



*Fondazione per la Ricerca
sulla Fibrosi Cistica - Onlus
italian cystic fibrosis research foundation*

XIX CONVENTION OF INVESTIGATORS IN CYSTIC FIBROSIS

25 – 26 novembre 2021

Aldo Di Leonardo, Raffaella Melfi, Patrizia Cancemi, Viviana Barra, Roberta Chiavetta

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche. Università degli studi di Palermo, Italia

***In vitro evaluation of novel sequence-specific
RNA editing tools to rescue nonsense mutant
CFTR transcript***

CODICE PROGETTO: FFC#5/2021

OBIETTIVI DEL PROGETTO

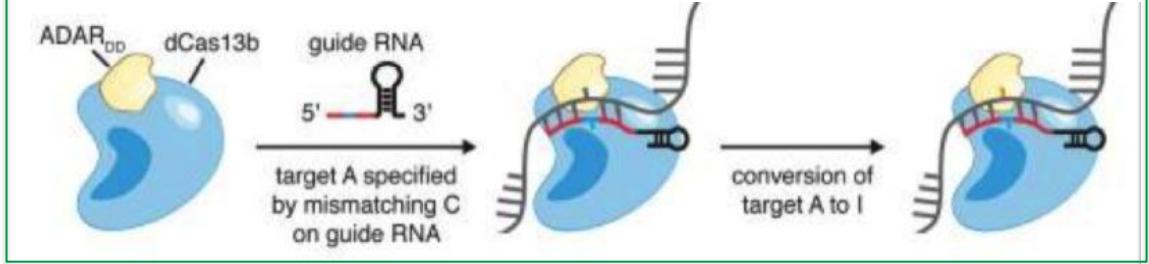
Il progetto propone la correzione specifica (*RNA editing*) di triplette STOP (UGA) nell'RNA messaggero del gene CFTR nel sistema modello di cellule umane in vitro CFF-HBEgeCFTR^{W1282X} e CFF-HBEgeCFTR^{G542X}, mediante nuovi strumenti molecolari:

- 1- Sistema REPAIRv2, veicolato da virus adeno-associati (AAV) modificati.
- 2- Oligonucleotidi antisenso (ASOs) complementari alla regione della mutazione.

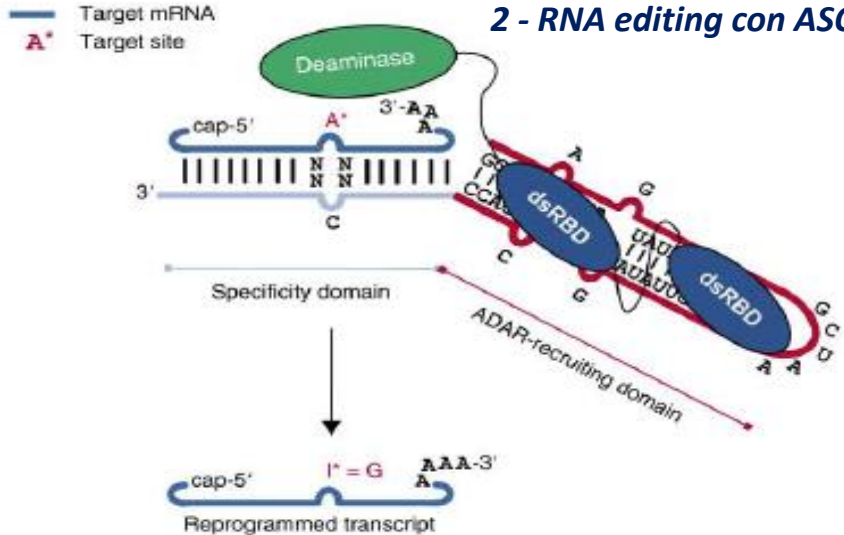


RNA editing: strumenti molecolari

1 - RNA editing con sistema REPAIRv2



2 - RNA editing con ASO



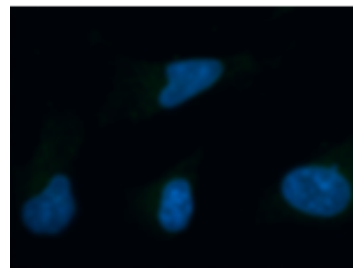
Entrambi gli approcci di RNA-editing proposti indirizzano in maniera specifica l'enzima Adenina Deaminasi (ADAR) sulla tripletta STOP nell'RNA messaggero, modificando il nucleotide mutato (da adenina ad inosina). Viene così corretta la tripletta STOP e prodotta la proteina CFTR.

DATI PRELIMINARI

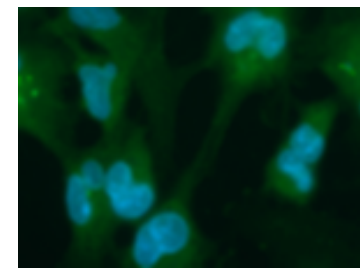
I nostri risultati precedenti, ottenuti in altri sistemi cellulari, hanno indicato la strada per correggere in maniera specifica triplette STOP nell'RNA messaggero del gene CFTR. Anche se rimane ancora da perfezionare la veicolazione ottimale di questi strumenti molecolari nelle cellule bersaglio.

(FFC#5-2018; IntJMolSci. 2020 Jul 6;21(13):4781)

Immunofluorescenza in cellule IB3.1 +Anticorpo α CFTR



Non trattate



RNA editing

Grazie all'editing dell'mRNA in cellule con la mutazione STOP (uga) nel gene CFTR si osserva di nuovo la proteina CFTR, in verde; in Blu i nuclei.

COME QUESTO PROGETTO CONTRIBUISCE ALL'AVANZAMENTO DELLA RICERCA SULLA FIBROSI CISTICA

Lo studio di nuovi approcci molecolari basati sulla correzione di triplette STOP nell'RNA messaggero potrebbe essere alla base dello sviluppo di terapie per pazienti FC che presentano mutazioni STOP nel gene CFTR e per i quali a oggi non esistono terapie per correggere il difetto genetico.