly at the end of the project, a program of continuous introduction on the market of new derivatives for advanced therapies. In fact, products with manipulation not relevant will be introduced on the market during the third year of the project, allowing products with relevant manipulation to have enough time to terminate the acquisition of all necessary certifications for their therapeutic use.

NUOVI PRODOTTI REALIZZATI (dettagli scientifici e tecnici da pag. 10; analisi dello stato dell'arte da pag. 23)

I prodotti ed i servizi che verranno sottoposti ad iter di ricerca industriale, sviluppo sperimentale, validazione dei risultati, eventuale brevettazione e produzione dall'IRMI nei 36 mesi del progetto sono:

PRODOTTI (CELLULE E/O TESSUTI) A MANIPOLAZIONE NON RILEVANTE:

- Tessuti decellularizzati (derma, cartilagine, tessuto adiposo e nervi)
- Paste osteoinduttive
- Tessuti ossei a taglio e dimensionamento automatico
- Lipostem
- Scaffolds da elettrofilatura
- Degrapol®

PRODOTTI CELLULARI A MANIPOLAZIONE RILEVANTE:

- Cellule staminali mesenchimali espanse
- Cellule staminali epiteliali espanse
- Cellule progenitrici miogeniche da ips
- Cheratinociti e fibroblasti espanse seminati su scaffold 3d
- Fibroblasti in sospensione
- Condrociti in sospensione e su scaffold 3d

DISPOSITIVI PER LA MEDICINA RIGENERATIVA PRODOTTI A LIVELLO PROTOTIPALE AL TERMINE DEI 36 MESI DEL PROGETTO

- Matrice 3d biomimetica
- Gel termosensibili

NUOVE TECNICHE FINALIZZATE AL CONTROLLO ED AL POTENZIAMENTO DEI PROCESSI E DEI PRODOTTI DI MEDICINA RIGENERATIVA

- Tecniche di sequenziamento massivo degli acidi nucleici
- Sistemi hts per l'identificazione di molecole regolatrici

RICERCA INDUSTRIALE PER IL POTENZIAMENTO DELLE INFRASTRUTTURE AD USO COMUNE DEL PROGETTO IRMI

- Certificazione bpl/glp dei laboratori per la ricerca preclinica
- Infrastrutture di biobanking
- Infrastrutture per l'utilizzo clinico
- Disseminazione divulgativa della conoscenza scientifica

NEW DEVELOPED PRODUCTS (scientific details from page 10; state of the art analysis from pag. 23)

PRODUCTS (CELL AND / OR TISSUE) WITH NOT RELEVANT MANIPULATION:

- *Decellularized tissue (derma, cartilage, adipose tissue and nerves*
- *Osteoinductive paste*
- *Bone tissue with automated cut and sizing*
- *Lipostem*
- *Scaffolds from electrospinning*
- *Degrapol ®*

CELLULAR PRODUCTS WITH RELEVAT MANIPULATION

- *Expanded mesenchymal stem cell*
- *Expanded epithelial stem cell*
- *Myogenic progenitor cells from ips*
- *Expanded keratinocytes and fibroblasts seeded on 3d scaffold*
- *Fibroblasts suspended*
- *Suspended chondrocytes and on 3d scaffold*

DEVICES FOR REGENERATIVE MEDICINE , MANUFACTURED AT A PROTOTYPAL LEVEL AT THE END OF 36 MONTHS PROJECT

- 3d matrix biomimetic
- Thermo sensitive gel

NEW TECHNIQUES AIMED AT CONTROL AND AT STRENGTHENING OF REGENERATIVE MEDICINE PROCESSES AND PRODUCTS

- Techniques of massive sequencing of nucleic acids
- Hts systems for the identification of regulating molecules

INDUSTRIAL RESEARCH FOR STRENGTHENING OF INFRASTRUCTURE FOR COMMON USE OF PROJECT IRMI

- Certification bpl / glp laboratory for preclinical research
- Biobanking infrastructure
- Infrastructure for clinical use
- Dissemination of scientific knowledge

ORGANIZZAZIONE E SVILUPPO

Scopo del servizio erogato dall'IRMI sarà quello di supportare tutti i partners del consorzio durante l'iter di sviluppo ed approvazione di prodotti innovativi di Medicina Rigenerativa, facilitando il complicato processo di traslazione dei risultati dalla ricerca scientifica alla pratica clinica.

A tal fine, l'infrastruttura lavorerà a stretto contatto con i soggetti consorziati che richiedano assistenze specifiche, sia, ove possibile, fornendo loro direttamente la soluzione richiesta, sia ponendoli in contatto con partners in grado di sviluppare per loro un determinato processo, o condurre una determinata ricerca. L'IRMI, inoltre, fornirà consulenze in tema di interpretazione normativa aggiornandosi costantemente su quanto disposto nel settore, anche a livello internazionale. Tale supporto consentirà ai consorziati di avviare le proprie ricerche, o processi produttivi, senza dispersione né di tempo, né di risorse, avendo già chiari i requisiti "legali" che il prodotto dovrà soddisfare.

Nel breve-medio termine, l'IRMI intende aprire il proprio servizio anche a soggetti terzi che decidano di entrare nel campo della medicina rigenerativa, e che richiedano supporto anche solo per una singola fase dell'iter produttivo. La rete di contatti che l'IRMI creerà nel tempo, unita alla profonda conoscenza normativa acquisita, renderanno il consorzio un'imprescindibile crocevia per ogni nuova impresa che intenda cominciare la propria attività di produzione di prodotti per terapie avanzate in Italia. Concretamente, infatti, l'IRMI sarà in grado sia di facilitare l'insediamento della nuova impresa sul territorio, mettendola in contatto con le realtà già attive nel settore, sia di armonizzarne l'attività con quella degli altri partners del consorzio, incanalandola in grossi progetti di sviluppo già attivi, o in fase di avviamento; sarà altresì compito dell'IRMI la promozione al meglio dei nuovi prodotti e servizi, tramite, ad esempio, il loro inserimento nel sito web ed in tutti i programmi di diffusione delle attività inerenti l'infrastruttura.

Grazie all'intensa attività di *networking*, il progetto metterà in moto un processo di specializzazione che porterà vantaggi sia a tutte le tipologie di soggetti afferenti al consorzio, sia più in generale a tutti gli operatori del settore, sia che si tratti di soggetti privati, sia di soggetti pubblici.

Inoltre, grazie a:

- aumento del numero di consorziati

- una competenza acquisita che assicurerà all'IRMI visibilità ed appetibilità per nuovi investitori
- partecipazione mirata a bandi di ricerca nazionali ed internazionali, forte di una massa critica che raccoglie le massime competenze italiane in materia

l'IRMI sarà in breve in grado di autofinanziarsi, non gravando sullo Stato ed altresì creando nuovi posti di lavoro e promuovendo borse di studio e di Dottorato di Ricerca.

ORGANIZATION AND DEVELOPMENT CHART

The purpose of the service provided by IRMI shall be to support all partners of the consortium during the process of development and approval of innovative products for Regenerative Medicine, facilitating the complicated process of translation of results from scientific research to clinical practice.

For this reason, this structure will work closely with the consortium subjects that require specific assistance, and, where possible, providing them directly the required solution, both by placing them in contact with partners able to develop them for a particular process, or to conduct a given search. Therefore IRMI will provide advices regarding the interpretation of laws with an updating in this area also with reference to the international sector. This support will enable the consortium to undertake their own research, or production processes, without loss of time or resources, through the explanation of the “legal” requirements that the product shall meet

In the short /medium term, the IRMI also intends to provide its service to third parties who decide to enter in the regenerative medicine area and require the support even for a single step of production. Thanks to the IRMI network, combined with the knowledge of rules and regulations, the consortium will be an essential crossroads for each new subject who intends to start its own business for the production of advanced therapy products in Italy. In fact, IRMI will be able to facilitate the establishment of a new company in the territory, putting it in contact with the companies already active in this field and to harmonize its activities with those of the other consortium partners, directing all the efforts toward important projects already active or in a start-up phase. IRMI shall develop the promotion of the new products and services, through, for example, their inclusion in the website and all the developing programs for the activity of this structure.

Thanks to the networking, the project will develop a specific activity with benefits for the partners of the consortium and for any private or public entities.

Therefore thanks to:

- *Increase of the number of associates of the consortium;*
- *An acquired skill that will ensure to IRMI visibility and attractiveness to new investors;*
- *Participation to national or international calls, with a strong knowledge regarding the expertise in this field.*

IRMI shall be able to finance itself and to create new jobs and to promote scholarship and PhD. The activities of the consortium will be divided into five areas of activity to ensure a high level of quality of the services provided and an efficient performance, quick results and a complete adaptability to the needs of applicants.

3) COPERTURA FINANZIARIA

- Fonti di copertura finanziaria preventivate, ad integrazione degli incentivi richiesti, ed informazioni a supporto della loro congruità.

Le fonti di copertura finanziaria sono costituiti per tutti i soggetti da mezzi propri. Di seguito la suddivisione dei costi per anno solare, a partire dalla data prevista di inizio progetto, ipotizzata al 1 giugno 2013.

	2013	2014	2015	2016	Totale
<i>Totale €</i>	1.720.984,20	3.441.928.60	3.441.900.20	1.720.930,00	10.325.743,00

4) VALIDITA' INDUSTRIALE DEL PROGETTO

- **Coerenza strategica e gestione del progetto**

Coerenza con gli obiettivi strategici dell'impresa, interazione delle strutture impegnate nel progetto con le altre strutture dell'impresa, criteri di selezione e monitoraggio del progetto.

Il progetto, ponendosi in piena coerenza con i piani strategici dei proponenti industriali, si propone di facilitare ed accelerare i processi inerenti lo sviluppo strutturale nel sistema economico Regionale e Nazionale. La strategia di sviluppo e crescita dell'IRMI si basa infatti sullo sviluppo di nuove terapie avanzate, la cui realizzazione è imprescindibilmente vincolata al libero scambio di competenze attraverso la cooperazione con aree altamente specializzate nella ricerca di base e nella produzione di conoscenze, quali Università e altri enti di ricerca. L'incremento delle competenze in materia e la convergenza delle tecnologie dei differenti ambiti scientifici permetteranno alle industrie di sfruttare il miglioramento delle tecniche apprese, per offrirsi in maniera più competitiva sui mercati nazionali ed internazionali.

IRMI, inoltre, in piena coerenza con le agende strategiche della Commissione Europea, favorirà il processo di Smart Specialization delle regioni al fine di valorizzare programmi finalizzati di ricerca, di sviluppo tecnologico ed innovazione e di partecipare come infrastruttura Italiana ai bandi di ricerca Europei Horizon 2020.

The project, according to the strategic plans of the industrial proponents, aims to facilitate and accelerate the processes inherent structural development in Regional and National economic system. The development strategy and growth of IRMI relies indeed on developing new advanced therapies, which is inextricably linked to the free exchange of expertise through cooperation with specialized areas in basic research and the production of knowledge, such as Universities and other research institutions. The increased powers and the convergence of technologies in different fields of science will enable industries to take advantage of the improvement of the techniques learned, to offer a more competitive products into domestic and international markets.

Moreover, IRMI according to the strategic agenda of the European Commission, will encourage the process of Smart Specialization of Regions, in order to develop targeted programs for research, technological development and innovation and to participate as Italian infrastructure at the Horizon 2020 calls for research.

- **Competitività tecnologica**

Caratteristiche tecnologiche attuali e prospettive dell'offerta, prevedibili evoluzioni della domanda indotte dal trend della tecnologia, validità prospettica del progetto.

I principali paesi della UE con forti settori biotech, come il Regno Unito e Germania stanno investendo massicciamente nella medicina rigenerativa (RM), alla ricerca di un vantaggio competitivo in questo

emergente settore. Tuttavia, nel settore biofarmaceutico l'Unione Europea (UE) è superata dagli Stati Uniti su tutti i parametri, a causa dei problemi di vecchia data: limitato capitale di rischio finanziario, un sistema di brevetti frammentato, e le relazioni relativamente deboli tra il mondo accademico e l'industria. L'attuale crisi globale ha aggravato queste difficoltà. La crisi arriva in un momento in cui l'Unione europea sta riformulando il suo approccio alla governance dell'innovazione e rinnova il suo impegno a raggiungere l'obiettivo di fare dell'Europa il leader nell'economia globale della conoscenza. Se l'UE intende acquisire un vantaggio competitivo nel settore RM allora deve coordinare un complesso multi-livello quadro di governance che comprende l'Unione europea, gli Stati membri e le autorità regionali. Il successo nella bioeconomia globale richiede una governance dell'innovazione astuto sia degli gli stati che delle autorità sovranazionali nel campo della scienza, del mercato e della società; una piattaforma di R & S vitale e organizzata; condizioni di mercato favorevoli alla commercializzazione, e regimi di regolamentazione che affrontino sia le problematiche di rischio e di sicurezza e le sensibilità dei valori culturali, al fine di mantenere la fiducia del pubblico e dei consumatori nel settore.

Le figure successive dimostrano il gap esistente tra EU 27, Stati Uniti, economie asiatiche sviluppate (Sud Corea, Singapore, Cina e Giappone, principalmente) e resto del mondo, per quanto riguarda il numero di ricercatori impegnati, la spesa sul PIL per R&S ed il numero di brevetti. Interessante è notare che mentre il gap si riduce nei confronti degli USA per effetto della politica antistaminanti del governo Bush, aumenta sensibilmente verso i Paesi Asiatici evoluti come Giappone, Corea del Sud, Singapore e Cina, che stanno di fatto assumendo un importante ruolo trainante competitivo.

