

Projetos a concurso no ICVS para Prémio UMinho de Iniciação na Investigação Científica

(RT 12/2020)

Sobre o ICVS

O Instituto de Investigação em Ciências da Vida e da Saúde (ICVS) foi criado em 2003 para desenvolver a investigação biomédica na Faculdade de Medicina (EM) da Universidade do Minho. Na última década, o ICVS tem desenvolvido sinergias com vários parceiros com competências complementares, nomeadamente o Grupo de Investigação 3B's, na sequência da criação do Laboratório Associado ICVS/3B's, e prestadores de cuidados de saúde locais para lançar o Centro Académico Clínico - Associação Braga (2CA-Braga) dedicado à realização de investigação clínica.

O ICVS é uma unidade multidisciplinar que atualmente reúne cientistas, engenheiros e clínicos numa plataforma científica e tecnológica única, com mais de 6000 m², beneficiando de competências de investigação em diferentes áreas: bioimagem, biologia celular e molecular, aprendizagem profunda e informática, eletrofisiologia, epidemiologia e estatística, RM funcional, eletrónica médica, microbiologia ABSL2/3, comportamento motor e cognitivo animal, oncobiologia e endoscopia cirúrgica.

Os projetos científicos são desenvolvidos em quatro Domínios de Investigação: Microbiologia & Infecção, Neurociências, Saúde das Populações e Ciências Cirúrgicas. O ICVS desenvolve projetos em consórcios nacionais e internacionais, proporcionando experiência e formação a jovens investigadores e acolhendo estudantes e investigadores estrangeiros, bem como desenvolvendo iniciativas para fomentar colaborações institucionais internacionais, como as recentemente estabelecidas com o Laboratório Ibérico Internacional de Nanotecnologia (INL), bem como com o Centro de Investigação Biomédica (CINBIO).

Desde o seu lançamento, o ICVS tem sido consistentemente classificado como "excelente" pela FCT em ambos os processos de avaliação de 2002 e 2007, e, mais recentemente em 2013, o Laboratório Associado ICVS/3B's foi classificado como "excelente". A avaliação final relativa ao processo de avaliação de 2017 está ainda em revisão. Juntamente com os seus vários *Spin-offs*, o ICVS pretende contribuir como um *stakeholder* chave para a manutenção de um *Cluster* competitivo em Ciências Biomédicas, Tecnologia e Saúde, liderado pela Faculdade de Medicina. Alinhado com esta visão, o ICVS aspira a impulsionar a sua linha completa de pesquisa para criar conhecimento científico e valor, produzindo resultados de pesquisa que melhorem os resultados clínicos.

About ICVS

The Life and Health Sciences Research Institute (ICVS) was established in 2003 to develop biomedical research within the School of Medicine (EM) of the University of Minho. Over the last decade, ICVS has developed synergies with several partners with complementary expertise, namely the 3B's Research Group ensuing the establishment of the PT Government ICVS/3B's - Associate Laboratory, and local healthcare providers to launch the Clinical Academic Centre – Braga Association (2CA-Braga) devoted to performing clinical research.

ICVS is a multidisciplinary unit that currently brings together scientists, engineers and clinicians in a unique scientific and technological platform over 6000 m² benefiting from research expertise in different fields: bioimaging, cell and molecular biology, deep learning and computer science, electrophysiology, epidemiology and statistics, functional MRI, medical electronics, microbiology ABSL2/3, motor and cognitive animal behaviour, oncobiology and surgical endoscopy.

Scientific projects are developed under four Research Domains: Microbiology & Infection, Neurosciences, Population Health and Surgical Sciences. ICVS develops projects in national and international consortia, providing experience and training to young researchers and welcoming foreign students and researchers, as well as developing initiatives to foster international institutional collaborations, as those recently established with the International Iberian Nanotechnology Laboratory (INL) as well as the Centro de Investigacións Biomédicas (CINBIO).

Since its launching, ICVS has been consistently graded "excellent" by FCT in both evaluation processes of 2002 and 2007, and again graded "excellent" as PT Government ICVS/3B's - Associate Laboratory in 2013. Final assessment regarding the 2017 evaluation process is still under revision. Along with its several Spin-offs, ICVS aims to contribute as a key stakeholder for the upholding of a competitive Cluster in Biomedical Science, Technology and Healthcare, steered by the School of Medicine. Aligned with this vision, ICVS aspires to boost its complete research pipeline to create scientific knowledge and value, producing research outputs that improve clinical outcomes.

Projetos a concurso no ICVS para Prémio UMinho de Iniciação na Investigação Científica

(RT 12/2020)



Título do Projeto – Criação de base de dados clínica de *Pectus Excavatum* para o desenvolvimento de sistemas de apoio à tomada de decisão



Inserido em projeto financiado?

Sim Não

Investigador responsável:

- 👤 Sandro Queirós [Escola de Medicina (EM)/ICVS].

Equipa de acompanhamento e formação dos estudantes-investigadores:

- 👤 Jorge Correia-Pinto;
- 👤 Inês Pessanha;
- 👤 Bruno Silva.

Unidade Orgânica/Centro de Investigação:

- 📍 Escola de Medicina/ICVS.

Áreas científicas do projeto:

- 🔬 Medicina Clínica – Imagiologia;
- 🔬 Medicina Clínica – Cirurgia.

Mestrado Integrado:

- 👤 Medicina.

1. Resumo do projeto

O *Pectus Excavatum* (PE) é uma anomalia congénita da parede torácica, cuja correção cirúrgica envolve a colocação de uma (ou mais) prótese(s) sob o esterno. Atualmente, o planeamento cirúrgico (e.g. a decisão sobre o n.º de próteses a colocar) é dependente da experiência do cirurgião, mas tem uma enorme influência no resultado estético. Este projeto visa compilar uma base de dados clínica/imagiológica de PE, para o posterior desenvolvimento de sistemas automáticos de apoio à tomada de decisão.

2. Objetivos

Este projeto visa criar uma base de dados de pacientes de PE, com informação clínica e imagiológica, bem como anotações de diagnóstico/terapia, a qual será crucial para futuros projetos na área da inteligência artificial. Mais ainda, o projeto permitirá ao estudante-investigador aprender sobre PE, desenvolver capacidades de gestão de dados clínicos e pôr em prática conceitos de estatística e análise de dados, enquanto desenvolve espírito crítico na abordagem/resolução de problemas científicos.

