

TITOLO DEL PROGETTO

Analisi genomica dell'instabilità genica indotta da strutture non-B del DNA in cellule umane cancerose e embrionali staminali.

PROGETTO SCIENTIFICO

Introduzione.

Gli R-loops sono strutture non-B del DNA in cui uno dei due filamenti della doppia elica del DNA si appaia temporaneamente con un filamento di RNA, in posizioni geniche attivamente trascritte. Queste strutture sono fondamentali in processi cellulari fisiologici ma sono state recentemente individuate anche come fattori chiave nel causare instabilità genomica. Un enzima importante nella regolazione delle tensioni torsionali del DNA duplex, che influenzano la formazione di queste strutture non canoniche del DNA, è la Topoisomerasi I (Top1).

Nel nostro laboratorio abbiamo recentemente dimostrato come composti che interferiscono con l'attività della Top1 portino a modificazione dei livelli di R-loops in cellule tumorali umane, con conseguente induzione del danno al DNA e formazione di micronuclei. Abbiamo inoltre evidenziato come la generazione di micronuclei possa indurre la cascata cellulare mediata dal pathway di cGAS/STING, con effetto immunomodulatorio a livello cellulare.

Con il presente progetto ci si pone lo scopo di definire in maniera più accurata, prevalentemente mediante analisi bioinformatiche, i siti genomici in cui insorge il danno al DNA che porta all'instabilità genomica descritta. I dati saranno ottenuti e analizzati sia per linee cellulari cancerose che per cellule umane staminali embrionali, andando quindi a valutare una possibile conservazione dei pathway attivati dall'inibizione della Top1 umana.

Fase sperimentale.

Al fine di valutare l'effetto indotto dai composti Top1 poisons sulla generazione del danno al DNA, su linee cellulari cancerose (Hela e U2OS) e su una linea cellulare umana embrionale staminale (H1-ESC) verranno mappate genome wide le rotture mediante metodica END-Seq a vari tempi di trattamento con i farmaci. I dati wet così ottenuti saranno analizzati mediante approccio bioinformatico per poter definire i siti di insorgenza del danno al DNA e per proporre un possibile modello molecolare di insorgenza dell'instabilità genomica. In particolare per quest'ultimo punto, i dati bioinformatici ottenuti mediante analisi END-Seq verranno incrociati con dati da altri database pubblici o interni del laboratorio, quale la distribuzione degli R-loops lungo il genoma, i siti di origine della replicazione, i livelli trascrizionali dei geni, rispettivamente nelle linee cellulari indicate. Il confronto tra linee cancerose e linee staminali embrionali permetterà di stabilire se vi sia un meccanismo molecolare comune e conservato alla base dell'instabilità genomica indotta dai poisons della Top1, con rilevanti ripercussioni a livello terapeutico.

Risultati attesi.

Al termine del progetto, sarà possibile definire se l'inibizione della Top1 possa determinare, sia in cellule cancerose che non, instabilità genomica mediata dalla formazione di conflitti tra trascrizione e replicazione, e quali sono i principali player molecolari alla base del meccanismo descritto.

PIANO DI ATTIVITA' DI FORMAZIONE

Formazione di un ricercatore per analisi genomiche e di instabilità del genoma.

Nell'ambito del progetto di ricerca, l'assegnista acquisirà:

- Capacità di effettuare in piena autonomia analisi bioinformatiche su dati ottenuti in laboratorio o estratti da database pubblici.
- Capacità di interagire con biologi molecolari allo scopo di ideare in autonomia una strategia bioinformatica per l'approccio a quesiti scientifici di rilievo.
- Capacità di tutoraggio di studenti in tesi di laurea magistrale e dottorandi.

La formazione teorica sarà basata su:

- a) Studio intenso di letteratura scientifica pertinente
- b) Interazione con biologi molecolari e altri bioinformatici del gruppo di ricerca
- c) Esposizione e discussione di articoli scientifici con tutti i membri del gruppo di ricerca
- d) Presentazione e discussione dei risultati ottenuti agli altri membri del gruppo di ricerca
- e) Partecipazione a congressi nazionali e/o internazionali pertinenti.

I seminari interni ai punti c e d avranno cadenza settimanale.

Inoltre, l'assegnista presenterà i propri risultati a congressi nazionali e/o internazionali (nelle modalità previste) a tematiche oncologiche o di genomica e biologia molecolare.