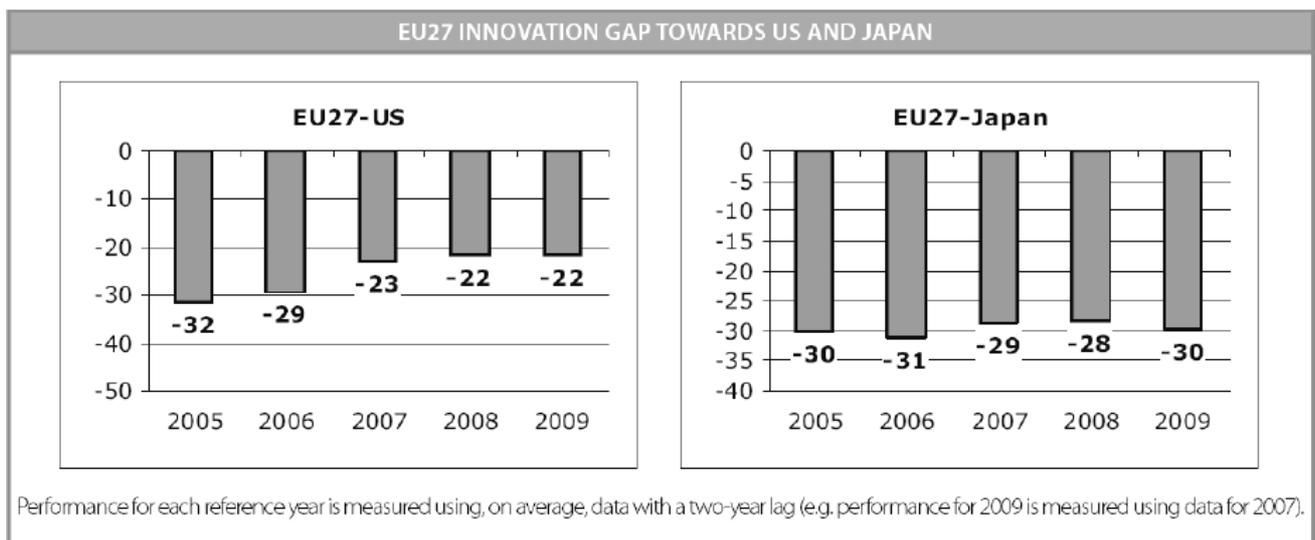


Figura 5: Gap innovativo EU 27 rispetto a Giappone e USA in medicina rigenerativa.
 Fonte : Regenerative medicine in Europe: global competition, international links and innovation governance.
 Stuart Hogarth and Brian Salter

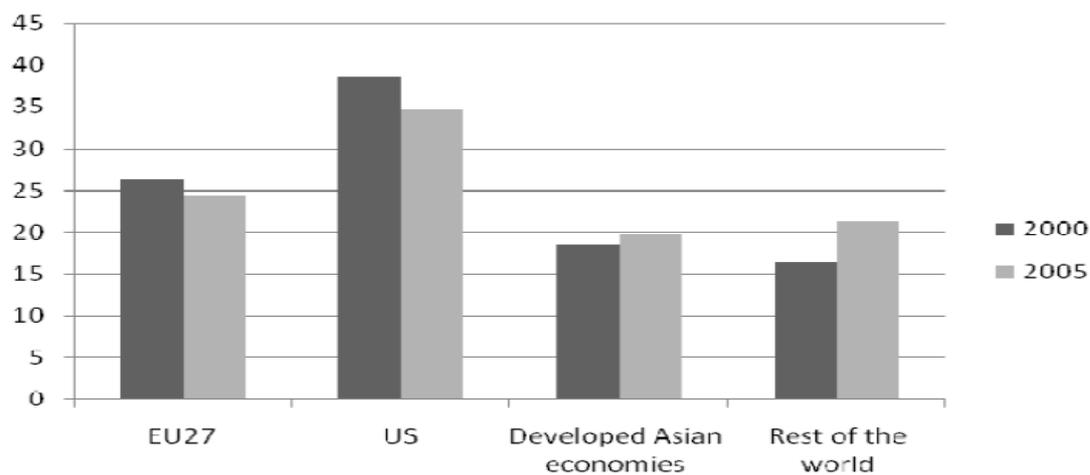


Figura 6: Gap nel numero di ricercatori EU 27 rispetto a USA, economie asiatiche sviluppate e resto del mondo in medicina rigenerativa.
 Fonte : Regenerative medicine in Europe: global competition, international links and innovation governance.
 Stuart Hogarth and Brian Salter

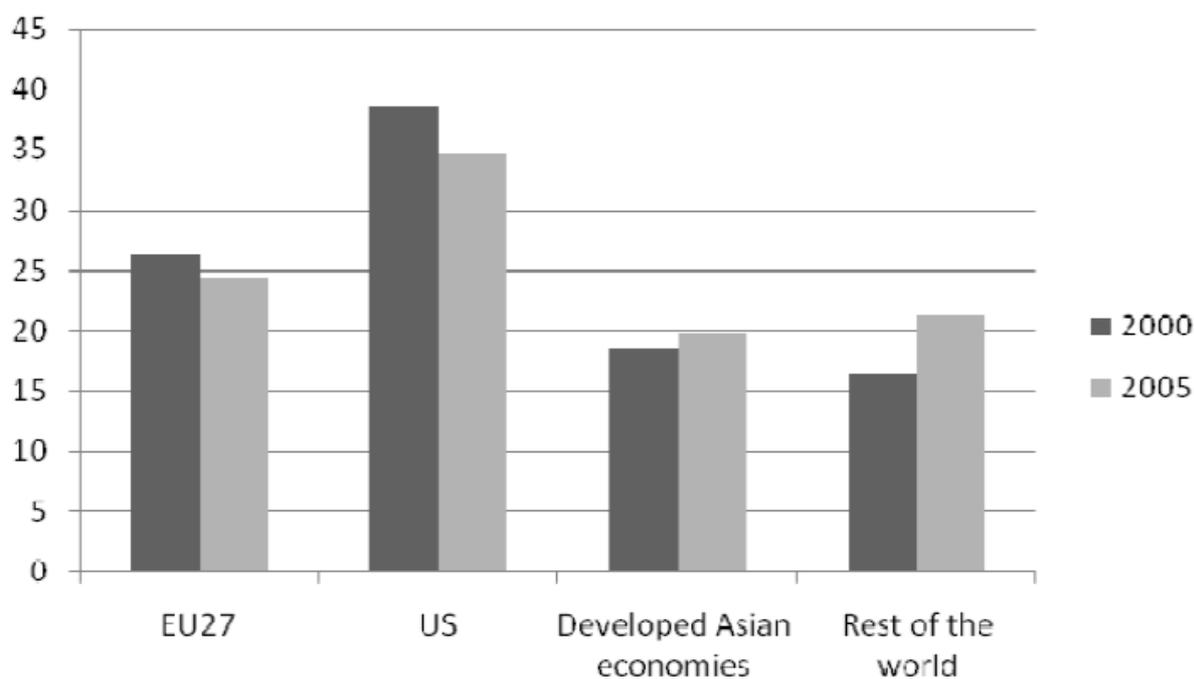


Figura 7: Gap nella spesa sul PIL per R&S EU 27 rispetto a USA, economie asiatiche sviluppate e resto del mondo in medicina rigenerativa.
 Fonte : Regenerative medicine in Europe: global competition, international links and innovation governance.
 Stuart Hogarth and Brian Salter

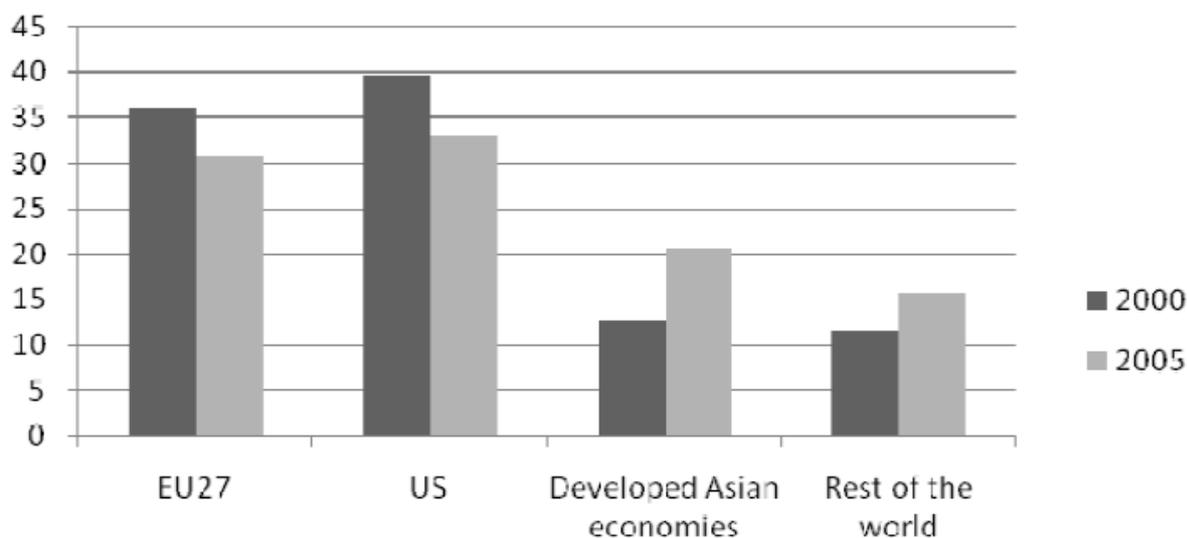


Figura 8.: Gap nel numero di brevetti EU 27 rispetto a USA, economie asiatiche sviluppate e resto del mondo in medicina rigenerativa.

Fonte : Regenerative medicine in Europe: global competition, international links and innovation governance. Stuart Hogarth and Brian Salter

La principale preoccupazione politica Europea riguarda la limitata collaborazione industria accademia, una debolezza che è stata definita il "Paradosso europeo", cioè una base scientifica eccellente, ma limitata capacità di catturare il potenziali benefici socio-economici delle sue scoperte scientifiche. Occorre, quindi, attivare una forte politica di "clustering" per facilitare il trasferimento di tecnologia, riunendo scienziati, imprenditori e investitori. I cluster sono visti come uno strumento importante per la governante dell'innovazione e della competitività nel settore biotecnologico della medicina rigenerativa. I governi nazionali e regionali in Europa hanno cercato di favorire lo sviluppo di cluster creando incubatori e parchi scientifici e fornendo finanziamenti per R & S e di altre iniziative.

Tuttavia, tale forma di governance dell'innovazione competitiva è considerata ancora debole in Europa, infatti l'Europa non manca di cluster, ma di persistente frammentazione del mercato, debole collegamento industria-accademia e cooperazione insufficiente all'interno dell'UE. Come risultato i clusters nell'Unione europea non sempre hanno la necessaria massa critica e la capacità di innovazione capace di affrontare la concorrenza globale. L'Unione europea conta circa 2.000 cluster, 70 diverse politiche di cluster nazionali, e centinaia di programmi regionali. Alla luce di tali considerazioni, la Commissione sta cercando di aumentare la massa critica attraverso la promozione di collaborazione transnazionale di cluster utilizzando il Fondo di politica di coesione.

Per quanto riguarda la formazione di ricercatori qualificati l'Europa mantiene alti livelli di laureati, ma, in un mercato globale del lavoro manca di un forte capacità di trattenerli. In USA oltre il 40% dei titolari di dottorato e il 25% di laureati occupati in R&S sono cittadini nati all'estero. Gli Stati Uniti si basano principalmente su un flusso costante di competenze scientifiche dall'Europa. Nel 2004, dei circa 400.000 ricercatori stranieri negli Stati Uniti si stima che oltre 100.000 fossero nati in UE.

Si tratta di una percentuale significativa della popolazione dei ricercatori nell'UE che ammonta 1,3 milioni e spesso sono anche top performer nei loro campi.

Una politica di infrastrutture e cluster transnazionali, con partecipazione collegata di industria e accademia, può fornire ai nuovi laureati le strutture di ricerca necessarie al proprio sviluppo professionale ed alla creazione di start-up e di nuove imprese competitive.

Il progetto IRMI si pone proprio al cuore di tale strategia, creando le condizioni per un legame stabile tra industria ed accademia con una serie di nuovi prodotti per la rigenerazione in distribuzione commerciale od in evoluzione di R&S già nei tre anni di attività, ma soprattutto proponendosi di essere parte integrante di un progetto di competitività europea, collegandosi in modo strutturale alle infrastrutture ed ai cluster operanti in EU.

The main EU countries with strong biotech sectors, such as the United Kingdom and Germany are investing massively in Regenerative Medicine (RM), looking for a competitive edge in this emerging sector. However, in the biopharmaceutical sector, the European Union (EU) is passed by the United States on all the parameters, because of long-standing problems: a limited venture capital finance, a fragmented patent system and weak relations between academia and industry.

The global crisis has compounded these difficulties. The crisis comes in a period when EU is rethinking its approach to governance of innovation and renews its commitment to reach goal of making of Europe a leader in the global knowledge economy. If the EU intends to acquire a competitive edge in RM sector must coordinate a complex multi-level governance framework which includes European Union Member States and regional authorities. A successful strategy in the global bio economy, requires a smart governance of innovation from both Member States and supranational authorities, in synergy with market and social environment; a viable and organized R&S platform; favorable market conditions and regulatory regimes that address both the problems of risk and safety and sensitivity of cultural values, in order to maintain public consumers confidence in the sector.

The following figures demonstrate the gap between EU 27, United States, developed Asian economies (South Korea, Singapore, China and Japan, primarily) and the rest of the world, with regard to the number of researchers engaged, the expenditure on GDP for R&S and the number of patents. It is interesting to note that while the gap decreases towards the USA as a result of the Bush Government's policy against stem cells, increases towards evolved Asian countries as Japan, South Korea, Singapore and China, which are in fact taking a major leading competitive role.

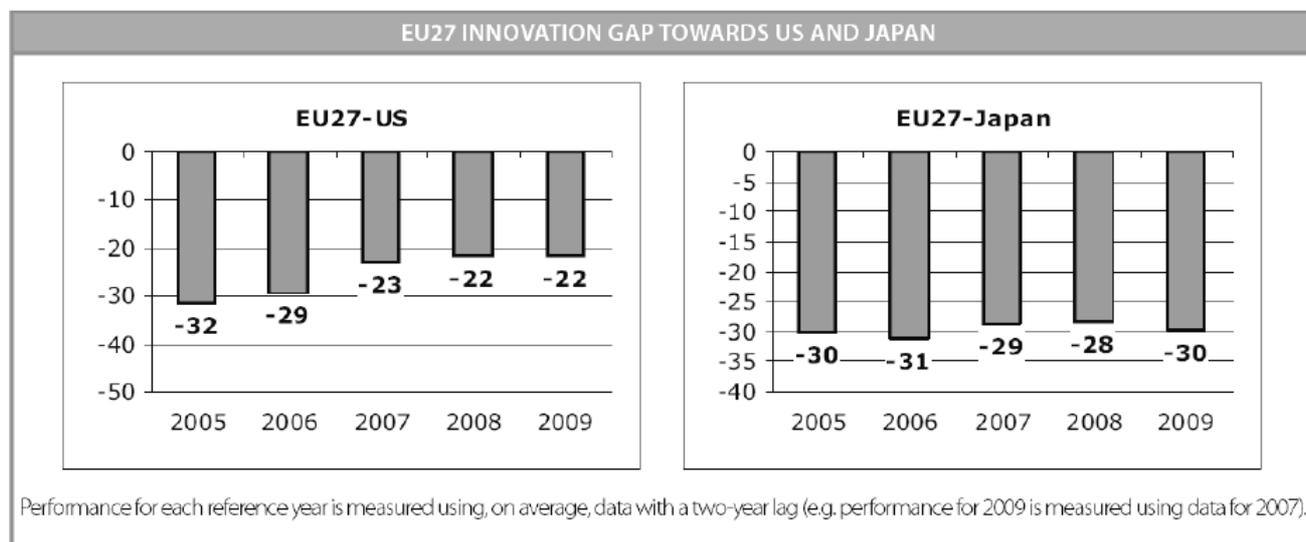


Figure 5: EU-27 innovation Gap towards Japan and the U.S. in regenerative medicine.