3. Plano de investigação e método

O *Pectus Excavatum* é uma malformação congénita da parede torácica, a qual é corrigida, por motivos essencialmente estéticos, com recurso à implantação de uma (ou mais) barra(s) metálica(s) em posição sub-esternal. Após consolidação da parede torácica na posição pretendida (2/3 anos), a(s) barra(s) é(são) então removida(s). Apesar do elevado sucesso da cirurgia e do baixo número de complicações intraoperatórias, diversas decisões na fase de planeamento (e.g. o número de barras implantadas) e de monitorização da evolução do tratamento (e.g. período de tempo ótimo até remoção das barras) influenciam o resultado estético obtido. Estas decisões são da responsabilidade do cirurgião, sendo dependentes da experiência deste e, portanto, subjetivas, o que pode originar resultados estéticos subótimos. Neste âmbito, o nosso grupo pretende criar um conjunto de sistemas computadorizados de apoio à tomada de decisão no contexto do PE, desenvolvidos

com recurso a algoritmos de inteligência artificial (IA). Para tal, será necessário a criação de uma base de dados extensa de pacientes de PE, com informação clínica e imagiológica, e contendo anotações médicas úteis para o desenvolvimento dos algoritmos de IA. O estudante trabalhará em parceria com os cirurgiões envolvidos no projeto para a compilação da base de dados em causa. Mais ainda, será responsável pela análise estatística desta mesma base de dados para caracterização clínica/imagiológica da população em causa.

4. Tarefas

Tendo por base os objetivos do projeto, as tarefas a desenvolver pelo estudante-investigador serão:

- ☒ Tarefa 1 – Estudo da patologia e respetivo processo clínico (diagnóstico e terapia);
- ☒ Tarefa 2 – Levantamento dos dados clínicos e imagiológicos dos pacientes de PE;
- ☒ Tarefa 3 – Apoio no processo de anotação dos dados clínicos e imagiológicos, e determinação de potenciais novos índices imagiológicos para o apoio à tomada de decisão;
- ☒ Tarefa 4 – Análise estatística da base de dados;
- ☒ Tarefa 5 – Preparação do relatório final.

5. Metodologia de acompanhamento e formação do estudante-investigador

O estudante-investigador será integrado num projeto a decorrer cujo objetivo se centra no desenvolvimento de algoritmos de IA para a gestão clínica (diagnóstico e terapia) dos pacientes de PE, constituído por uma equipa multidisciplinar com engenheiros (biomédicos e de eletrónica) e médicos (cirurgiões pediatras), com uma forte experiência em IA, criação de bases de dados clínicas e com vários trabalhos na área do *Pectus Excavatum*. O estudante será acompanhado diariamente pelo investigador responsável (SQ), trabalhará em equipa com um estudante da Engenharia a desenvolver a sua tese neste tópico (BS; permitindo compreender as necessidades dos algoritmos de IA), e terá reuniões periódicas com os cirurgiões associados ao projeto (JCP e IP). O estudante terá ainda a oportunidade de contactar, diariamente e através de reuniões mensais, com outros investigadores do domínio de investigação das ciências cirúrgicas (SSRD), alargando assim os horizontes dos seus conhecimentos científicos.

6. Calendarização do Projeto

Mês	Abr.					Mai.				Jun.				Jul.				Ago.				Set.		
Sem.	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
	Tarefa 1																							
	Tarefa 2																							
	Tarefa 3																							
	Tarefa 4																							
	Tarefa 4																							
	Tarefa 5																							


Título do Projeto – Extração automática de índices imagiológicos para o planeamento da cirurgia de reparação do *Pectus Excavatum*







Inserido em projeto financiado?

Sim Não



Investigador responsável:

-  Sandro Queirós [Escola de Medicina (EM)/ICVS].




Equipa de acompanhamento e formação dos estudantes-investigadores:

-  Jorge Correia-Pinto;
-  Jaime C. Fonseca;
-  Inês Pessanha;
-  Bruno Silva.




Unidades Orgânicas/ Centros de Investigação:

-  Escola de Medicina/ICVS;
-  Escola de Engenharia/Centro ALGORITMI.

Áreas científicas do projeto:

-  Engenharia Biomédica;
-  Processamento de Imagem;
-  Medicina Clínica – Imagiologia.

Mestrados Integrados:

-  Engenharia Biomédica;
-  Engenharia Eletrónica Industrial e Computadores;
-  Engenharia Informática.

1. Resumo do projeto

O *Pectus Excavatum* (PE) é uma das anomalias congénitas mais comuns da parede torácica, cuja correção é feita cirurgicamente. Atualmente, o diagnóstico e planeamento cirúrgico envolvem a extração de índices clínicos a partir de imagens de tomografia computadorizada (TAC), o que é feito manualmente num processo tedioso e propenso a variabilidade entre médicos. Neste âmbito, o presente projeto visa desenvolver algoritmos de *deep learning* para a extração automática destes índices imagiológicos.

2. Objetivos

Este projeto visa o desenvolvimento de sistemas inovadores de apoio ao diagnóstico e planeamento cirúrgico contexto do PE, os quais permitirão reduzir o tempo de análise das imagens pré-operatórias e eliminar a variabilidade nas medições efetuadas. Mais ainda, o projeto permitirá ao estudante-investigador aprender sobre *deep learning*, uma tecnologia recente com enorme aplicabilidade na Medicina, enquanto desenvolve um espírito crítico na abordagem e resolução de problemas científicos.

3. Plano de investigação e método

Na prática clínica, a extração de índices imagiológicos, relevantes no diagnóstico e planeamento cirúrgico de pacientes com PE, é feita manualmente pelo cirurgião, num processo tedioso que envolve a análise de imagens tridimensionais de TAC. No sentido de melhorar este processo, este projeto propõe explorar as potencialidades do processamento automático de imagens médicas com recurso a algoritmos de visão por computador. Mais especificamente, pretende-se recorrer a algoritmos de *deep learning* – uma tecnologia inovadora que tem mostrado excelentes resultados noutros contextos (dentro e fora da Medicina), numa abordagem simples, mas eficiente e precisa. A pipeline a desenvolver conterà, pelo menos, duas redes neuronais convolucionais (CNNs), que visam, respetivamente, (1) detetar a região de maior depressão da parede torácica num corte sagital da

TAC; e (2) detetar 8 landmarks anatómicas em múltiplos cortes axiais junto à região de maior depressão (identificados pelo módulo anterior). Numa fase final, e com base nas landmarks detetadas, o software deverá ser capaz de determinar o plano axial ideal para a extração dos índices clínicos, devendo por fim apresentar o relatório das medidas extraídas ao médico. Os algoritmos implementados serão validados quantitativamente com o recurso a uma base de dados clínica que contém as medidas extraídas manualmente por um cirurgião.

4. Tarefas

Tendo por base os objetivos do projeto, as tarefas a desenvolver pelo estudante-investigador serão:

- ☒ Tarefa 1 – Estudo da patologia e respetivo processo clínico (diagnóstico e terapia);
- ☒ Tarefa 2 – Levantamento do estado da arte no contexto da extração automática de índices imagiológicos de PE;
- ☒ Tarefa 3 – Adaptação e avaliação de CNNs existentes para a deteção de *landmarks* em imagens;
- ☒ Tarefa 4 – Escolha de um dos algoritmos avaliados, implementação de melhorias e validação final na base de dados existente;
- ☒ Tarefa 5 – Preparação do relatório final.

5. Metodologia de acompanhamento e formação do estudante-investigador

O estudante-investigador será integrado num projeto a decorrer com objetivos similares, constituído por uma equipa multidisciplinar com engenheiros (biomédicos e de eletrónica industrial e de computadores) e médicos (cirurgiões pediatras), com uma forte experiência em processamento de imagem médica e com vários trabalhos na área do *Pectus Excavatum*. O estudante será acompanhado diariamente pelo investigador responsável (SQ), trabalhará em equipa com um outro estudante a desenvolver a sua tese neste tópico (BS), e terá reuniões periódicas com os cirurgiões associados ao projeto (JCP e IP). Mais ainda, o estudante irá participar (sempre que compatível com os seus horários letivos) em reuniões de um dos grupos de investigação envolvidos no projeto (JCF; MotionLab), tendo assim a oportunidade de contactar com outros estudantes a desenvolver projetos similares (a maioria com recurso a técnicas de *deep learning*), dentro e fora da área de Medicina.

6. Calendarização do Projeto

Mês	Abr.					Mai.				Jun.				Jul.				Ago.			Set.			
Sem.	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
	Tarefa 1																							
		Tarefa 2																						
			Tarefa 3																					
										Tarefa 4												Tarefa 4		
																							Tarefa 5	


Título do Projeto – Papel funcional e potencial terapêutico do WNT6 em glioblastoma





Inserido em projeto financiado?

Sim Não

Investigador responsável:

 Céline S. Gonçalves [Escola de Medicina (EM)/ICVS].


Equipa de acompanhamento e formação dos estudantes-investigadores:

 Bruno M. Costa;
 Eduarda P. Martins.





Unidade Orgânica/Centro de Investigação:

 Escola de Medicina/ICVS.

Área científica do projeto:

 Oncologia.

Licenciaturas ou Mestrados Integrados:

 Licenciatura em Bioquímica;
 Licenciatura em Biologia Aplicada;
 Mestrado Integrado em Medicina;
 Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica

1. Resumo do projeto

Na Europa, os tumores cerebrais são a principal causa de mortes relacionadas com cancro em pessoas com <40 anos. O glioblastoma (GBM) é o tumor cerebral mais maligno e frequente em adultos, apresentando uma mediana de sobrevivência de apenas 15 meses após o diagnóstico. Dado que isso se deve maioritariamente à fraca resposta à terapia usada, é urgente identificar novos alvos terapêuticos que permitam melhorá-la.

2. Objetivos

O grupo descreveu anteriormente que o WNT6 tem um papel oncogénico em GBM e é um biomarcador de pior prognóstico. Deste modo pretende-se que o aluno: (i) valide o papel funcional do WNT6 em linhas de GBM; (ii) identifique vias de sinalização, com potencial terapêutico, reguladas pelo WNT6. Para além da componente laboratorial, o aluno terá oportunidade de desenvolver competências de leitura e escrita científica, pôr em prática noções de estatística, e de análise crítica de resultados.

3. Plano de investigação e método

Ao longo dos últimos anos, têm-se efetuado esforços no sentido de caracterizar molecularmente os GBM de forma a melhorar a estratificação dos pacientes, desenvolver terapias direcionadas e, deste modo, melhorar o seu tratamento. Neste contexto, foi reportado que a via WNT, que controla diversos aspetos do desenvolvimento embrionário, está associada com um aumento da agressividade tumoral em GBM. O nosso grupo descreveu recentemente que o WNT6, um ligando e ativador da via WNT, tem um papel oncogénico em GBM e está associado com o pior prognóstico dos pacientes. Uma vez que o primeiro passo para o desenvolvimento de novas terapias direcionadas requer não só a identificação de novos alvos moleculares, mas também a compreensão dos seus mecanismos de ação, este projeto pretende identificar estes mecanismos de modo a propor a sua inibição como potencial terapia para esta doença. Para isto iremos usar modelos in

in vitro de GBM (células geneticamente modificadas para expressarem níveis diferenciais de WNT6) e procederemos a análises funcionais (e.g., viabilidade - azul de tripano e MTS; e migração - ensaio wound healing) e análises moleculares (e.g., qRT-PCR e Western Blot) que nos permitam identificar alterações que possam justificar o aumento da agressividade observada em células positivas para o WNT6. Se possível, testaremos in vitro abordagens terapêuticas que inibam as vias identificadas em combinação com quimioterapia, para perceber se apresentam um efeito sinérgico.

4. Tarefas

Tendo por base os objetivos do projeto, as tarefas a desenvolver pelo estudante-investigador serão:

- ☒ Tarefa 1 – Levantamento do estado da arte (resumo da literatura);
- ☒ Tarefa 2 – Cultura de células (ensaio funcionais e colheita de células);
- ☒ Tarefa 3 – Extração e quantificação de proteínas (células colhidas anteriormente);
- ☒ Tarefa 4 – *Western Blot*;
- ☒ Tarefa 5 – Análises dos resultados;
- ☒ Tarefa 6 – Escrita de relatório final.

Pretende-se que o estudante tenha um papel ativo em todas as tarefas acima mencionadas, com o devido apoio e supervisão pelos restantes participantes.