Source : Regenerative medicine in Europe: global competition, international links and innovation governance. Stuart Hogarth and Brian Salter.

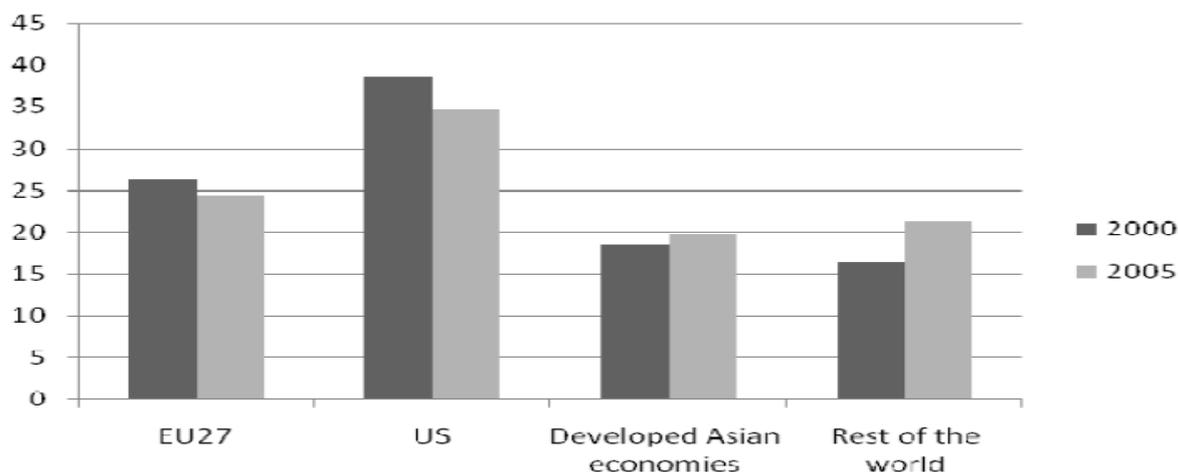


Figure 6.: Gap in the number of researchers EU 27 than in the USA, the Asian economies and the rest of the developed world in regenerative medicine.

Source : Regenerative medicine in Europe: global competition, international links and innovation governance. Stuart Hogarth and Brian Salter

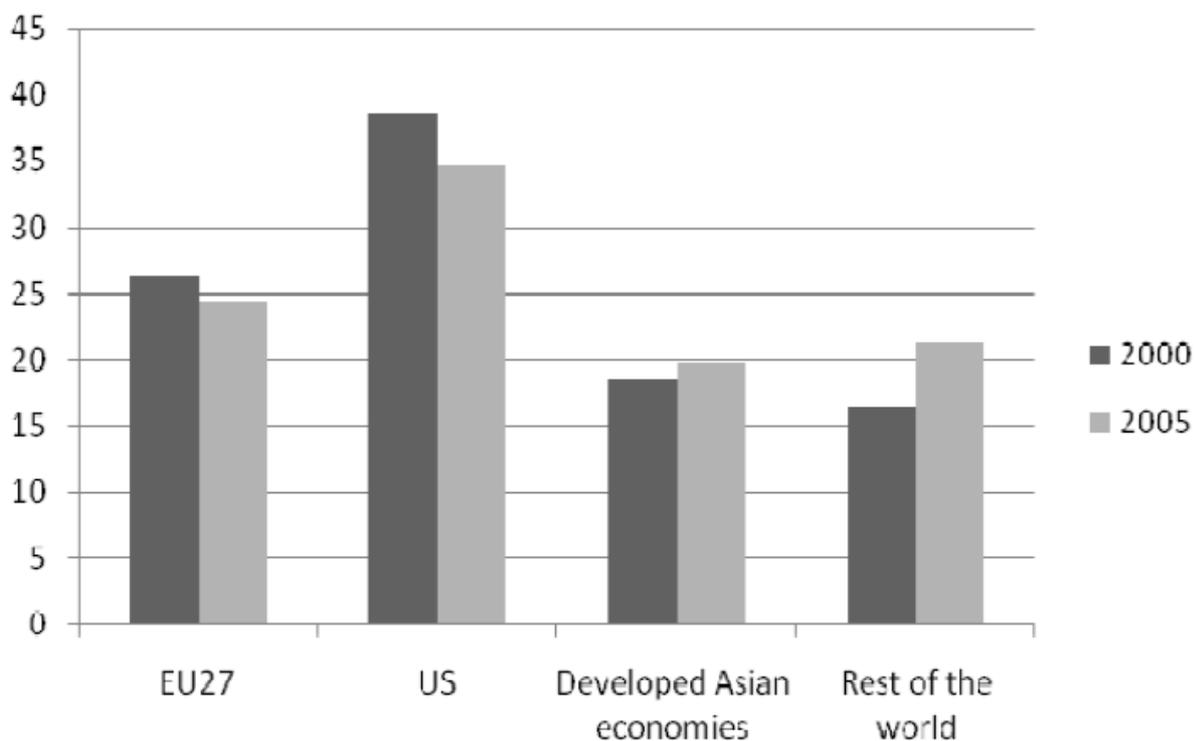


Figure 7: Gap in expenditure on GDP for R&D EU 27 towards USA, developed Asian economies and the rest of the world in regenerative medicine.

Source: Regenerative medicine in Europe: global competition, international links and innovation governance. Stuart Hogarth and Brian Salter

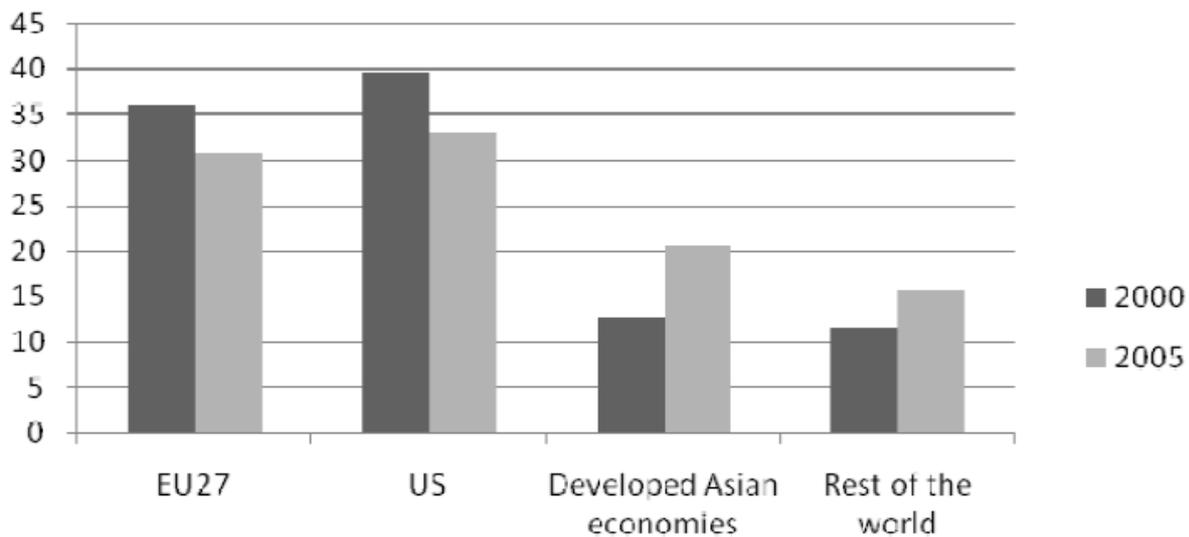


Figure 8: Gap in the number of patents EU-27 towards USA, developed Asian economies and the rest of the world in regenerative medicine.
 Source: Regenerative medicine in Europe: global competition, international links and innovation governance. Stuart Hogarth and Brian Salter

The main concern related to European policy involve the limited cooperation between industry and Academy, a weakness that has been called the "European Paradox", i.e. an excellent scientific basis, but limited ability to capture the potential socio-economic benefits of his scientific discoveries. We must, therefore, enable a strong policy of "clustering" to facilitate the transfer of technology, bringing together scientists, entrepreneurs and investors. The clusters are an important tool for the innovation governance and for the competitiveness in biotechnology sector of regenerative medicine. National and regional Governments in Europe have sought to encourage the development of clusters creating incubators and science parks and R&D funding initiatives.

However, this form of competitive innovation governance is still considered weak in Europe, because there is not lack of the cluster, but there is a persistent fragmentation of the market, weak link industry-Academy, insufficient EU member States cooperation. As a result, the clusters in the European Union don't have the necessary critical mass and innovation capacity of facing in the global competition. European Union counts approximately 2,000 cluster, 70 different national cluster policies, and hundreds of regional programs. Due to these considerations, the Commission is trying to increase the critical mass through the promotion of transnational clusters collaboration by using the cohesion policy Fund.

With regard to the training of qualified researchers, Europe maintains high levels of graduates, but, in a global market of labor lacks a strong ability to restrain them into the EU community. In USA more than 40% of doctorate holders and 25% of graduates employed in all R&S are foreign-born people. The United States are primarily based on a steady stream of scientific expertise from Europe. In 2004, of about approximately 400,000 foreign researchers in the United States, it is estimated that over 100,000 were born in the EU.

This is a significant percentage of the population of researchers, that in the EU is 1.3 million and often are also top performers in their fields. A good policy of infrastructure and cross-border clusters, with associated industry and Academy participation, can provide new graduates the necessary research facilities to their own professional development and can facilitate the creation of start-ups and new competitive businesses.

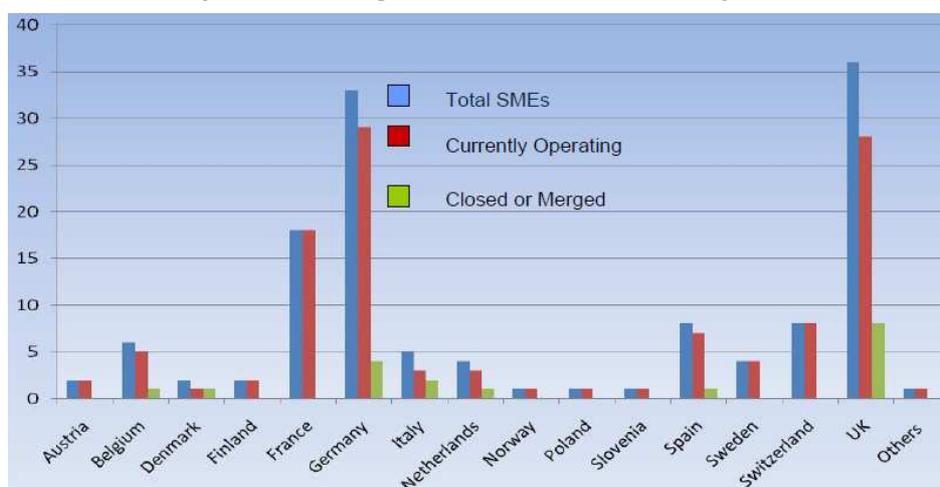
The IRMI project aims precisely to realize that strategy, creating conditions for a stable relationship between industry and academia with a series of new products for regeneration in commercial distribution or in evolution of R&S in the next three years of activity; therefore the IRMI project will be part of a project of European competitiveness, in connection with the infrastructures and cluster operating in the EU.

- **Ricadute economiche dei risultati attesi**

Dimensioni del mercato attuali e prospettive, posizioni della richiedente e della principale concorrenza, ricavi e/o minori costi attesi e redditività dell'iniziativa anche in relazione agli investimenti di industrializzazione. Capacità di valorizzare i risultati della ricerca in termini di marchi, brevetti e spin off industriali.

Nonostante i primi studi di rigenerazione tissutale risalgano al 1940, la medicina rigenerativa si trova attualmente nei primi stadi del suo sviluppo economico. Ad oggi, in tutto il mondo, sono circa 400 le aziende operanti nel settore. Un recente report del Dipartimento della Salute Inglese illustra come, nel mondo, il panorama sia dominato dalle PMI e solo una ventina di grandi aziende abbiano deciso di investire in modo massivo, come, ad esempio, Pfizer, Smith and Nephew, Sanofi-Aventis, Medtronic e Shire. Come mostrato in figura, in Europa sono presenti attualmente 145 compagnie, di cui 132 sono PMI e sono prevalentemente presenti in Inghilterra (28), in Germania (28) ed in Francia (17). Solo 3 PMI sono attualmente attive sul territorio Italiano.

Figura 9: Aziende operanti nel settore della medicina rigenerativa



A livello mondiale le potenzialità di mercato sono enormi e in piena fase di consolidamento. Solo nel 2010, il mercato globale in questo settore ammontava a 7,2 miliardi di dollari ed è previsto superare i 13 miliardi dollari entro la fine del 2014. Un aumento quasi del doppio in soli 4 anni. In tale cornice, l'Europa occupa un posto di rilievo, grazie soprattutto ad una crescente domanda di trattamenti sempre più efficaci e meno costosi. Nel 2010, la quota di mercato occupata dall'Europa ammontava a 2,2 miliardi di dollari, pari al 30,6% del mercato globale. Secondo un report pubblicato dalla RNCOS, entro il 2014, tale quota è prevista aumentare del 19% ogni anno. Per l'inizio del 2015, anno che, secondo il Prof. Chris Mason del King's College di Londra, membro dell'ARM (*Alliance for Regenerative Medicine*), dovrebbe rappresentare la svolta economica per la medicina rigenerativa, la quota di mercato occupata dall'Europa dovrebbe aggirarsi intorno ai 4,5 miliardi di dollari.