5. Metodologia de acompanhamento e formação do estudante-investigador

O estudante-investigador será integrado num projeto a decorrer com objetivos similares, constituído por uma equipa com uma forte experiência na área da neuro-oncologia e nas técnicas a realizar durante este projeto e com todos os recursos materiais necessários à sua execução. O estudante será acompanhado diariamente pela investigadora responsável (CSG), receberá ainda o apoio de uma aluna de doutoramento a desenvolver a sua tese num tópico semelhante (EPM), e terá reuniões de grupo periódicas com o restante membro da equipa (BMC). Assim, o estudante terá a oportunidade de receber feedback e discutir os seus resultados de/com diversos investigadores. Para além disso, nos laboratórios, o estudante terá oportunidade de contactar com outros investigadores, de vários níveis, que lá trabalham diariamente, em áreas como oncologia, neurociências e imunologia. Por fim, o estudante terá a oportunidade de participar nas reuniões científicas que a instituição de acolhimento, ICVS, propõe.

6. Calendarização do Projeto

Mês	Abr.					Mai.				Jun.				Jul.					Ago.				Set.									
Sem.	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37								
	Tarefa 1																															
	Tarefa 2																															
						Tarefa 3																										
											Tarefa 4																					
						Tarefa 5															Tarefa 6											

Título do Projeto – Manipulação quemogenética do eixo fronto-estriatal em impulsividade



Inserido em projeto financiado?

Sim Não

Projeto em que se insere:

- ✓ Frontostriatal neurophysiological underpins of decision-making | (BIAL).

Investigador responsável:

- 👤 Hugo Leite-Almeida [Escola de Medicina (EM)/ICVS].

Equipa de acompanhamento e formação dos estudantes-investigadores:

- 👤 Madalena Esteves;
- 👤 Hugo Leite-Almeida.

Unidade Orgânica/Centro de Investigação:

- 📍 Escola de Medicina/ICVS.

Área científica do projeto:

- 🔬 Neurociências.

Licenciaturas ou Mestrados Integrados:

- 👤 Biologia;
- 👤 Bioquímica;
- 👤 Engenharia Biomédica;
- 👤 Áreas afins.

1. Resumo do projeto

A impulsividade é uma resposta adaptativa que permite uma reação rápida a estímulos. No entanto, a sua desregulação está associada perturbações como o abuso de substâncias e o défice de atenção e hiperatividade. Várias regiões frontais e estriatais têm sido associadas à resposta impulsiva, mas a forma como estas regiões interagem não é claro. Neste trabalho, utilizaremos técnicas de eletrofisiologia e quemogenética para dissecar esta interação e a sua contribuição para a decisão impulsiva.

2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho é a determinação do papel do córtex pré-límbico na decisão impulsiva e no comportamento da restante rede fronto-estriatal. Os alunos aprenderão várias técnicas, incluindo (i) cirurgia esterotáxica em roedores; (ii) comportamento operante; (iii) técnicas de eletrofisiologia; (iv) técnicas de quemogenética; (v) análise de dados.

3. Plano de investigação e método

A desregulação da impulsividade está associada perturbações como o abuso de substâncias e o défice de atenção e hiperatividade. Várias regiões frontais e estriatais incluindo o córtex pré-límbico, o córtex orbito-frontal, o estriado dorsal e o núcleo accumbens têm sido associadas à resposta impulsiva. Neste trabalho pretendemos determinar: (i) como é que estas áreas interagem; (ii) qual é a relação hierárquica entre elas; (iii) como é que a sua atividade evolui na janela temporal que precede a tomada de decisão impulsiva; e (iv) que diferenças nesta atividade levam a diferentes tomadas de decisão.

Tendo em conta dados preliminares, o córtex pré-límbico parece ser uma região de interesse para uma exploração mais aprofundada, pelo que a sua manipulação será realizada usando uma abordagem quemogenética (*Designer Receptors Specifically Activated by Designer Drugs – DREADDs*). O efeito desta manipulação será avaliado

ao nível comportamental durante uma tarefa de impulsividade, e ao nível do efeito na restante rede fronto-estriatal no momento da tomada de decisão (avaliada por eletrofisiologia).

4. Tarefas

Tendo por base os objetivos do projeto, as tarefas a desenvolver pelo estudante-investigador serão:

- ✎ Tarefa 1 – Comportamento de roedores numa tarefa de impulsividade. O aluno aprenderá como realizar uma tarefa de impulsividade (*Variable Delay-to-Signal*; VDS) em ratos;
- ✎ Tarefa 2 – Eletrofisiologia em animais acordados. Eléttodos para a gravação de local *field potentials* (LFPs) serão implantados nas áreas referidas. Estes dados serão recolhidos durante o desempenho do VDS e analisados posteriormente;
- ✎ Tarefa 3 – Manipulação da atividade do córtex pré-límbico. Um vírus (DREADD) será injetado no córtex pré-límbico dos animais. Este inserir-se-á no DNA das células desta região, fazendo-as expressar um recetor apenas ativado aquando da injeção sistémica de CNO. A atividade será inibida durante o desempenho do VDS e os efeitos comportamentais e eletrofisiológicos serão avaliados.

5. Metodologia de acompanhamento e formação do estudante-investigador

Devido a questões éticas relacionadas com o trabalho animal, o estudante-investigador irá acompanhar os trabalhos acima referidos, os quais serão realizados principalmente pela Dra. Madalena Esteves e supervisionados pelo Dr. Hugo Almeida. Este aprenderá sobre as técnicas utilizadas e estará envolvido no tratamento de dados.

6. Calendarização do Projeto

Mês	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
	Tarefa 1				
	Tarefa 2				
			Tarefa 3		

Project Title – Macrophage-derived secretome as key regulators of lung maturation



Inserted in a financed project?

Yes No

Project in which it is inserted:

- ✓ Macrophage-secreted mediators as therapeutic strategy for preterm lung maturation.

Principal Investigator (PI):

- 👤 Sandra Costa [School of Medicine (EM)/ICVS].

Monitoring team and training of student-researchers:

- 👤 Caroline Pereira;
- 👤 Catarina Matos.

Organic Unit/Research Center:

- 📍 School of Medicine/ICVS.

Scientific area of the project:

- 🔬 Basic Medicine.

Bachelors and Integrated Masters:

- 👤 Applied Biology;
- 👤 Biochemistry.