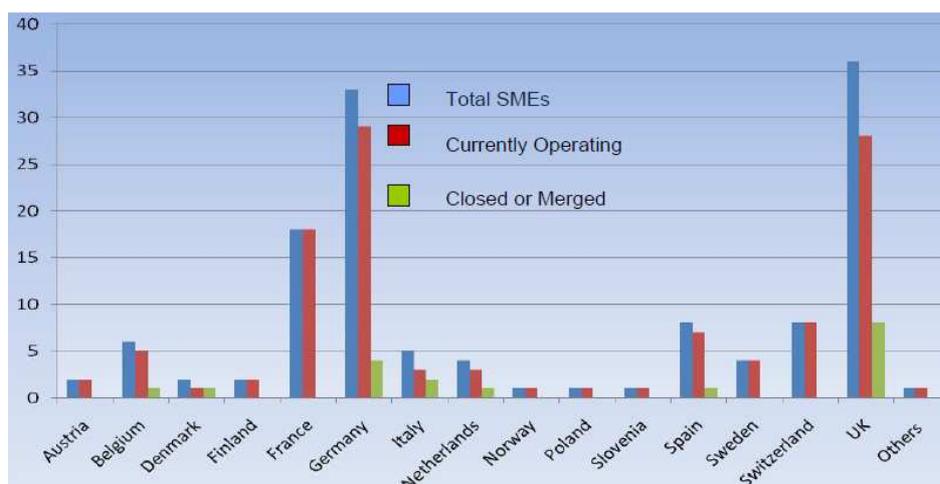
Grazie all'introduzione di nuovi prodotti sul mercato Europeo e, in una fase successiva, anche su quello mondiale, per la fine del 2014 lo Stato Italiano si potrebbe aggiudicare una quota del crescente mercato locale. La possibilità di coprire anche un modesto 10% del solo mercato Europeo si tradurrebbe in un giro di affari stimato intorno ai 500 milioni di euro. Questa opportunità è unica, ma per poterla sfruttare appieno, vanno intraprese al più presto opportune scelte strategiche volte alla promozione della ricerca e della produzione industriale nazionali.

In questo contesto, il progetto IRMI rappresenta una preziosa opportunità per inserirsi nel mercato Europeo, in considerazione del deciso aumento di competitività derivante dal miglioramento delle tecniche, e dall'introduzione di una struttura di supporto, che possa sia promuovere le competenze territoriali tramite mezzi di divulgazione riconosciuti a livello internazionale, quali pubblicazioni e congressi, sia facilitare l'esportazione delle tecnologie nazionali facendo pressione sulle opportune leve politiche.

Si prevede che il lavoro svolto nei primi 5 anni di attività sia preliminare per l'implementazione di una infrastruttura di imprescindibile rilevanza strategica per le PMI, o per le grandi aziende che intendano investire nel settore. Instaurato sul territorio, infatti, l'IRMI favorirà la realizzazione di progetti di sviluppo innovativi, in grado di attrarre investimenti privati e facilitare l'accesso dei suoi partners a bandi per la ricerca nazionali ed internazionali, con lo scopo finale di **autosostenersi economicamente**. La creazione di suddetta identità territoriale, che dovrà essere riconoscibile nel mondo per qualità ed eccellenza della produzione, diventa fondamentale per un progetto di espansione su larga scala.

Although the early studies of tissue regeneration date to 1940, regenerative medicine is still currently in the early stages of its economic development. Nowadays, there are about 400 companies operating in this sector worldwide. A recent report of the British Department of Health shows how, in the world, the panorama is dominated by SMEs and only some 20 large companies have decided to invest massively, such as Pfizer, Smith and Nephew, Medtronic, Sanofi-Aventis and Shire. As shown in the next figure, in Europe there are currently 145 companies, of which 132 are SMEs mainly present in England (28), Germany (28), France (17). Only 3 SMEs are currently active on the Italian territory.

Fig. 9: Companies operating in the field of Regenerative medicine



Globally, the potential market is huge and in full consolidation phase. In 2010, the global market in this sector amounted to 7.2 billion dollars and is expected to exceed 13 billion dollars by the end of 2014, signing an almost double increase in just 4 years. In this frame, Europe occupies a

prominent place, mainly thanks to a growing demand for increasingly effective and less expensive treatments. In 2010, the market share occupied by Europe amounted to 2.2 billion dollars, equal to 30.6% of the global market. According to a report released by RNCOS, by 2014, that share is expected to increase by 19 percent annually. For the beginning of 2015 – when, according to Prof. Chris Mason of King's College London, Member of the ARM (Alliance for Regenerative Medicine), it should be the economic breakthrough for regenerative medicine, the market share occupied by Europe would be around 4.5 billion dollars.

Thanks to the introduction of new products on the European market and, in second stage, also on the world market, by the end of 2014 Italy could be awarded a share of the growing local market. The ability to cover even a modest 10% of the European market would result in a turnover estimated at 500 million euros. To seize this great opportunity, it must be taken at the earliest the appropriate strategic choices aimed at promoting research and industrial output at national level.

In this context, the project IRMI represents a valuable opportunity to enter the European market, in view of the increased competitiveness resulting from improvement of techniques, and from the introduction of a support structure that can either promote territorial competences by means of spreading internationally recognized, such as publications and congresses and facilitate the export of national technologies making pressure on appropriate policy levers.

*It is expected that the work done during the first 5 years of preliminary activities for the implementation of an essential infrastructure strategic relevance for SMEs, or for big companies seeking to invest in the sector. Established in the territory, in fact, the IRMI will facilitate the realization of innovative development projects that will attract private investment and facilitate the access of its partners to calls for national and international research, with the ultimate goal to reach an **economical self-sustaining**. The creation of such territorial identity, to be recognizable in the world for quality and excellence in production, becomes fundamental for large-scale expansion.*

- **Previste ricadute occupazionali**

Con riferimento al progetto presentato indicare:

- *le misure previste dal progetto volte ad incentivare l'attrazione e la formazione di giovani talenti e ricercatori;*
- *gli adeguamenti di organico di R&S e/o di produzione, salvaguardia di posti di lavoro, eventuali ricadute occupazionali indotte.*

Il progetto formativo allegato prevede percorsi formativi finalizzati sia alla creazione di nuove figure professionali, sia alla specializzazione in tecniche di medicina rigenerativa di laureati universitari.

Il progetto IRMI nelle sue articolazioni prevede:

- 1) il potenziamento delle strutture di biobanking con incremento delle disponibilità di prelievo, stoccaggio, processazione e distribuzione di cellule e tessuti umani. Considerate le 2 sedi individuate di Biobanking (Bologna LABORATORIO PROMETEO BCTM IOR e Milano Niguarda) il nuovo personale formato necessario è previsto in 10 unità di tecnici di laboratorio (addetti a prelievo e manipolazione), 8 laureati in scienze biologiche addetti alla manipolazione di cellule, alla gestione della qualità ed ai progetti di R&S, 2 laureati in ingegneria addetti alla robotizzazione delle procedure di manipolazione e 3 laureati in scienze economico-giuridiche per gli sviluppi regolatori. Tale personale opererà nell'ambito di progetti coordinati con le imprese partecipanti al progetto, come ATGrade, Cell FB e Lipostem.

- 2) Il progetto IRMI prevede il potenziamento dei laboratori di ricerca biologica, dei biomateriali e di nanotecnologia. Nei nuovi Laboratori di ricerca industriali ed accademici è verosimile prevedere l'assunzione di almeno 10 nuove figure professionali di laureati in materia biologica.
- 3) Le imprese ATGrade, Cell FB e Lipostem riconvertiranno almeno 4 degli attuali dipendenti degli enti pubblici aderenti in personale addetto a R&S e di produzione, con stabilizzazione di figure precarie.
- 4) Il CRM/CIDSTEM prevede un'attività di alta formazione per almeno 5 unità di personale, la stabilizzazione di almeno 2 unità di personale attualmente impegnate su altri progetti e la assunzione a tempo determinato di nuove figure professionali.
- 5) Il CIRI-SDV di Bologna assumerà 3 unità di personale: per la certificazione BPL; per la realizzazione degli elettrofilati; per le prove in vivo e in vitro.
- 6) Villa Maria Pia Hospital del Gruppo Villa Maria prevede tre livelli di sviluppo dell'occupazione. Il primo sul piano della ricerca; il secondo sul piano tecnico dei servizi connessi alla ricerca e alla realizzazione di prodotti su scala industriale, il terzo relativo ai servizi al cittadino. Mentre sui primi due è più difficile stimare con precisione la portata dello sviluppo occupazionale, la messa in funzione del servizio di Medicina Rigenerativa consente di ipotizzare ragionevolmente, a regime, la creazione diretta di una ventina di posti di lavoro tra personale infermieristico medico.
- 7) ABMedica amplierà l'attuale gruppo di ricerca dedicato alla medicina rigenerativa con almeno 2 unità
- 8) AB Tremila attiverà contratti di collaborazione e/o assunzione per almeno due unità
- 9) GENOMNIA rafforzerà il proprio organico, incrementato di recente già di due unità, con l'attivazione di nuove collaborazioni
- 10) Il coordinamento del progetto IRMI richiede l'assunzione di 3 unità di personale amministrativo laureato per tutte le procedure di gestione, verifica e rendicontazione da parte del capocordata dei finanziamenti, compresa la gestione del sito web.

The training project herein attached provides training courses for both the creation of new professional figures and specialization courses in regenerative medicine techniques for university graduates.

The IRMI project include:

- 1) *Strengthening of bio banking structures with increasing of sample's availability, storage, processing, and distribution of human tissues and cells. Given the 2 Bio banking locations identified (Bologna, LABORATORIO PROMETEO (BCTM) IOR and Milan, A.O. Niguarda), the new trained staff required is expected in 10 units of laboratory technicians (specialists in sampling and handling), 8 graduates in biological sciences involved in the manipulation of cells, quality management and R&S projects, 2 engineers graduates involved in robotization of manipulation's procedures and 3 law-economic sciences graduates for developments regulators. Such personnel will operate within the framework of coordinated projects with companies participating in the project, such as ATGrade, Cell FB and Lipostem.*
- 2) *The IRMI project foresees the strengthening of research, biomaterials and nanotechnology laboratories. In the new industrial and academic research laboratories is likely be taking at least 10 new professional figures of graduates in biomaterial.*
- 3) *ATGrade, Cell FB and Lipostem companies will reconvert at least 4 of the current employees of government agencies participating in the R&S and production, with stabilization of precarious figures.*
- 4) *CRM/CIDSTEM provides advanced education for at least 5 personnel unit, stabilization for at least 2 staff unit currently engaged on other projects and temporary recruitment of new professional figures.*
- 5) *Bologna CIRI-SDV will take 3 personnel unit for BPL certification, realization of electrospun; tests in vivo and in vitro.*
- 6) *Villa Maria Pia Hospital of Villa Maria Group provides three levels of employment growth. The first in the field of research; the second in the field of technical research-related services and production on an industrial scale; the third on services to the citizen. While on the first two is more difficult to estimate with precision the*

extent of occupational development, commissioning of Regenerative Medicine Service can reasonably assume the direct creation of jobs among nursing staff physician.

7) ABMedica will expand the current research group dedicated to regenerative medicine with at least 2 units

8) AB Tremila will activate cooperation agreements and / or employment for at least two units

9) GENOMNIA will strengthen its workforce, increased recently already have two units, with the activation of new collaborations

10) The IRMI project coordination requires 3 units of administrative personnel graduate for all management procedures, verification and accountability of the funds, including the management of the website.

- **Impatto atteso sul riposizionamento strategico delle imprese proponenti e del sistema socioeconomico delle Regioni di riferimento**

Evidenziare come il progetto può concorrere al riposizionamento strategico delle imprese proponenti e del sistema socioeconomico delle Regioni di riferimento

Le imprese proponenti subiranno un importante riposizionamento strategico a livello nazionale ed internazionale.

Le imprese ATGrade e Cell FB occuperanno una posizione dominante nel settore del biobanking di tessuti e cellule umane, offrendo la disponibilità di conservare ad uso autologo e/o allogenico cellule e tessuti da diverse fonti, come tessuto adiposo, polpa dentaria, placenta, membrana amniotica ed altro. Considerato il posizionamento strategico che le cellule staminali mesenchimali verranno ad assumere nelle future terapie cellulari, le imprese indicate potranno fornire il proprio contributo determinante a tale sviluppo.

L'impresa Lipostem, con il suo nuovo device per il prelievo e manipolazione meccanica di tessuto adiposo da liposuzione verrà ad acquisire un ruolo strategico dominante nelle procedure rigenerative one-step in chirurgia plastica, ortopedica, maxillo-facciale, vascolare, nella cura delle vasculopatie periferiche e delle neuropatie degenerative.

La Regione Lombardia, sede delle 3 imprese citate e del polo di biobanking di Niguarda potrà offrire alla popolazione regionale un servizio attualmente non garantito in nessuna realtà europea, con ciò potenziando il proprio ruolo di regione capofila per le Scienze della Vita. La disponibilità di cellule staminali mesenchimali per le terapie cellulari svilupperà in Regione una nuova strategia terapeutica con il passaggio dalla cura delle patologie croniche alla loro guarigione.

Già a partire dal 2008 la Regione Emilia-Romagna, in partenariato con Università ed Enti di ricerca operanti sul territorio, ha avviato l'attuale fase di realizzazione dei Tecnopoli coordinati in una Rete regionale per l'Alta Tecnologia, con lo scopo di estendere l'impegno verso la ricerca industriale nelle Università e negli Enti di ricerca e di radicare quindi in modo permanente all'interno delle Università e degli Enti la configurazione di strutture espressamente dedicate alla ricerca industriale con un impegno organizzato e specifico di risorse umane (nuovi giovani ricercatori e personale già strutturato) e di attrezzature scientifiche e tecniche. Strutture quindi con una sede propria, una chiara identità, autonomia scientifica, funzionale e organizzativa, continuità di impegno e riconoscibilità ed accessibilità per le imprese.

I Tecnopoli si delineano come una rete di infrastrutture dislocate in 10 sedi nel territorio dell'Emilia-Romagna che ospitano e organizzano attività, servizi e strutture per la ricerca industriale, lo sviluppo sperimentale ed il trasferimento tecnologico.

Promossi dalla Regione Emilia-Romagna assieme a Università di Bologna, Ferrara, Modena e Reggio Emilia, Parma, al Politecnico e all'Università Cattolica di Milano sede di Piacenza, il CNR, l'ENEA, l'Istituto Ortopedico Rizzoli, gli Enti locali dei diversi territori, i Tecnopoli:

- sono sede dei laboratori di ricerca industriale della Rete Alta Tecnologia dell'Emilia-Romagna dotati di moderne strumentazioni di ricerca e personale dedicato ad attività e servizi di interesse per le imprese della regione;

- includono strutture di servizio per attività di divulgazione, dimostrazione e informazione e strutture di accoglienza per le imprese, spazi per spin off innovativi e per laboratori di ricerca privati;
- promuovono l'incontro tra imprese e ricercatori e l'accesso ad attrezzature scientifiche all'avanguardia riducendo la distanza fra domanda e offerta di ricerca;
- fungono, ognuno per il proprio territorio, da porta di accesso a tutta la Rete Alta Tecnologia dell'Emilia-Romagna, favorendone anche la proiezione a livello nazionale e internazionale.
- I Tecnopoli potranno promuovere anche, con le aree destinate agli incubatori, lo spin off di nuove imprese da risultati di ricerca, attività formative per il trasferimento tecnologico.

Con la partecipazione al progetto l'Università di Modena, con l'impresa Holostem, e l'Università di Bologna ed il Laboratorio Prometeo BCTM IOR, facenti parte della Rete Alta Tecnologia nei tecnopoli di Bologna e Modena, confermeranno il successo dell'iniziativa regionale, consolidando il proprio ruolo centrale rispettivamente nelle terapie cellulari di tessuto corneale ed epiteliale, nella ricerca sulle malattie neurodegenerative con trasferimento traslazionale e sulla produzione e distribuzione di nuovi tessuti umani altamente innovativi. Al ruolo chiave della Regione Emilia Romagna nel settore "biomedicale" si affiancherà un'organizzazione a rete in grado di collaborare con il distretto biomedicale per la produzione di devices per la medicina rigenerativa ed aprire nuove prospettive di sviluppo industriale per imprese in grado di trasformare le professionalità ed i risultati della ricerca scientifica in start-up e nuovi prodotti sanitari. Oggi il distretto biomedicale RER è principalmente coinvolto nella produzione di dispositivi per la terapia delle malattie croniche (ematologiche, renali, respiratorie, ecc). Il trasferimento delle competenze acquisite e consolidate a livello mondiale nel settore della medicina rigenerativa può fornire un importante input di diversificazione al distretto, principalmente per quanto attiene alle PMI.

Villa Maria Pia Hospital (GVM research & care) intende sviluppare e definire il proprio posizionamento dalla fase di Clinical Trials sino all'erogazione ambulatoriale di Medicina Rigenerativa garantendo l'utilizzo dei prodotti esistenti e futuri nel mercato dei servizi al cittadino con particolare attenzione ai settori: ortopedico, oculistico, vulnologico, maxillo facciale, estetico, cardiologico, cardiovascolare, otorinolaringoiatrico.

Contemporaneamente, in linea con le direttive di sviluppo della Regione Piemonte e con gli obiettivi del Polo d'Innovazione bioPmed (Piemonte Innovation Cluster), Villa Maria Pia Hospital (GVM research & care) intende contribuire allo sviluppo dell'infrastruttura che, dai laboratori di ricerca sino agli ambulatori e agli ospedali, sia in grado di offrire un servizio complessivo di Medicina Rigenerativa al livello dei migliori Standard mondiali.

Nel dettaglio, come riportato da Polo dell'Innovazione bioPmed,....<<In Piemonte esiste un vero e proprio cluster per le Scienze della Vita con alcune caratteristiche che lo rendono particolarmente adatto a sviluppare questo settore, in particolare:

- Il livello internazionale delle pubblicazioni scientifiche prodotte nell'accademia in questi settori e la presenza di centri di ricerca allo stato dell'arte;
- La presenza di centri di formazione di eccellenza con il conseguente ottimo livello di preparazione dei laureati e la disponibilità di manodopera qualificata;
- Il basso costo comparato della ricerca;
- La disponibilità di agevolazioni per investimenti infrastrutturali nei Parchi scientifici, per attività di trasferimento tecnologico, per l'avvio di impresa ed in genere per lo sviluppo imprenditoriale;
- La presenza di centri di eccellenza (IRCC Candiolo, Bioindustry Park, alcuni Dipartimenti dell'Università di Torino, del Piemonte Orientale e del Politecnico di Torino, alcuni gruppi di ricerca del CNR), di grandi imprese di rilevanza internazionale (Bracco, Merck-Serono, Sorin Cardio, Diasorin, Sanofi, Takeda, ecc.) e di PMI in crescita (Creabilis, Bioman, CID, Nanovector, Aethia, Agrolabo, Procelltech, EPHORAN, Intrauma, DIPRO, Costantino, ecc.);
- La volontà da parte dell'accademia di valorizzare i risultati della ricerca attraverso la brevettazione e l'avvio di nuove imprese tramite la creazione di uffici specializzati e la realizzazione di incubatori focalizzati;
- La dinamicità del tessuto imprenditoriale che ha visto crescere negli ultimi anni il numero delle neo-imprese appartenenti a questi settori;
- La presenza di imprese di eccellenza assoluta in settori sinergici ed "integrabili", quali l'elettronico (Bio-elettronica, diagnostica, ecc), l'informatico (Bio-informatica), il meccanico (Bio-meccanica), l'ambientale, ecc.;

- La presenza di infrastrutture di livello internazionale e la presenza di un ambiente “favorevole” anche culturalmente alle attività di ricerca;
- La presenza di iniziative strategiche che puntano allo sviluppo delle attività legate a questi settori (bioPmed, Progetto Città della Salute, Iniziativa Discovery al Bioindustry Park, ecc.).>>

In particolare s'intende rafforzare strategicamente e approfondire la collaborazione con il Bioindustry Park Silvano Fumero, con le industrie ad esso collegate e con i dipartimenti dell'Università di Torino e del Politecnico di Torino che operano in questo settore e, nello specifico, con il Centro di Biotecnologie Molecolari (MBC) che dispone di 5000 mq di laboratori a cui si aggiungono 400 mq di Cell Factory con 4 camere sterili per la manipolazione cellulare e per la pratica clinica, completando il quadro delle strutture necessarie per avere un sistema completo.

Proponents companies will have a strategic repositioning at both national and international level.

ATGrade and Cell FB will occupy a dominant position in the field of tissue biobanking and human cells, offering the availability of allogeneic and/or autologous cells and tissues from different sources storing, such as adipose tissue, pulp, placenta, amniotic membrane and more. Considered the strategic positioning that mesenchymal stem cells will be taken in future cell therapy the companies listed below may provide its decisive contribution to this development.

Lipostem, with its new device for sampling and mechanical manipulation of adipose tissue by liposuction, will acquire a dominant strategic role in regenerative one-step procedures in plastic surgery, orthopaedic, Maxillofacial surgeons, vascular, in the treatment of peripheral vascular pathologies and degenerative Neuropathies.

Lombardy Region, place of the 3 companies mentioned below and of biobanking pole Niguarda Hospital, may offer to regional populations a service not currently guaranteed under any European reality, thereby strengthening its role as the leading region for life sciences. The availability of mesenchymal stem cells for cell therapy will develop in the region a new therapeutic strategy with the shift from treating chronic diseases to their healing.

Since 2008, Emilia Romagna region, in partnership with Universities and Research Institutions operating in the territory, has launched the current stage of realization of Technopoles in a coordinated regional network for high technology, with the aim of extending the commitment of industrial research in Universities and Research Institutions and then permanently entrench within Universities and Institutions set up specific structures devoted to forest industrial research with a organized and specific commitment of human resources (new young researchers and staff already structured) and scientific and technical equipment. The aims will be: Venue facilities with a clear scientific autonomy and identity, functional organization, accessibility and recognition for companies.

Technopoles outline as a network of facilities located in 10 locations within the Emilia Romagna. They host and organize activities, services and structures for industrial research, experimental development and technological transfer.

Promoted by the Emilia-Romagna Region alongside the University of Bologna, Ferrara, Modena and Reggio Emilia, Parma, the Politecnico and Università Cattolica of Milano Piacenza, CNR, ENEA, Istituto Ortopedico Rizzoli, local governments, Technopoles:

- *are venue of industrial research laboratories of Emilia Romagna high technology network with modern research instrumentation and dedicated personnel for activities and services, for local companies.*
- *include service facilities for dissemination, demonstration and information activities, and reception facilities for companies, spaces for innovative spin-off and private research laboratories;*
- *promote meeting between companies and researchers and foster access to vanguard scientific equipment reducing the gap between research supply and demand;*
- *act, each for its own territory, as a gateway to Emilia-Romagna high-tech network, even encouraging the projection on a national and international level;*
- *Technopoles can promote, with areas reserved for incubators, the spin-off new business initiatives from research results, training activities for technology transfer.*

Among its participation in the project, the University of Modena, with the company Holostem, the University of Bologna and the PROMETEO laboratory BTCM IOR, part of the high technology network in Technopolis of Bologna and Modena, will confirm the success of the regional initiative, strengthening their central role in cell therapy of epithelial and corneal tissue in research on neurodegenerative disease translational transfer and production and distribution of new human tissues highly innovative.

Next to the key role of the Emilia Romagna region in the "biomedical" sector it will join an organization in network able to collaborate with the biomedical district for the production of devices for regenerative medicine and it will open up new prospects for industrial development to enterprises that can transform the professionalism and the results of scientific research in start-ups and new health products.

Nowadays the RER biomedical district is mainly involved in the production of devices for the treatment of chronic diseases (haematological renal, respiratory, etc.). The transfer of competences acquired and consolidated worldwide in the field of regenerative medicine can provide an important input to the diversification, mainly with regard to SMEs.

Villa Maria Pia Hospital (GVM research & care) aims to develop and define their placement from the stage of Clinical Trials through to outpatient dispensing for regenerative medicine by ensuring the use of existing and future products in the market of services to citizens with special emphasis on the fields of orthopedics, ophthalmology, vulnologic, cosmetic, Maxillofacial, cardiology, cardiovascular, ENT.

In the meanwhile, in line with the directives of the development of the Piedmont region and with the objectives of the innovation bioPmed (Piedmont Innovation Cluster), Villa Maria Pia Hospital (GVM research & care) aims to contribute to the development of infrastructure, from research labs to the clinics and hospitals, and is able to offer a comprehensive service for regenerative medicine at the level of the highest world standards.

In detail, as reported by pole of Innovation bioPmed, << In Piedmont take place a real cluster for life sciences with some features that make it particularly suited to develop this sector, in particular:

- the international level of scientific publications produced by the Academy in these areas and the presence of research centers at the State-of-art;
- the presence of excellent training centres, that provide an excellent preparedness of graduates and the availability of skilled labour;
- the comparative low cost of research;
- the availability of incentives for infrastructure investment in science Parks, technology transfer activities, business start-up and entrepreneurial development;
- the presence of centers of excellence (IRCC Candiolo, Bioindustry Park, some departments of the University of Torino, Piemonte Orientale and Politecnico di Torino, some research groups of CNR), large companies of international significance (Bracco, Merck-Serono, Sorin Cardio, Diasorin, Sanofi, Takeda, etc.) and growing SMEs (Creabilis, Bioman, CID, Nanovector, Aethia, Agrolabo, Procelltech, EPHORAN, Intrauma, DIPRO, Costantino etc.);
- the willingness from the Academy to enhance the research results through patenting and starting new businesses by creating specialized offices and focused incubators;
- the dynamism of the entrepreneurial network that has seen growth, in recent years, the number of new companies in these sectors;
- the presence of absolute excellent companies in sectors that are synergistic and "integrate", such as electronic (Bio-electronics, Diagnostics, etc.), computer scientist (Bio-Informatics), mechanic (Bio-mechanics), environmental, etc.;
- the presence of world-class infrastructure and the presence of a "favorable" environment, also culturally, to research activities;
- the presence of strategic initiatives that aim at the development of activities related to these sectors (bioPmed, City Project, health Discovery Initiative at the Bioindustry Park, etc.).

In particular it means strategically strengthen and deepen cooperation with the Bioindustry Park Silvano Fumero, with industries linked to it and with the departments of the University of Torino and Politecnico di Torino operating in this sector and, specifically, with the Molecular Biotechnology Center (MBC) that has 5000 square meters of laboratories in addition to 400 sqm of Cell Factory with 4 cleanrooms for cell manipulation and for clinical practice, by completing the framework of necessary facilities to have a complete system.

5) ARTICOLAZIONE DEI COSTI AUTOGENERATA DA SIRIO

Dettaglio costi soggetti proponenti

ATgrade Srl

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lombardia	50.000	100.000	50.000	0	0	200.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lombardia	150.000	200.000	200.000	150.000		700.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Lombardia					150.000		150.000

ABmedica

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lombardia	233.077	140.000	50.000	66.923	10.000	470.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lombardia	111.538	50.000	20.000	33.462	5.000	22.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Lombardia	8.761	8.850	17.699	8.850	4.336	40.000	88.495

ABTremila

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lazio	65.385	40.000	15.000	19.615	-	140.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lazio	17.692	14.000	3.000	5.308	-	40.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Lazio	-	-	-	-	-	-	-

Chiesi Farmaceutici

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Emilia Romagna	100.000	-	33.000	50.000	147.000	330.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Emilia Romagna	25.500	-	4.500	12.500	2.500	45.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Emilia Romagna	10.000	1.000	-	-	2.500	11.500	25.000

CNR Lazio

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lazio	37.500	0	0	18.750	150.000	206.250
Campania	120.000	0	0	60.000	50.000	230000
Tot.	157.500	0	0	78.750	200000	436250

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lazio	0	0	0	0	43750	43750
Campania	0	0	0	0	20000	20000
Tot.	0	0	0	0	63750	63750

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Lazio	0	0	0	0	0	0	0
Campania	0	0	0	0	0	0	0
Tot.	0	0	0	0	0	0	0

Genomnia Srl

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lombardia	255.000	170.000	-	81.000	-	506.000
Campania	45.000	-	40.000	9.000	-	94.000
Totale	300.000	170.000	40.000	90.000	-	600.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Lombardia	78.462	70.000	-	24.923	-	173.385
Campania	13.846	-	10.000	2.769	-	26.615
Totale	92.308	70.000	10.000	27.692	-	200.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Lombardia	4.381	4.425	8.850	4.425	2.168	20.000	44.248
Campania	-	-	-	-	-	-	-
Totale	4.381	4.425	8.850	4.425	2.168	20.000	44.248

IGEA Srl

RICERCA INDUSTRIALE (€218.000)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Regione 1	120.000	3.000		60.000	35.000	218.000
Tot.	120.000	3.000		60.000	35.000	218.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€52.000)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Regione 1	32.000			15.000	5.000	52.000
Tot.	32.000			15.000	5.000	52.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Regione 1	0	0	0	0	0	0	0
Tot.	0	0	0	0	0	0	0

IOR /Prometeo

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Emilia Romagna	95.000	10.000	30.000	30.000	24.000	189.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Emilia Romagna	211.000	25.000	90.000	50.000	43.000	419.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Emilia Romagna	2.000	2.000	10.000	-	8.000	-	22.000

Università Bologna

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Emilia Romagna	57.500	30.000	10.000	17.500	30.000	145.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Emilia Romagna	75.000	7.500	10.000	35.000	49.500	177.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Emilia Romagna	9.000	10.000	30.000		10.000	25.000	84.000

Università Modena

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Emilia Romagna	76.000			24.000	89.000	187.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Emilia Romagna	50.000			15.000	58.000	125.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Emilia Romagna	20.000	34.000	10.000			200.000	84.000

Villa Maria Hospital Srl

RICERCA INDUSTRIALE (€)							
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Fabbricati e terreni	Altri costi di esercizio	Totale
Piemonte	300.000	855.000	300.000	100.000	1.400.000	45.000	3.000.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Piemonte	-	-	-	-	-	-

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Piemonte	20.000	5.000	250.000	20.000	85.000	20.000	400.000

Politecnico di Torino

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Piemonte	76.000,00	18.000,00	6.000,00	29.600,00	18.400,00	148.000,00

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
Piemonte	132.000,00	28.000,00	6.000,00	47.200,00	22.800,00	236.000,00

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
Piemonte	50.000,00	17.000,00					67.000,00

Manatee Srl

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
LOMBARDIA		10.000	10.000			20.000

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
LOMBARDIA	20.000	25.000	10.000	5.000		60.000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
LOMBARDIA					20.000		20.000

ISMETT

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
sicilia	100.000,00	70.000,00		30.000,00	150.000,00	350.000,00

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
sicilia	80.000,00	20.000,00		20.000,00	80.000,00	200.000,00

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
sicilia						50.000,00	50.000,00

Università di Milano

RICERCA INDUSTRIALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
sicilia	120.000	40.000	20.000	20.000		200.000,00

SVILUPPO SPERIMENTALE (€)						
	Spese di personale	Costi degli strumenti e delle	Costi dei servizi di	Spese generali	Altri costi di esercizio	Totale
	50.000	10.000	20.000			80000

FORMAZIONE (€)							
	Costo del personale docente	Spesa di trasferta del personale	Altre spese correnti	Strumenti e attrezzature	Costi dei servizi di consulenza	Costi dei destinatari	Totale
sicilia	10.000,00	10.000,00					20.000,00

- Altri costi

Dettaglio sulle singole voci di costo

6) REQUISITI PER LA CONCESSIONE DI ULTERIORI AGEVOLAZIONI *(solo se richieste)*

Elementi qualificanti del progetto ai fini della concessione di maggiorazioni:

presenza di soggetti appartenenti alle Regioni PON Sicilia e Campania con possibilità di accesso ai fondi aggiuntivi per le Regioni Convergenza.