1. Summary of the project

Even in our days prematurity is the main cause of perinatal mortality and morbidity due to lung immaturity. Furthermore, therapeutic approach routinely used to improve fetal lung maturity has been shown detrimental effects. Thus, it is mandatory to find new therapeutic strategies that potentiate lung maturity in preterm birth. Growing evidence demonstrates that tissue macrophages regulate developmental processes. Our preliminary results strongly support that lung tissue macrophages are critical players orchestrating lung differentiation and maturation, and hold a lung-specific transcriptional profile. Undoubtedly these derived from the macrophages secreted mediators. In this way, this proposal hypothesize that secreted mediators of cell-derived macrophage re-educated to lung-specific phenotype will greatly accelerate lung differentiation and maturation.

2. Objectives

With this proposal we intend to answer the following questions: (i) how fetal lung macrophagespecific regulators influence lung epithelial cell differentiation, maturation and repair, via conditioned media (CM=secreted factors of genetically re-educated cell-derived macrophages); (ii) whether EVs are key drivers of these signals to lung epithelium; (iii) how critical secreted mediators (CM/EVs) promote lung differentiation and maturation on a lung prematurity animal model.

3. Investigation Plan and Method

To determine the role of fetal tissue macrophage-derived regulators in alveolar epithelial differentiation and repair mediated by CM of re-educated cell-derived macrophages, we will use a vitro approach – Aim 1. As a source of cell-derived macrophages pluripotent stem cells (iPSC) available in the lab will be differentiated in iPSC-derived fetal lung macrophages (iPSC-DM) using specific supplemented culture mediums in the following steps according to literature. Then, they will be reeducated to fetal lung-like by stimulation with CM of undifferentiated epithelial lung cells to lungspecific genes of fetal macrophages. First, iPSCs will be differentiated in

iPSC-derived macrophages (iPSC-DM) using a culture medium supplemented with factors that allow efficient production of fetal lung macrophages-like cells. After establishment of manipulated iPSC-DM they will be challenge with CM from undifferentiated alveolar epithelial cells (UAEC) isolated from fetus lungs at early saccular stage. Then, CM from re-educated iPSC-DM will be used to stimulate UAEC. Finally, differentiation and maturation status of these cells/tissues will be accessed. Additionally, repair capacity will be analyzed using wound repair model. With this in vitro approach, promising lung epithelial differentiation and repair capacities of CM derived from re-educated iPSC-DM will emerge.

4. Tasks

Based on the objectives of the project, the tasks to be developed by the student-researcher will be:

- ✘ Task 1 – Primary UEAC will be obtained from E17 fetus lungs, using mechanical, enzymatic and immunomagnetic separation (CD326 microbeads) approaches;
- ✘ Task 2 – iPSC-DM phenotype will be confirmed by flow cytometry and regularly check in all iPSC-DM maintained in expansion;
- ✘ Task 3 – Differentiation and maturation status will check by immunofluorescence staining of alveolar epithelial cell type II markers and cell type I markers; and maturation-related transcription factors by q-PCR;
- ✘ Task 4 – Additionally, alveolar epithelial repair capacity will be evaluated by measuring migration distance after mechanically scratching cell substrate after following cells through time-lapse microscopy;
- ✘ Task 5 – Writing Final Report.

5. Methodology for monitoring and training the student-researcher

The student-researcher will be supervised and accompanied in the development of all tasks that constitute the project by at least one member of the team. The role of student-researcher will be one of observation and, when there is some autonomy, he may also perform some task, but under monitoring. The student-researcher will be instructed to read bibliography essential to the theoretical and technical understanding of the project/associated task, will participate in scientific discussion forums, such as "Journal Clubs" and team meetings on the progress of the activities of each investigator, on a fortnightly basis.

6. Project Schedule

Month	Apr.	May.	Jun.	Jul.	Aug.	Sept.
	Task 1					
		Task 2				
			Task 3			
			Task 4			
						Task 5

Título do Projeto – Implicações clínicas de variações genéticas de reguladores da autofagia na leucemia mieloide aguda (LMA)



Inserido em projeto financiado?

Sim Não

Projeto em que se insere:

- ✓ Innovative Microfluidic Platform for Analysis of myeloid Leukemia blasts.

Investigador responsável:

- 👤 Paula Ludovico [Escola de Medicina (EM)/ICVS].

Equipa de acompanhamento e formação dos estudantes-investigadores:

- 👤 Paula Ludovico;
- 👤 Belém Sampaio-Marques.

Unidade Orgânica/Centro de Investigação:

- 📍 Escola de Medicina/ICVS.

Área científica do projeto:

- 🔬 Ciências Biomédicas.

Licenciaturas ou Mestrados Integrados:

- 🎓 Medicina;
- 🎓 Bioquímica;
- 🎓 Biologia aplicada.

1. Resumo do projeto

A leucemia mieloide aguda (LMA) compreende um grupo de neoplasias do sangue caracterizadas por um bloqueio da diferenciação e/ou proliferação de células progenitoras imaturas. A LMA é o tipo mais comum de leucemia nos adultos, com uma progressão clínica rápida e com opções de tratamento limitadas. Considerando o papel essencial da autofagia na resposta das células de LMA à quimioterapia, examinaremos polimorfismos genéticos em reguladores da autofagia e seu impacto funcional na autofagia e na patogénese da LMA.

2. Objetivos

São propostos os seguintes objetivos específicos: (i) examinar a presença de polimorfismos genéticos em reguladores da autofagia em amostras de doentes com LMA; (ii) avaliar o impacto dos polimorfismos genéticos funcionais associados à LMA na atividade autofágica; (iii) promover o envolvimento dos estudantes em equipas de investigação permitindo desenvolver competências de investigação, mas também de trabalho em grupo; (iv) conhecer a importância da investigação científica na sociedade.

3. Plano de investigação e método

Estudos recentes de GWAS (Genome-Wide Association Studies) destacam a importância do estudo dos polimorfismos no contexto oncológico. A presença de diferentes polimorfismos foi já associada com a suscetibilidade ao desenvolvimento e progressão da LMA. Assim, estes estudos têm grande potencial para aplicação clínica direta, permitindo a identificação de novos marcadores genéticos para diagnóstico e prognóstico, e mais importante para o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos. Atualmente é também evidente a relevância da autofagia, um processo catabólico celular que dá origem à degradação de componentes da própria célula, no desenvolvimento da LMA. Resultados preliminares do nosso laboratório demonstraram que os principais reguladores do processo autofágico apresentam uma regulação negativa dos níveis de expressão de mRNA nas células de doentes

com LMA. Assim, torna-se imperativo compreender as causas associadas à diminuição da autofagia nestes doentes. Para tal, serão selecionados polimorfismos já descritos como associados a diferentes tipos de cancro. Por exemplo no gene ATG16L (rs2241880 - T300A), que foi associado à doença de Crohn e ao desenvolvimento de cancro colo retal humano, ou no gene ATG10 (rs1864182 - P220H), associado ao risco de desenvolvimento de cancro de mama em algumas populações. Depois de selecionados os polimorfismos, a sua presença será avaliada por genotipagem numa coorte de doentes de LMA. Os polimorfismos serão correlacionados com a avaliação da atividade autofágica e com o subtipo e agressividade da doença, tendo como objetivo principal a identificação dos mesmos como marcadores genéticos para diagnóstico e prognóstico.

4. Tarefas

Tendo por base os objetivos do projeto, as tarefas a desenvolver pelo estudante-investigador serão:

- ☒ Tarefa 1 – Genotipagem de polimorfismos em amostras de LMA – Seleção e genotipagem dos polimorfismos (estudante-investigador e supervisores);
- ☒ Tarefa 2 – Expressão quantitativa de mRNA - Será realizada por PCR em tempo real (estudante-investigador e supervisores);
- ☒ Tarefa 3 – Análise por imunotransferência dos níveis de proteínas e determinação da atividade da autofagia - A atividade autofágica medida pela acumulação do marcador LC3-II (estudante-investigador e supervisores);
- ☒ Tarefa 4 – Análise estatística dos resultados obtidos - (estudante-investigador e supervisores).

5. Metodologia de acompanhamento e formação do estudante-investigador

O estudante-investigador desenvolverá o projeto no ICVS, Escola de Medicina. A sua supervisão será baseada no acompanhamento direto do desenvolvimento das atividades de investigação, de forma à promoção das competências de investigação e interação com demais investigadores. Serão privilegiadas, entre outras, estratégias que conduzam à troca de opiniões entre o estudante-investigador e os supervisores, à expressão e debate de ideias, à investigação individual e de grupo. Estas metodologias permitirão a aquisição de instrumentos conceptuais e o desenvolvimento da capacidade de colocar questões, pensamento crítico, tomada de decisão e de avaliação. Especificamente, o estudante-investigador terá um papel ativo no desenvolvimento de todas as tarefas previstas, acompanhado diretamente por um dos supervisores. A metodologia de acompanhamento inclui ainda a realização de reuniões semanais para discussão do progresso do projeto. A imersão do estudante-investigador na investigação científica será também promovida pela sua participação em reuniões científicas semanais do instituto e outras atividades realizadas no âmbito do projeto em que está inserido.

6. Calendarização do Projeto

Mês	Mês 1	Mês 2	Mês 3	Mês 4	Mês 5	Mês 6
	Tarefa 1					
		Tarefa 2				
			Tarefa 3			
					Tarefa 4	

Project Title – Study of the impact of iodine supplementation to the pregnant women in the quality of pregnancy and delivery and on the thyroid status of the newborn



Inserted in a financed project?

Yes No

Principal Investigator (PI):

Joana Palha [School of Medicine (EM)/ICVS].

Monitoring team and training of student-researchers:

- Maria Lopes Pereira;
- Susana Roque;
- Patrício Costa.

Organic Unit/Research Center:

School of Medicine/ICVS.

Scientific areas of the project:

Health Sciences/Medicine.

Bachelors and Integrated Masters:

- Medicine;
- Psychology;
- Nursing;
- Biochemistry;
- Applied Biology.

1. Summary of the project

Iodine deficiency does not allow the development of the full intellectual potential of each individual. For this reason, several countries recommend iodine supplementation in preconception, pregnancy and lactation. Our previous studies contributed to the National Health Authorities to issue a recommendation (since in 2013), for iodine supplementation in preconception and in pregnant and lactating women. The project is integrated in a study to evaluate its impact on pregnancy outcomes, women and newborn thyroid hormone homeostasis and newborn's psychomotor development.

2. Objectives

- (i) Compile information on nutritional status of the pregnant/pregnant to be women enrolled in the study.
- (ii) Characterize the sociodemographic variables of the women in the study.
- (iii) Relate iodine status with parameters of maternal and newborns thyroid homeostasis.

3. Investigation Plan and Method

Studies from our and other groups have showed iodine deficiency in women of childbearing age in Portugal. This contributed to the National Health Authorities to issue a recommendation that started in 2013, for iodine supplementation (200 mcg/day) in preconception and in pregnant and lactating women. The success of such broad intervention now needs to be evaluated in various dimensions.

The present proposal is integrated in a study in which we intend to evaluate the impact of iodine supplementation on obstetric outcomes and on the newborn thyroid hormone status. It proposes to retrospectively characterize specific parameters (thyroid function and homeostasis, iodine status) of pregnancy and delivery of

women who gave birth upon the implementation of the iodine supplementation guidelines; and the thyroid hormone status and psychomotor development of the newborn.

4. Tasks

Based on the objectives of the project, the tasks to be developed by the student-researcher will be:

- ✗ Task 1 – Interaction with participants and health care professionals in the community health centers (USF) recruiting and following up in the study;
- ✗ Task 2 – Collection of sociodemographic and biological data;
- ✗ Task 3 – Data bases set up and organization;
- ✗ Task 4 – Data analysis;
- ✗ Task 5 – Writing Final Report.

All tasks are integrated within the project's team and will always be done collaboratively.

5. Methodology for monitoring and training the student-researcher

The timetable for the student will be organized every other week in order to have a team member guiding/supervising the activities.

The student will participate in the weekly/biweekly project meetings.

6. Project Schedule

Month	Apr.	May.	Jun.	Jul.	Aug.	Sept.
Task 1						
Task 2						
Task 3						
Task 4						
						Task 5



Project Title – Therapeutic ASOs for Alzheimer’s disease and Down syndrome brain pathologies






Inserted in a financed project?

Yes No

Principal Investigator (PI):

-  Ioannis Sotiropoulos [School of Medicine (EM)/ICVS];
-  Joana Silva [School of Medicine (EM)/ICVS].