ANNEX I

BIBLIOGRAFIA STATE OF THE ART

LA MEDICINA RIGENERATIVA

- 1) Daar AS. The World Health Organization resolution on human organ transplantation: will it result in action? Transplantation. 2005 Mar 27;79(6):641-2.
- 2) Greenwood HL, Singer PA, Downey GP, Martin DK, Thorsteinsdóttir H, Daar AS. Regenerative medicine and the developing world. PLoS Med. 2006 Sep;3(9):e381.
- 3) Directorate General for Health & Consumers. Healthy ageing: keystone for a sustainable Europe. Public document, 2007.
- 4) World Economic Forum. The Global Economic Burden of Non-communicable Diseases, 2011.

L'INGEGNERIA DEI TESSUTI E QUADRO NORMATIVO

- Legge 91/99,
- Direttiva 2004/23/CE.
- Direttiva 2006/17/CE.
- Direttiva 2006/86/CE).
- Decreto legislativo 06 novembre 2007, n. 191.
- Decreto legislativo 25 gennaio 2010, n. 16.
- Regolamento CE 1394/2007
- Direttiva 2009/120/CE del 14 settembre 2009
- Direttiva 2001/83/CE

LA MEDICINA RIGENERATIVA NEL TESSUTO EPITELIALE

- 1) Barrandon Y. and Green H. (1987). Three clonal types of keratinocyte with different capacities for multiplication. Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 Apr;84(8):2302-6.
- 2) Romagnoli G., De Luca M., Faranda F., Bandelloni R., Franzi A.T., Cataliotti F. and Cancedda R. (1990). Treatment of posterior hypospadias by the autologous graft of cultured urethral epithelium. N. Engl. J. Med. 323:527- 530.
- 3) De Luca M., Tamura R.N., Kajiji S., Bondanza S., Rossino P., Cancedda R., Marchisio P.C. and Quaranta V. (1990). Polarized integrin mediates human keratinocyte adhesion to basal lamina. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 87:6888-6892.
- 4) Marchisio P.C., Tamura R.N., Bondanza S., Cremona O., Cancedda R., Quaranta V. and De Luca M. (1991). Polarized expression of integrin receptors (a6b4, a2b1, a3b1, avb5) and their relationship with the cytoskeleton and basement membrane matrix in cultured human keratinocytes. J. Cell Biol., 112:761-773.
- 5) Zambruno G., Marchisio P. C., Marconi A., Vaschieri C., Melchiori A., Giannetti A. and De Luca M. (1995) Transforming growth factor- β 1 modulates β 1 and β 5 integrin receptors and induces the de novo expression of the avb6 heterodimer in normal human keratinocytes: implications for wound healing. J. Cell Biol. 129:853-865.
- 6) Mather M. B., Ferrari G., Dellambra E., Mavilio, F., Cancedda R. and De Luca M. (1996) Clonal analysis of stably transduced human epidermal stem cells in culture. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:10371-10376.
- 7) Pellegrini G., Traverso C., Franzi A.T., Zingirian M., Cancedda R. and De Luca M. (1997) Long term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. The Lancet. 349:990- 993.

- 8) Dellambra E., Vailly J., Pellegrini G., Bondanza S., Golisano O., Zambruno G., Meneguzzi G. and De Luca M. (1998) Corrective transduction of human epidermal stem cells in laminin-5-dependent Junctional Epidermolysis Bullosa. *Hum. Gene Ther.* 9: 1359-1370.
- 9) Pellegrini, G., O. Golisano, P. Paterna, A. Lambiase, S. Bonini, P. Rama and M. De Luca. (1999) Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface. *J. Cell Biol.* 145: 769-782.
- 10) Pellegrini, G., Ranno, R., Stracuzzi, G., Bondanza, S., Guerra, L., Zambruno, G., Micali, G. and De Luca M. (1999) The control of epidermal stem cells (holoclones) in the treatment of massive full-thickness burns with autologous keratinocytes cultured on fibrin. *Transplantation.* 68: 868-879.
- 11) Dellambra E., Golisano O., Bondanza S., Siviero E., Molinari M., Lacal P., D'Atri S. and De Luca M. (2000) Down regulation of 14-3-3s prevents clonal evolution and leads to immortalization of primary human keratinocytes. *J. Cell Biol.* 149:1117-1130.
- 12) Guerra L., Capurro S., Melchi F., Primavera G., Bondanza S., Cancedda R., Luci A., De Luca M. and Pellegrini G. (2000) Treatment of "stable" vitiligo by timed surgery and transplantation of cultured epidermal autografts. *Arch. Dermatol.* 136:1380-1389.
- 13) Pellegrini G., Dellambra E., Golisano O., Martinelli E., Fantozzi I., Bondanza S., Ponzin D., McKeon F. and De Luca M. (2001) p63 identifies human keratinocyte stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98:3156- 3161.
- 14) Rama P., Bonini S., Lambiase A., Golisano O., Paterna P., De Luca M. and Pellegrini G. (2001) Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency. *Transplantation* 72:1478-1485.
- 15) Guerra L., Primavera G., Raskovic D., Pellegrini G., Golisano, O., Bondanza S., Kuhn S., Piazza P., Luci A., Atzori F., and De Luca M. (2004) Permanent repigmentation of piebaldism by Erbium:YAG laser and autologous cultured epidermis. *Br. J. Dermatol.* 150:715-721.
- 16) Di Iorio E., Barbaro V., Ruzza A., Ponzin D., Pellegrini G. and De Luca M. (2005). Isoforms of DNP63 and the migration of ocular limbal cells in human corneal regeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102:9523- 9528.
- 17) De Luca M., Pellegrini G. and Green H. (2006) Regeneration of squamous epithelia from stem cells of cultured grafts. *Regenerative Med.* 1:45- 57.
- 18) Mavilio F., Pellegrini G., Ferrari S., Di Nunzio F., Di Iorio E., Recchia A., Maruggi G., Ferrari G., Bonini C., Capurro S., Conti A., Magnoni C., Giannetti A. and De Luca M. (2006) Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nature Med.* 12:1397- 1402.
- 19) Barbaro V., Testa A., Di Iorio E., Mavilio F., Pellegrini G. and De Luca M. (2007) C/EBPd regulates cell cycle and self- renewal of human limbal stem cells. *J. Cell Biol.* 177:1037-1049.
- 20) Pellegrini G., Rama P., Mavilio F. and De Luca M. (2009). Epithelial stem cells in corneal regeneration and epidermal gene therapy. *J. Pathol.* 217(2):217-28.
- 21) Rama P., Matuska S., Paganoni G., Spinelli A., De Luca M. and Pellegrini G. (2010). A long-term study of corneal regeneration and cultures of limbal stem cells. *N. Engl. J. Med.* 363:147-155.
- 22) Pellegrini G., Rama P. and De Luca M. (2011). Vision from the right stem. *Trends Mol. Med.* 17(1):1-7.

SCAFFOLD BIOMIMETICI

- S. C.Owen., M. S. Shoichet. Design of three-dimensional biomimetic scaffolds. *JBMRA* 94A (4): 1321-1331, 2010
- Agarwal, S. Wendorff, J.H. and Greiner, A. Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer* 49: 5603-5621, 2008.
- Ren, Y.J., Zhang, H., Huang, H., Wang, X.M., Zhou, Z.Y., Cui, F.Z., An Y.H. In vitro behavior of neural stem cells in response to different chemical functional groups. *Biomaterials* 30:1036-1044, 2009.
- Tang Y, Singh J. Biodegradable and biocompatible thermosensitive polymer based injectable implant for controlled release of protein. *Int J Pharm.* 365 (1-2):34-43, 2009.

- Fedorovich N, Alblas J, Joost R. de Wijn, Wim E. Hennink, Ab J. Verbout, and Wouter J.A. Dhert. Hydrogels as Extracellular Matrices for Skeletal Tissue Engineering: State-of-the-Art and Novel Application in Organ Printing. *Tissue Engineering*, 13(8): 1905-1925, 2007,.
- Rechichi A, Ciardelli G, D'Acunto M, Vozzi G, Giusti P. Degradable block polyurethanes from nontoxic building blocks as scaffold materials to support cell growth and proliferation. *JBMRA*, 84 (4):847-855,2007
- Scott A. Guelcher. Tissue Biodegradable Polyurethanes: Synthesis and Applications in Regenerative Medicine. [Tissue Eng Part B Rev](#) ,14(1): 3-17, 2008.
- Park M.R., Chun C.J., Ahn S.W., Ki M.H., Cho C.S., Song S.C. Cationic and thermosensitive protamine conjugated gels for enhancing sustained human growth hormone delivery. *Biomaterials* 31(6):1349–1359, 2010.

LA RIGENERAZIONE TRAMITE CELLULE iPS

1. Takahashi K and Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblasts cultures by defined factors. *Cell*. 126:663-76, 2006.
2. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, and Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 131:861-72, 2007.
3. Hanna J et al. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science* 318: 1920-3, 2007.
4. Wernig M et al. A drug-inducible transgenic system for direct reprogramming of multiple somatic cell types. *Nat. Biotechnol.* 26: 916-24, 2008.
5. Park IH et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell*. 134:877-86, 2008
6. Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, Loh YH, Li H, Lau F, Ebina W, Mandal PK, Smith ZD, Meissner A, Daley GQ, Brack AS, Collins JJ, Cowan C, Schlaeger TM, and Rossi DJ. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell*. 7:1-13, 2010.

L'ANGIOGENESI DELLA RIGENERAZIONE TISSUTALE

- Arnold, L., A. Henry, et al. (2007). "Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis." *J Exp Med* 204(5): 1057-1069.
- Bentzinger, C. F., J. von Maltzahn, et al. (2010). "Extrinsic regulation of satellite cell specification." *Stem Cell Res Ther* 1(3): 27.
- Brunelli, S. and P. Rovere-Querini (2008). "The immune system and the repair of skeletal muscle." *Pharmacol Res* 58(2): 117-121.
- Chazaud, B., C. Sonnet, et al. (2003). "Satellite cells attract monocytes and use macrophages as a support to escape apoptosis and enhance muscle growth." *J Cell Biol* 163(5): 1133-1143.
- Minchiotti, G. (2005). "Nodal-dependant Cripto signaling in ES cells: from stem cells to tumor biology." *Oncogene* 24(37): 5668-5675.
- Parisi, S., D. D'Andrea, et al. (2003). "Nodal-dependent Cripto signaling promotes cardiomyogenesis and redirects the neural fate of embryonic stem cells." *J Cell Biol* 163(2): 303-314.
- Tajbakhsh, S. (2009). "Skeletal muscle stem cells in developmental versus regenerative myogenesis." *J Intern Med* 266(4): 372-389.

UTILIZZO DI PICCOLE MOLECOLE PER REGOLARE LA PROLIFERAZIONE E IL DIFFERENZIAMENTO DI CELLULE STAMINALI

Desbordes, S. C., D. G. Placantonakis, et al. (2008). "High-throughput screening assay for the identification of compounds regulating self-renewal and differentiation in human embryonic stem cells." *Cell Stem Cell* 2(6): 602-612.

Rubin, L. L. (2008). "Stem cells and drug discovery: the beginning of a new era?" *Cell* 132(4): 549-552.

Wagers, A. J. (2012). "The stem cell niche in regenerative medicine." *Cell Stem Cell* 10(4): 362-369.

Cossu, G., & Bianco, P. (2003). Mesoangioblasts are vascular progenitors for extravascular mesodermal tissues. *Current Opinion in Genetics & Development*, 13(5), 537-542. doi:10.1016/j.gde.2003.08.001

Cowan, C. A., Atienza, J., Melton, D. A., & Eggan, K. (2005). Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science (New York, N.Y.)*, 309(5739), 1369-1373. doi:10.1126/science.1116447

Meivar-Levy, I., & Ferber, S. (2010). Adult cell fate reprogramming: converting liver to pancreas. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 636, 251-283. doi:10.1007/978-1-60761-691-7_16

Sacco, F., Gherardini, P. F., Paoluzi, S., Saez-Rodriguez, J., Helmer-Citterich, M., Ragnini-Wilson, A., Castagnoli, L., et al. (2012). Mapping the human phosphatome on growth pathways. *Molecular Systems Biology*, 8, 1-15. doi:10.1038/msb.2012.36

Sampaolesi, M., Blot, S., D'Antona, G., Granger, N., Tonlorenzi, R., Innocenzi, A., Mognol, P., et al. (2006). Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs. *Nature*, 444(7119), 574-579. doi:10.1038/nature05282

Tagliafico, E., Brunelli, S., Bergamaschi, A., De Angelis, L., Scardigli, R., Galli, D., Battini, R., et al. (2004). TGFbeta/BMP activate the smooth muscle/bone differentiation programs in mesoangioblasts. *Journal of Cell Science*, 117(Pt 19), 4377-4388. doi:10.1242/jcs.01291

Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131(5), 861-872. doi:10.1016/j.cell.2007.11.019

LA RIGENERAZIONE MEDIANTE L'UTILIZZO DI CELLULE STAMINALI DI ORIGINE ADIPOSA

1. Abderrahim-Ferkoune, A.; Bezy, O.; Astri-Roques, S.; Elabd, C.; Ailhaud, G.; Amri, E. Z. Transdifferentiation of preadipose cells into smooth muscle-like cells: role of aortic carboxypeptidase-like protein. *Exp Cell Res* 293(2):219-228; 2004.
2. Banfi, A.; Bianchi, G.; Galotto, M.; Cancedda, R.; Quarto, R. Bone marrow stromal damage after chemo/radiotherapy: occurrence, consequences and possibilities of treatment. *Leuk Lymphoma* 42(5):863-870; 2001.
3. Bonaros, N.; Rauf, R.; Schachner, T.; Laufer, G.; Kocher, A. Enhanced cell therapy for ischemic heart disease. *Transplantation* 86(9):1151-1160; 2008.
4. Burks, C. A.; Bundy, K.; Fotuhi, P.; Alt, E. Characterization of 75:25 poly(lactide-co-epsilon-caprolactone) thin films for the endoluminal delivery of adipose-derived stem cells to abdominal aortic aneurysms. *Tissue Eng* 12(9):2591-2600; 2006.
5. Cao, Y.; Sun, Z.; Liao, L.; Meng, Y.; Han, Q.; Zhao, R. C. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 332(2):370-379; 2005.
6. Caplan, A. I. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol* 213(2):341-347; 2007.
7. Caplan, A. I.; Dennis, J. E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem* 98(5):1076-1084; 2006.
8. Cavallari, G.; Olivi, E.; Bianchi, F.; Neri, F.; Foroni, L.; Valente, S.; Manna, G. L.; Nardo, B.; Stefoni, S.; Ventura, C. Mesenchymal stem cells and islet co-transplantation in diabetic rats: improved islet graft revascularization and function by human adipose tissue-derived stem cells preconditioned with natural molecules. *Cell Transplant*. 2012

Apr 2. [Epub ahead of print]

9. Corre, J.; Barreau, C.; Cousin, B.; Chavoin, J. P.; Caton, D.; Fournial, G.; Penicaud, L.; Casteilla, L.; Laharrague, P. Human subcutaneous adipose cells support complete differentiation but not self-renewal of hematopoietic progenitors. *J Cell Physiol* 208(2):282-288; 2006.
10. D'Ippolito, G.; Schiller, P. C.; Ricordi, C.; Roos, B. A.; Howard, G. A. Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow. *J Bone Miner Res* 14(7):1115-1122; 1999.
11. De Ugarte, D. A.; Alfonso, Z.; Zuk, P. A.; Elbarbary, A.; Zhu, M.; Ashjian, P.; Benhaim, P.; Hedrick, M. H.; Fraser, J. K. Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol Lett* 89(2-3):267-270; 2003.
12. De Ugarte, D. A.; Morizono, K.; Elbarbary, A.; Alfonso, Z.; Zuk, P. A.; Zhu, M.; Drago, J. L.; Ashjian, P.; Thomas, B.; Benhaim, P.; Chen, I.; Fraser, J.; Hedrick, M. H. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs* 174(3):101-109; 2003.
13. Erickson, G. R.; Gimble, J. M.; Franklin, D. M.; Rice, H. E.; Awad, H.; Guilak, F. Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 290(2):763-769; 2002.
14. Fraser, J. K.; Schreiber, R.; Strem, B.; Zhu, M.; Alfonso, Z.; Wulur, I.; Hedrick, M. H. Plasticity of human adipose stem cells toward endothelial cells and cardiomyocytes. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 3 Suppl 1:S33-S37; 2006.
15. Gagnon, A.; Abaiian, K. J.; Crapper, T.; Layne, M. D.; Sorisky, A. Downregulation of aortic carboxypeptidase-like protein during the early phase of 3T3-L1 adipogenesis. *Endocrinology* 143(7):2478-2485; 2002.
16. Gimble, J. M.; Guilak, F. Differentiation potential of adipose derived adult stem (ADAS) cells. *Curr Top Dev Biol* 58:137-160; 2003.
17. Halvorsen, Y. C.; Wilkison, W. O.; Gimble, J. M. Adipose-derived stromal cells—their utility and potential in bone formation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24(suppl 4):S41-S44; 2000.
18. Halvorsen, Y. D.; Bond, A.; Sen, A.; Franklin, D. M.; Lea-Currie, Y. R.; Sujkowski, D.; Ellis, P. N.; Wilkison, W. O.; Gimble, J. M. Thiazolidinediones and glucocorticoids synergistically induce differentiation of human adipose tissue stromal cells: biochemical, cellular, and molecular analysis. *Metabolism* 50(4):407-413; 2001.
19. Halvorsen, Y. D.; Franklin, D.; Bond, A. L.; Hitt, D. C.; Auchter, C.; Boskey, A. L.; Paschalis, E. P.; Wilkison, W. O.; Gimble, J. M. Extracellular matrix mineralization and osteoblast gene expression by human adipose tissue-derived stromal cells. *Tissue Eng* 7(6):729-741; 2001.
20. Huang, J. I.; Beanes, S. R.; Zhu, M.; Lorenz, H. P.; Hedrick, M. H.; Benhaim, P. Rat extramedullary adipose tissue as a source of osteochondrogenic progenitor cells. *Plast Reconstr Surg* 109(3):1033-1041; 2002.
21. Jack, G. S.; Almeida, F. G.; Zhang, R.; Alfonso, Z. C.; Zuk, P. A.; Rodriguez, L. V. Processed lipoaspirate cells for tissue engineering of the lower urinary tract: implications for the treatment of stress urinary incontinence and bladder reconstruction. *J Urol* 174(5):2041-2045; 2005.
22. Jeon, E. S.; Moon, H. J.; Lee, M. J.; Song, H. Y.; Kim, Y. M.; Bae, Y. C.; Jung, J. S.; Kim, J. H. Sphingosylphosphorylcholine induces differentiation of human mesenchymal stem cells into smooth-muscle-like cells through a tgf- β -dependent mechanism. *J Cell Sci* 119(Pt23):4994-5005; 2006.
23. Kang, S. K.; Putnam, L. A.; Ylostalo, J.; Popescu, I. R.; Dufour, J.; Belousov, A.; Bunnell, B. A. Neurogenesis of rhesus adipose stromal cells. *J Cell Sci* 117(Pt18):4289-4299; 2004.
24. Kassem, M.; Abdallah, B. M. Human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells: biological characteristics and potential role in therapy of degenerative diseases. *Cell Tissue Res* 331(1):157-163; 2008.
25. Katz, A. J.; Zang, Z.; Shang, H.; Chamberlain, A. T.; Berr, S. S.; Roy, R. J.; Khurgel, M.; Epstein, F. H.; French, B. A. Serial MRI assessment of human adipose-derived stem cells (HASCS) in a murine model of reperfused myocardial infarction. *Adipocytes* 2(1):1-10; 2006.
26. Kinnaird, T.; Stabile, E.; Burnett, M. S.; Shou, M.; Lee, C. W.; Barr, S.; Fuchs, S.; Epstein, S. E. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation* 109(12):1543-1549; 2004.
27. Krampera, M.; Marconi, S.; Pasini, A.; Galie, M.; Rigotti, G.; Mosna, F.; Tinelli, M.; Lovato, L.; Anghileri, E.; Andreini, A.; Pizzolo, G.; Sbarbati, A.; Bonetti, B. Induction of neural-like differentiation in human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, fat, spleen and thymus. *Bone* 40(2):382-390; 2007.

28. Lee, J. H.; Kemp, D. M. Human adipose-derived stem cells display myogenic potential and perturbed function in hypoxic conditions. *Biochem Biophys Res Commun* 341(3):882-888; 2006.
29. Lee, W. C.; Maul, T. M.; Vorp, D. A.; Rubin, J. P.; Marra, K. G. Effects of uniaxial cyclic strain on adipose-derived stem cell morphology, proliferation, and differentiation. *Biomech Model Mechanobiol* 6(4):265-273; 2007.
30. Lee, W. C.; Rubin, J. P.; Marra, K. G. Regulation of alpha-smooth muscle actin protein expression in adipose-derived stem cells. *Cells Tissues Organs* 183(2):80-86; 2006.
31. Mangi, A. A.; Noiseux, N.; Kong, D.; He, H.; Rezvani, M.; Ingwall, J. S.; Dzau, V. J. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. *Nat Med* 9(9):1195-201; 2003.
32. Miranville, A.; Heeschen, C.; Sengenès, C.; Curat, C. A.; Busse, R.; Bouloumie, A. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* 110(3):349-355; 2004.
33. Miyahara, Y.; Nagaya, N.; Kataoka, M.; Yanagawa, B.; Tanaka, K.; Hao, H.; Ishino, K.; Ishida, H.; Shimizu, T.; Kangawa, K.; Sano, S.; Okano, T.; Kitamura, S.; Mori, H. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nat Med* 12(4):459-465; 2006.
34. Mizuno, H.; Zuk, P. A.; Zhu, M.; Lorenz, H. P.; Benhaim, P.; Hedrick, M. H. Myogenic differentiation by human processed lipoaspirate cells. *Plast Reconstr Surg* 109(1):199-209; 2002.
35. Muschler, G. F.; Nitto, H.; Boehm, C. A.; Easley, K. A. Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. *J Orthop Res* 19(1):117-125; 2001.
36. Nakagami, H.; Morishita, R.; Maeda, K.; Kikuchi, Y.; Ogihara, T.; Kaneda, Y. Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy. *J Atheroscler Thromb* 13(2):77-81; 2006.
37. Planat-Benard, V.; Silvestre, J. S.; Cousin, B.; Andre, M.; Nibelink, M.; Tamarat, R.; Clergue, M.; Manneville, C.; Saillan-Barreau, C.; Duriez, M.; Tedgui, A.; Levy, B.; Penicaud, L.; Casteilla, L. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation* 109(5):656-663; 2004.
38. Rehman, J.; Traktuev, D.; Li, J.; Merfeld-Clauss, S.; Temm-Grove, C. J.; Bovenkerk, J. E.; Pell, C. L.; Johnstone, B. H.; Consideine, R. V.; March, K. L. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 109(10):1292-1298; 2004.
39. Roseti, L.; Serra, M.; Tigani, D.; Brognara, I.; Lopriore, A.; Bassi, A.; Fornasari, P. M. Cell manipulation in autologous chondrocyte implantation: from research to cleanroom. *Chir Organi Mov* 91(3):147-151; 2008
40. Safford, K. M.; Hicok, K. C.; Safford, S. D.; Halvorsen, Y. D.; Wilkison, W. O.; Gimble, J. M.; Rice, H. E. Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 294(2):371-379; 2002.
41. Safford, K. M.; Rice, H. E. Stem cell therapy for neurologic disorders: therapeutic potential of adipose-derived stem cells. *Curr Drug Targets* 6(1):57-62; 2005.
42. Safford, K. M.; Safford, S. D.; Gimble, J. M.; Shetty, A. K.; Rice, H. E.; Characterization of neuronal/glial differentiation of murine adipose-derived adult stromal cells. *Exp Neurol* 187(2):319-328; 2004.
43. Sen, A.; Lea-Currie, Y. R.; Sujkowska, D.; Franklin, D. M.; Wilkison, W.O.; Halvorsen, Y.D.; Gimble, J. M. Adipogenic potential of human adipose derived stromal cells from multiple donors is heterogeneous. *J Cell Biochem* 81(2):312-319; 2001.
44. Sengenès, C.; Lolmede, K.; Zakaroff-Girard, A.; Busse, R.; Bouloumie, A. Preadipocytes in the human subcutaneous adipose tissue display distinct features from the adult mesenchymal and hematopoietic stem cells. *J Cell Physiol* 205(1):114-122; 2005.
45. Seo, M. J.; Suh, S. Y.; Bae, Y. C.; Jung, J. S. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 328(1):258-264; 2005.
46. Song, Y. H.; Gehmert, S.; Sadat, S.; Pinkernell, K.; Bai, X.; Matthias, N.; Alt, E. VEGF is critical for spontaneous differentiation of stem cells into cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 354(4):999 -1003; 2007.
47. Strem, B. M.; Hicok, K. C.; Zhu, M.; Wulur, I.; Alfonso, Z.; Schreiber, R. E.; Fraser, J. K.; Hedrick, M. H. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med* 54(3):132-141; 2005.
48. Strem, B. M.; Zhu, M.; Alfonso, Z.; Daniels, E. J.; Schreiber, R.; Beygui, R.; MacLellan, W. R.; Hedrick, M. H.; Fraser, J. K. Expression of cardiomyocytic markers on adipose tissue-derived cells in a murine model of acute

myocardial injury. *Cytotherapy* 7(3):282-291; 2005.

49. Talens-Visconti, R.; Bonora, A.; Jover, R.; Mirabet, V.; Carbonell, F.; Castell, J. V.; Gomez-Lechon, M. J. Hepatogenic differentiation of human mesenchymal stem cells from adipose tissue in comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *World J Gastroenterol* 12(36):5834-5845; 2006.
50. Talens-Visconti, R.; Bonora, A.; Jover, R.; Mirabet, V.; Carbonell, F.; Castell, J. V.; Gomez-Lechon, M. J. Human mesenchymal stem cells from adipose tissue: differentiation into hepatic lineage. *Toxicol In Vitro* 21(2):324-329; 2007.
51. Timper, K.; Seboek, D.; Eberhardt, M.; Linscheid, P.; Christ-Crain, M.; Keller, U.; Muller, B.; Zulewski, H. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagons expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 341(4):1135-1140; 2006.
52. Tremolada, C.; Palmieri, G.; Ricordi, C. Adipocyte transplantation and stem cells: plastic surgery meets regenerative medicine. *Cell Transplant* 19(10):1217-1223; 2010
53. Ventura, C.; Cantoni, S.; Bianchi, F.; Lionetti, V.; Cavallini, C.; Scarlata, I.; Foroni, L.; Maioli, M.; Bonsi, L.; Alviano, F.; Fossati, V.; Bagnara, G. P.; Pasquinelli, G.; Recchia, F. A.; Perbellini, A. Hyaluronan mixed esters of butyric and retinoic Acid drive cardiac and endothelial fate in term placenta human mesenchymal stem cells and enhance cardiac repair in infarcted rat hearts. *J Biol Chem* 282(19):14243-4252; 2007.
54. Wickham, M. Q.; Erickson, G. R.; Gimble, J. M.; Vail, T. P.; Guilak, F. Multipotent stromal cells derived from the infrapatellar fat pad of the knee. *Clin Orthop Relat Res* 412:196-212; 2003.
55. Yamada, Y.; Wang, X. D.; Yokoyama, S.; Fukuda, N.; Takakura, N. Cardiac progenitor cells in brown adipose tissue repaired damaged myocardium. *Biochem Biophys Res Commun* 342(2):662-670; 2006.
56. Zuk, P. A.; Zhu, M.; Ashjian, P.; De Ugarte, D. A.; Huang, J. I.; Mizuno, H.; Alfonso, Z. C.; Fraser, J. K.; Benhaim, P.; Hedrick, M. H. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 13(12):4279-4295; 2002.
57. Zuk, P. A.; Zhu, M.; Mizuno, H.; Huang, J.; Futrell, J. W.; Katz, A. J.; Benhaim, P.; Lorenz, H. P.; Hedrick, M. H. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 7(2):211-228; 2001.