Monitoring team and training of student-researchers:

-  Ioannis Sotiropoulos;
-  Joana Silva;
-  Carlos Marques.




Organic Unit/Research Center:

-  School of Medicine (EM)/ICVS.

Scientific area of the project:

-  Neurosciences.

Bachelors and Integrated Masters:

-  Biochemistry;
-  Biology;
-  Biological Engineering.

1. Project Summary

Therapeutic antisense oligonucleotides (ASOs) represent a revolution in modern pharmacology offering potential RNA-base treatment of neurological disorders with no current therapy. Based on commonalities in brain pathology between Alzheimer’ disease (AD) and Down syndrome (DS), e.g. Tau neuropathology, the current project monitors the efficacy of newly-synthesized ASOs (designed at RNA Therapeutics Institute, USA) in the amelioration of neuronal and brain malfunction in both disorders.

2. Objectives

Regulating the mRNA of the Tau gene, this project will monitor different categories of newly-synthesized therapeutic ASOs against Tau-driven neuronal malfunction using both in vitro (neuronal cultures) and in vivo (transgenic animal models). Analysis of the ASOs efficacy will include molecular, cellular (WB, qPCR, RNA Scope) and neurostructural (Golgi) techniques in either neuronal cultures or transgenic animal models of AD and DS.

3. Investigation Plan and Method

51 ASOs are designed for: i) reducing levels of total Tau protein (known to be increased in AD and DS pathologies); ii) regulate and fix Tau splicing which is altered in AD/DS brain pathology, leading to increased Tau and downstream neuronal malfunction. These 51 ASOs have been already monitored and tested in two cell lines: N2A cells and SH-SY5Y-P301LTau cells (expressing P301L mutant human Tau).

The detailed tasks are summarized below:

Task 1: Based on the results of the above screening on cell lines, the successful ASOs are already selected and will be tested in neuronal phenotype using primary neurons of AD and DS transgenic mice (P301LTau and Ts65Dn, respectively) in this task of the project. Thus, the student (s) will test the ASOs efficiency in reducing

levels of total or specific splicing-dependent isoform of Tau mRNA (measured by pPCR) as well as Tau protein (monitored by both WB and IF staining).

Task 2: ASOs with higher efficiency (>50% decrease in total Tau or 4R-Tau) will be tested in AD and DS transgenic mice (4-5 months old). ASOs will be i.c.v injected in these animals brain and, 1 month later, brain areas affected in both AD and DS pathologies [hippocampus and prefrontal cortex (PFC)] will be monitored for Tau mRNA and protein levels (pPCR, RNA Scope and WB analyses). ASOs-driven reversibility of the neuronal atrophy found in AD and DS Tg mice will be analyzed by Golgi analysis.

4. Tasks

Based on the objectives of the project, the tasks to be developed by the student-researcher will be:

- ✎ Task 1 – the chosen student together with 1 PhD student of my team will measure the effect of the above ASOs on reduction of total Tau protein as well as splicing normalization of Tau different isoforms (4R and 3R Tau isoforms) in primary neurons (1,5 month).
- ✎ Task 2 – the student and 1 team member will inject the best 2 ASOs (selected in Task1) to the brain of adult Tg mice and monitor the: a) reduction of Tau pathology (Tau mRNA and protein levels) in hippocampus of these mice and, b) recovery of neurostructural atrophy (2 months).

5. Methodology for monitoring and training the student-researcher

Under the daily supervision of the team leader (Dr. Sotiropoulos) as well as 1 member of his team (Joana Silva in task2 or Carlos Marques in task 1), the student will receive training and perform primary culture (Carlos Marques) as well as perform molecular and cellular analysis as well as 3D neuronal reconstruction analysis in the brain (Joana Silva). In addition, the student will acquire the knowledge of how to address specific questions identifying the correct experimental model/design and be able to design and perform analysis of different data sets (Dr. Sotiropoulos, Joana Silva). The student will also participate in Dr. Sotiropoulos progress report meeting every two weeks where the student will present his/her data/technical problems as well as present his/her final results at the end of her internship. The student will contribute to the overall scientific interpretation of the analysed data and discussing a potential future development of the project work.

6. Project Schedule

Month	1rst month	2nd month	3rd month	4nth month
	Task 1			
			Task 2	


Project Title – Neuronal circuits of reward and aversion






Inserted in a financed project?

Yes No

Principal Investigator (PI):

-  Ana João Rodrigues [School of Medicine (EM)/ICVS].


Monitoring team and training of student-researchers:

-  Carina Soares-Cunha;
-  Bárbara Coimbra;
-  Verónica Domingues.





Organic Unit/Research Center:

-  School of Medicine (EM)/ICVS.

Scientific area of the project:

-  Neurosciences.

Bachelors and Integrated Masters:

-  Applied Biology;
-  Biochemistry;
-  Biomedical engineering;
-  Psychology.

1. Project Summary

Perceiving a rewarding event is so important for species' survival as avoiding aversive situations. Reward deficits underlie several neuropsychiatric disorders such as depression or addiction. Importantly, stress greatly impacts the reward circuit at the molecular and functional level, and acts as a trigger for these disorders. Characterizing the neural circuits that mediate reward and reinforcement in control (and stressed animals) is thus important to better understand the etiology of these disorders, and to develop more targeted and efficient therapeutic approaches.

2. Objectives

- (i) Understand the contribution of specific neuronal circuits [specific projections from the nucleus accumbens (NAc) to the ventral pallidum (VP)] for rewarded behaviors.
- (ii) Dissect what are the downstream neuronal targets of this circuit that are activated and relevant for an appropriate behavioral outcome.

3. Investigation Plan and Method

In this work we will evaluate if selective optogenetic activation and inhibition of specific neuronal populations that project from the NAc (D2-MSNs) that project to the VP, during the performance of an operant task (lever pressing task) to obtain a natural reward (food), has an impact on rodent behavior. For that we will perform statistical analysis to compare how much effort animals are willing to make (number of lever presses) to obtain a food reward versus a food reward plus optical activation/inhibition of D2-MSN-to-VP projections. In addition, we will use molecular biology tools in order to investigate if changing activity of D2-MSN-to-VP projections during behavior significantly changes neuronal recruitment of other brain regions of the reward circuit. We will perform immunofluorescence to detect a neuronal activation marker (c-fos) in distinct neuronal cell types (GABAergic, glutamatergic, cholinergic and dopaminergic) in several brain regions of the reward circuit – NAc, VP and ventral tegmental area (VTA). This will allow us to understand how

manipulation of D2-MSN-to-VP projections during behavior affects the activity of several brain regions.