MEDICINA RIGENERATIVA IN CAMPO NEUROLOGICO

- Aboody K, Capela A, Niazi N, Stern JH, Temple S. Translating stem cell studies to the clinic for CNS repair: current state of the art and the need for a Rosetta Stone. *Neuron*. 2011, 70:597-613.
- Walker PA, Aroom KR, Jimenez F, Shah SK, Harting MT, Gill BS, Cox CS Jr. Advances in progenitor cell therapy using scaffolding constructs for central nervous system injury. *Stem Cell Rev*. 2009, 5:283-300.
- Chen SS, Fitzgerald W, Zimmerberg J, Kleinman HK, Margolis L. Cell-cell and cell-extracellular matrix interactions regulate embryonic stem cell differentiation. *Stem Cells* 2007; 25:553-561.
- Shichinohe H, Kuroda S, Lee JB, Nishimura G, Yano S, Seki T, Ikeda J, Tamura M, Iwasaki Y. In vivo tracking of bone marrow stromal cells transplanted into mice cerebral infarct by fluorescence optical imaging. *Brain Res Brain Res Protoc*. 2004, 13:166-75.
- Sykova E, Jendelov P, Urdzikova L, Lesny P, Hejcl A. Bone marrow stem cells and polymer hydrogels--two strategies for spinal cord injury repair. *Cell Mol Neurobiol*. 2006, 26:1113-29.
- Prabhakar S, Muthaian R, Chhabra R, Anand A. Analysis of homing potential of marrow-derived mononuclear cells in an experimentally-induced brain stroke mouse model. *Brain Inj*. 2010, 24:1485-90.
- Zhang XM, Du F, Yang D, Yu CJ, Huang XN, Liu W, Fu J. Transplanted bone marrow stem cells relocate to infarct penumbra and co-express endogenous proliferative and immature neuronal markers in a mouse model of ischemic cerebral stroke. *BMC Neurosci*. 2010 Oct 25;11:138.
- Cicchetti F, Soulet D, Freeman TB. Neuronal degeneration in striatal transplants and Huntington's disease: potential mechanisms and clinical implications. *Brain*. 2011,134:641-52.
- Nógrádi A, Pajer K, Márton G. The role of embryonic motoneuron transplants to restore the lost motor function of the injured spinal cord. *Ann Anat*. 2011, 193:362-70.

- Mortazavi MM, Verma K, Tubbs RS, Theodore N. Cellular and paracellular transplants for spinal cord injury: a review of the literature. *Childs Nerv Syst.* 2011, 27:237-43.
- Ratajczak MZ, Kucia M, Jadczyk T, Greco NJ, Wojakowski W, Tendera M, Ratajczak J. Pivotal role of paracrine effects in stem cell therapies in regenerative medicine - can we translate stem cell-secreted paracrine factors and microvesicles into better therapeutic strategies? *Leukemia.* 2011 Dec 19. doi: 10.1038/leu.2011.389.
- Schira J, Gasis M, Estrada V, Hendricks M, Schmitz C, Trapp T, Kruse F, Kögler G, Wernet P, Hartung HP, Müller HW. Significant clinical, neuropathological and behavioural recovery from acute spinal cord trauma by transplantation of a well-defined somatic stem cell from human umbilical cord blood. *Brain.* 2011 Sep 8. [Epub ahead of print]
- Shimada IS, Spees JL. Stem and progenitor cells for neurological repair: minor issues, major hurdles, and exciting opportunities for paracrine-based therapeutics. *J Cell Biochem.* 2011, 112:374-80.
- Sivilia S, Giuliani A, Del Vecchio G, Giardino L, Calzà L. Age-dependent impairment of hippocampal neurogenesis in chronic cerebral hypoperfusion. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2008, 34:52-61
- D'Intino G, Lorenzini L, Fernandez M, Taglioni A, Perretta G, Del Vecchio G, Villoslada P, Giardino L, Calzà L. Triiodothyronine administration ameliorates the demyelination/remyelination ratio in a non-human primate model of multiple sclerosis by correcting tissue hypothyroidism. *J Neuroendocrinol.* 2011, 23:778-90.
- Calzà L, Giardino L, Pozza M, Bettelli C, Micera A, Aloe L. Proliferation and phenotype regulation in the subventricular zone during experimental allergic encephalomyelitis: in vivo evidence of a role for nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998, 95:3209-14.
- Calzà L, Fernandez M, Giardino L. Cellular approaches to central nervous system remyelination stimulation: thyroid hormone to promote myelin repair via endogenous stem and precursor cells. *J Mol Endocrinol.* 2010, 44:13-23.
- Borlongan CV, Glover LE, Tajiri N, Kaneko Y, Freeman TB. The great migration of bone marrow-derived stem cells toward the ischemic brain: therapeutic implications for stroke and other neurological disorders. *Prog Neurobiol.* 2011, 95:213-28.
- Han Q, Jin W, Xiao Z, Ni H, Wang J, Kong J, Wu J, Liang W, Chen L, Zhao Y, Chen B, Dai J. The promotion of neural regeneration in an extreme rat spinal cord injury model using a collagen scaffold containing a collagen binding neuroprotective protein and an EGFR neutralizing antibody. *Biomaterials.* 2010, 31:9212-20.
- Zurita M, Otero L, Aguayo C, Bonilla C, Ferreira E, Parajón A, Vaquero J. Cell therapy for spinal cord repair: optimization of biologic scaffolds for survival and neural differentiation of human bone marrow stromal cells. *Cytotherapy.* 2010,12:522-37.
- Jurga M, Dainiak MB, Sarnowska A, Jablonska A, Tripathi A, Plieva FM, Savina IN, Strojek L, Jungvid H, Kumar A, Lukomska B, Domanska-Janik K, Forraz N, McGuckin CP. The performance of laminin-containing cryogel scaffolds in neural tissue regeneration. *Biomaterials.* 2011, 32:3423-34.
- Mizrahy S, Raz SR, Hasgaard M, Liu H, Soffer-Tsur N, Cohen K, Dvash R, Landsman-Milo D, Bremer MG, Moghimi SM, Peer D. Hyaluronan-coated nanoparticles: the influence of the molecular weight on CD44-hyaluronan interactions and on the immune response. *J Control Release.* 2011,156:231-8.
- Park MV, Neigh AM, Vermeulen JP, de la Fonteyne LJ, Verharen HW, Briedé JJ, van Loveren H, de Jong WH. The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. *Biomaterials.* 2011, 32:9810-7.
- Jiang X, Cao HQ, Shi LY, Ng SY, Stanton LW, Chew SY. Nanofiber topography and sustained biochemical signaling enhance human mesenchymal stem cell neural commitment. *Acta Biomater.* 2012, 8:1290-302.
- Cho Y, Borgens RB. Polymer and nano-technology applications for repair and reconstruction of the central nervous system. *Exp Neurol.* 2012, 233:126-44.

LA RIGENERAZIONE NEL TESSUTO MUSCOLOSCELETRICO

1. Harley CB, Gearhart J, Jaenisch R, Rossant J, Thomson J. Pluripotent stem cells: Biology and applications. Durango Publisher Co: 2001

2. Leblond CP. Classification of cell populations on the basis of their proliferative behavior . *Nat Cancer Inst Pub* 1964;14:119-50.
3. Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med* 2001;7:393-5.
4. BATTERY LD, Bourne S, Xynos JD, Wood H, Hughes FJ, Hughes SP, et al . Differentiation of osteoblasts and in vitro bone formation from murine embryonic stem cells. *Tissue Eng* 2001;7:89-99.
5. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292:154-6.
6. Jones JM, Thomson JA. Human embryonic stem cell technology. *Semin Reprod Med.* 2000;18:219-23.
7. Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA. Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. *Stem Cells* 2001;19:193-204.
8. Bianco P, Riminucci M, Kuznetsov S, Robey PG. Multipotential cells in the bone marrow stroma: Regulation in the context of organ physiology. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1999;9:159-73.
9. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal stem cells: Nature, biology and potential applications. *Stem Cells* 2001;19:180-92.
10. Bruder SP, Jaiswal N, Haynesworth SE. Growth kinetics, self-renewal and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem* 1997;64:278-94.
11. Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol* 1966;16:381-90.
12. Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:10711-6.
13. Kuznetsov SA, Mankani MH, Gronthos S, Satomura K, Bianco P, Robey PG. H Circulating skeletal stem cells. *J Cell Biol* 2001;153:1133-40.
14. Raisman G. Olfactory ensheathing cells - another miracle cure for spinal cord injury? *Nat Rev Neurosci* 2001;2:369-75.
15. Pittenger MF, Marshak DR. Mesenchymal stem cells of human adult bone marrow. Marshak DR, Gardner DK and Gottlieb D. editors. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor: New York; 2001. p. 349-74.
16. Moise KJ Jr. Umbilical cord stem cells. *Obstet Gynecol* 2005;106:1393-407.
17. Tse W, Laughlin MJ. Umbilical cord blood transplantation: A new alternative option. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2005;377-83.
18. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 1976;4:267-74.
19. Pereira RF, Halford KW, O'Hara MD, Leeper DB, Sokolov BP, Pollard MD, et al . Cultured adherent cells from marrow can serve as long-lasting precursor cells for bone, cartilage and lung in irradiated mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:4857-61.
20. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford T, Willing A, et al . Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol* 2000;164:247-56.
21. Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:4080-5.
22. Sakai T, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Tomita S, et al . Autologous heart cell transplantation improves cardiac function after myocardial injury. *Ann Thorac Surg* 1999;68:2074-80; discussion 81.
23. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, et al . Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999;103:697-705.
24. Bittner RE, Schofer C, Weipoltshammer K, Ivanova S, Streubel B, Hauser E, et al . Recruitment of bone-marrow-derived cells by skeletal and cardiac muscle in adult dystrophic mdx. *Anat Embryol (Berl)* 1999;199:391-6.

25. Cazillis M, Rasika S, Mani S, Gressens P, Lelievre V. In vitro induction of neural differentiation of embryonic stem (ES) cells closely mimics molecular mechanisms of embryonic brain development. *Pediatr Res* 2006;59:48R-53R.
26. Okano H, Okada S, Nakamura M, Toyama Y. Neural stem cells and regeneration of injured spinal cord. *Kidney Int* 2005;68:1927-31.
27. Bambakidis NC, Theodore N, Nakaji P, Harvey A, Sonntag VK, Preul MC, et al. Endogenous stem cell proliferation after central nervous system injury: alternative therapeutic options. *Neurosurg Focus* 2005;19:E1.
28. McDonald JW, Becker D, Holekamp TF, Howard M, Liu S, Lu A, et al . Repair of the injured spinal cord and the potential of embryonic stem cell transplantation. *J Neurotrauma* 2004;21:383-93.
29. Lucarelli E, Donati D, Cenacchi A, Fornasari PM. Bone reconstruction of large defects using bone marrow derived autologous stem cells. *Transfus Apher Sci* 2004;30:169-74.
30. Caplan AI. Review: mesenchymal stem cells: Cell-based reconstructive therapy in orthopedics. *Tissue Eng* 2005;11:1198-211.
31. Magne D, Vinatier C, Julien M, Weiss P, Guicheux J. Mesenchymal stem cell therapy to rebuild cartilage. *Trends Mol Med*. 2005;11:519-26.
32. Solchaga LA, Welter JF, Lennon DP, Caplan AI. Generation of pluripotent stem cells and their differentiation to the chondrocytic phenotype. *Methods Mol Med* 2004;100:53-68
33. Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48:3464-74.
34. Lim JK, Hui J, Li L, Thambyah A, Goh J, Lee EH. Enhancement of tendon graft osteointegration using mesenchymal stem cells in a rabbit model of anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy* 2004;20:899-910.
35. Izuta Y, Ochi M, Adachi N, Deie M, Yamasaki T, Shinomiya R. Meniscal repair using bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Experimental study using green fluorescent protein transgenic rats. *Knee*. 2005;12:217-23.
36. Lee-Pullen TF, Grounds MD. Muscle-derived stem cells: Implications for effective myoblast transfer therapy. *IUBMB Life* 2005;57:731-6.
37. Zhang C, Feng HY, Huang SL, Fang JP, Xiao LL, Yao XL, et al . Therapy of Duchenne muscular dystrophy with umbilical cord blood stem cell transplantation]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2005;22:399-405.
38. Hasharoni A, Zilberman Y, Turgeman G, Helm GA, Liebergall M, Gazit D. Murine spinal fusion induced by engineered mesenchymal stem cells that conditionally express bone morphogenetic protein-2. *J Neurosurg Spine* 2005;3:47-52.
39. Risbud MV, Shapiro IM, Guttapalli A, Di Martino A, Danielson KG, Beiner JM, et al . Osteogenic potential of adult human stem cells of the lumbar vertebral body and the iliac crest. *Spine* 2006;31:83-9.
40. Cinotti G, Patti AM, Vulcano A, Della RC, Polveroni G, Giannicola G, et al . Experimental posterolateral spinal fusion with porous ceramics and mesenchymal stem cells. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86:135-42.
41. Muschler GF, Nitto H, Matsukura Y, Boehm C, Valdevit A, Kambic H, et al . Spine fusion using cell matrix composites enriched in bone marrow-derived cells. *Clin Orthop Relat Res* 2003;407:102-18.
42. Risbud MV, Shapiro IM, Vaccaro AR, Albert TJ. Stem cell regeneration of the nucleus pulposus. *Spine J* 2004;4:348S-53S.
43. Acosta FL Jr, Lotz J, Ames CP. The potential role of mesenchymal stem cell therapy for intervertebral disc degeneration: A critical overview. *Neurosurg Focus* 2005;19:E4.
44. Sakai D, Mochida J, Iwashina T, Watanabe T, Nakai T, Ando K, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells transplanted to a rabbit degenerative disc model: potential and limitations for stem cell therapy in disc regeneration. *Spine* 2005;30:2379-87.
45. Sakai D, Mochida J, Iwashina T, Hiyama A, Omi H, Imai M, et al . Regenerative effects of transplanting mesenchymal stem cells embedded in atelocollagen to the degenerated intervertebral disc. *Biomaterials* 2006;27:335-45.

46. Vats A, Tolley NS, Buttery LD, Polak JM. The stem cell in orthopaedic surgery. J Bone Joint Surg Br.2004;86:159-64.