4. Tasks

Based on the objectives of the project, the tasks to be developed by the student-researcher will be:

- ✂ Task 1 – Behavioral analysis – Data from an operant task will be analyzed to assess preference/avoidance for a lever associated with food reward versus a food reward+optical manipulation;
- ✂ Task 2 – Immunofluorescence – brain tissue from animals that performed behavior will be used to detect c-fos expression in distinct neuronal cell types (GABAergic, glutamatergic, cholinergic and dopaminergic) of several brain regions – NAc, VP and VTA. Confocal images will be obtained to count positive neurons;
- ✂ Task 3 – Final Report Writing.

5. Methodology for monitoring and training the student-researcher

The student-researcher will be supervised by the PI of the project, which will meet with him on a weekly basis. The student-researcher will be accompanied in the lab by the other members of the research team, who will provide the behavioral data for analysis, teach the principal concepts of statistical analysis in Prism software, and will teach and supervise in the execution of the immunofluorescences, confocal imaging and cell counting.

6. Project Schedule

Month	Mar.	Apr.	May.	Jun.	Jul.	Aug.	Sept.
	Task 1						
		Task 2.a					
			Task 2.b				
				Task 2.c			
					Task 2.d		
						Task 2.e	
							Task 3

Notes:

Task 1 – Statistical analysis of behavioral data;

Task 2.a – Immunofluorescence for NAc

Task 2.b – Immunofluorescence for VTA

Task 2.c – Immunofluorescence for VTA

Task 2.d – Confocal Microscopy

Task 2.e – Cell Countings

Project Title – Bioreactors as Tools for Controlling Mesenchymal Stem Cells Secretome



Inserted in a financed project?

Yes No

Project in which it is inserted:

- ✓ CombiCORD - Inducing Spinal Cord Injury Regeneration through the combinatory action of pharmacotherapies

Principal Investigator (PI):

- 👤 António Salgado [School of Medicine (EM)/ICVS].

Monitoring team and training of student-researchers:

- 👤 Ana Marote;
- 👤 Raquel Marques;
- 👤 Bárbara Pinheiro.

Organic Unit/Research Center:

- 📍 School of Medicine (EM)/ICVS.

Scientific area of the project:

- 🔬 Regenerative Medicine.

Bachelors and Integrated Masters:

- 🎓 Biomedical engineering;
- 🎓 Biological Engineering;
- 🎓 Applied Biology;
- 🎓 Biochemistry.

1. Project Summary

Mesenchymal stem cells (MSCs) have shown to ameliorate the injured and disease Central Nervous System (CNS) through their secretome. However, they survive poorly in the brain, fact that may limit their action. In recent years we have shown that the secretome of MSCs is a potent modulator of neuronal and glial cell survival and differentiation. We have also observed that the administration of concentrated secretome improves the condition of animal models of SCI and PD. In the resent work we aimed at further improved this capacity by modulating the activity of MSCs, and their secretome, through the use of bioreactors.

2. Objectives

- (i) Modulate the culturing conditions of MSCs using vertical oriented wheel bioreactors.
- (ii) Characterize the secretome obtained in the secretome through proteomic based approaches.
- (iii) Investigate the effects of the secretome obtained in 1, in in vitro models of neuronal differentiation.

3. Investigation Plan and Method

In recent years we have been exploring the establishment of cell-free therapies in which, instead of transplanting MSCs, only their secretome is administered to the patients. Reports from our lab have shown that the secretome of MSCs, in the form of conditioned media (CM), increases cell viability, survival and differentiation in neuronal and glial cell populations from different origins. Due to their intrinsic characteristics, MSCs are highly responsive to dynamic culturing environments, such as suspension bioreactors. Indeed it has been shown that they can act as modulators of intracellular cell signaling leading to beneficial alterations on parameters such as proliferation, survival and protein synthesis. Thus it is possible that the secretome of MSCs is also altered under these dynamic conditions, with

potential benefits for regenerative medicine purposes. Based on this, we have concentrated efforts in understanding the role of the dynamic culturing environment of suspension bioreactors in MSCs secretome. In recent studies we have cultured MSCs in suspension DASGIP bioreactors and subsequently collected their CM. Our data revealed that the secretome of MSCs cultured under dynamic conditions leads to a more robust differentiation of human neural progenitors, when compared to that of statically cultured MSCs. We consider that these results are a strong indicator that the use of suspension bioreactors can modulate and enrich the secretome of MSCs. By doing so more potent effects, than those already observed by our lab, are expected to be achieved in models of injury and disease in the CNS.

4. Tasks

Based on the objectives of the project, the tasks to be developed by the student-researcher will be:

- ✂ Task 1 – Impact of Different Bioreactor based Culturing Conditions on MSCs Secretome – MSCs from the bone marrow will be isolated and further characterized for standard cell surface markers. Cells from at least 3 individuals will be included to identify possible batch-to-batch variations. Upon isolation cells will be cultured on cytodex 3 microparticles and inoculated into VOWB bioreactors. Samples will be concentrated and characterization of both fractions will then be performed using SILAC/ITRAQ based mass spectrometry. Bioplex based assays and western blot. A correlation between the number of cells at the time of CM collection and the concentration of the identified factors will be established in order to define if in fact there is modulation of the secretome by tested dynamic conditions;
- ✂ Task 2 – Impact of MSCs secretome in the Differentiation of Neuronal Progenitors – Human neural progenitor cells (hNPCs) will be incubated with the secretome conditions obtained in 1 for periods up to 14 days. Neuronal, Astrocyte and Oligodendrocyte differentiation will be assessed by immunostaining for MAP-2, GFAP and O4, upon observation in the confocal microscope.

5. Methodology for monitoring and training the student-researcher

António Salgado will supervise the overall development of the work. Raquel Marques will coordinate the studies related with the bioreactor application, while Ana Marote and Bárbara Pinheiro will assist the student in the in vitro differentiation assays. The supervision team will meet with the student every 2 weeks in order to assess the development of the project.

6. Project Schedule

1 Year												
Month	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Task 1											
							Task 2					