



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

Titolo: “Exploring the role of *PRR12* in Neuroocular Syndrome”

Tutor: Prof.ssa Elena Bacchelli

Responsabile scientifico e titolare dei fondi: Prof. Giovanni Perini

Progetto di ricerca

I Disturbi del Neurosviluppo (Neurodevelopmental disorders, NDDs) sono un gruppo di condizioni che colpiscono lo sviluppo e il funzionamento del cervello, causando difficoltà in vari aspetti della vita e con un notevole impatto sociale. Il range dei deficit varia da limitazioni molto specifiche dell'apprendimento fino alla compromissione radicale delle funzioni cognitive, della capacità di comunicare, del comportamento e di abilità psicomotorie. Inoltre, queste condizioni sono spesso associate ad altri problemi clinici, tra cui ritardo dello sviluppo, difetti cranio-facciali e disturbi oculari che aggravano ulteriormente il quadro complessivo. A questa estrema variabilità clinica si affianca anche un'estrema eterogeneità genetica, in quanto molti geni e mutazioni diverse sono stati associati agli NDD. In particolare, l'introduzione delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione (NGS) hanno permesso l'identificazione di nuovi geni coinvolti in rare forme di sindromi del neurosviluppo. Tra questi, il gene *PRR12* (Proline Rich 12) è stato recentemente implicato come responsabile della sindrome neuro-oculare (NOC; OMIM:619539), un nuovo disturbo del neurosviluppo caratterizzato da una combinazione di disabilità intellettiva (DI), alterazioni neuropsichiatriche, anomalie strutturali variabili degli occhi e ulteriori anomalie multisistemiche. Nello specifico, sono state identificate varianti eterozigoti *de novo* con perdita di funzione (LOF) in pazienti con una gamma di manifestazioni cliniche, tra cui alterazioni neuropsichiatriche, disturbi dello spettro autistico e fenotipi oculari complessi come microftalmia e anomalia di Peters [1-3]. Questi dati suggeriscono che l'aploinsufficienza di *PRR12* sia la causa principale della sindrome NOC e che *PRR12* svolga un ruolo cruciale sia nello sviluppo neurologico sia nella formazione oculare.

Nonostante i recenti progressi, la funzione biologica precisa di *PRR12* rimane in gran parte sconosciuta. Tuttavia, la localizzazione nucleare della proteina, la presenza di due domini AT-hook leganti il DNA e le modificazioni post-traduzionali identificate (fosforilazioni su più residui di serina/treonina e acetilazione della lisina 1223 (NP_065770)) [4], suggeriscono che *PRR12* possa agire come cofattore nucleare, con un ruolo nella regolazione trascrizionale e del rimodellamento della cromatina, con potenziali impatti su molteplici funzioni cellulari.

Pertanto, l'obiettivo principale di questo progetto è di indagare e comprendere come le varianti in *PRR12* causino la sindrome NOC. Ci focalizzeremo su tre obiettivi specifici:

1. Analizzare l'effetto delle varianti LOF identificate nei pazienti affetti da NOC sull'espressione di *PRR12*.

PROF.SSA ELENA BACCHELLI

Via Francesco Selmi 3 | 40126 Bologna | Italia | Tel. + 39 051 2094085 | elena.bacchelli@unibo.it



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

2. Creare modelli cellulari (neurali e iPS) con varianti LOF in *PRR12* per comprendere il ruolo di *PRR12* nello sviluppo neuronale.
3. Determinare l'attività molecolare di *PRR12* nel nucleo delle cellule neuronali e il suo interattoma.

Auspiciabilmente, questo progetto contribuirà a far luce sulla funzione di *PRR12* e il suo ruolo nelle cellule neuronali. Inoltre, chiarirà l'effetto delle varianti di *PRR12* sull'espressione e la funzione della proteina e, più in generale, sulla patogenesi della sindrome NOC.

Attività dell'assegnista e piano di formazione

Nel contesto del progetto, l'assegnista parteciperà alla realizzazione dei primi due obiettivi. Innanzitutto, l'assegnista dovrà occuparsi di testare l'espressione di *PRR12* in cellule primarie provenienti da pazienti con varianti LOF in *PRR12*, identificate dai nostri collaboratori clinici. Effettuerà l'estrazione dell'RNA e quindi, mediante sequenziamento Sanger e qRT-PCR, testerà la presenza di nonsense-mediated decay (NDM) e una possibile riduzione della trascrizione compatibile con l'espressione monoallelica dell'allele wild-type. Inoltre, l'assegnista parteciperà all'analisi bioinformatica dei dati ottenuti dal sequenziamento "long-reads" di RNA utilizzando la tecnologia PacBio, per testare gli effetti delle diverse varianti sulle possibili isoforme di splicing e verificare la presenza di meccanismi di splicing aberrante nei pazienti.

Parallelamente, l'assegnista si occuperà di generare modelli cellulari (neuronali e cellule staminali pluripotenti indotte umane (hiPSCs)) con varianti LOF in *PRR12* per studiare l'effetto delle mutazioni e, più in generale, il ruolo di *PRR12* nello sviluppo neuronale. In questo contesto, l'assegnista imparerà a gestire e a differenziare hiPSCs e acquisirà conoscenze di gene editing. Infine l'assegnista valuterà il fenotipo dei diversi modelli cellulari (hiPSCs/cellule neuronali, con mutazioni in *PRR12* e wild type) sulla base di diversi parametri biologici, quali la crescita cellulare, la formazione di colonie, la motilità, la migrazione, l'acquisizione/perdita di marcatori di differenziamento neuronale, metabolismo.

L'attività, la crescita professionale e la produttività dell'assegnista sarà monitorata nel contesto di incontri programmati con il tutor a scadenze fisse (settimanali o ogni due settimane), in cui l'assegnista riporterà e discuterà i dati ottenuti (descrivendo anche le eventuali difficoltà incontrate e le modalità con cui esse sono state affrontate) e in cui verranno programmate le attività delle settimane successive. L'assegnista si occuperà anche della presentazione dei dati durante i lab meeting e della preparazione di poster, presentazioni orali e lavori scientifici inerenti al progetto. Inoltre, l'assegnista sarà inoltre incoraggiato a partecipare e a presentare il proprio lavoro a workshop e conferenze nazionali o internazionali sugli argomenti di pertinenza del progetto.

PROF.SSA ELENA BACCHELLI

Via Francesco Selmi 3 | 40126 Bologna | Italia | Tel. + 39 051 2094085 | elena.bacchelli@unibo.it



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI FARMACIA
E BIOTECNOLOGIE

Bibliografia

1. Leduc MS, Mcguire M, Madan-Khetarpal S, Ortiz D, Hayflick S, Keller K, Eng CM, Yang Y, Bi W. De novo apparent loss-of-function mutations in PRR12 in three patients with intellectual disability and iris abnormalities. *Hum Genet.* 2018 Mar;137(3):257-264. doi: 10.1007/s00439-018-1877-0.
2. Reis LM, Costakos D, Wheeler PG, Bardakjian T, Schneider A, Fung SSM; University of Washington Center for Mendelian Genomics, Semina EV. Dominant variants in PRR12 result in unilateral or bilateral complex microphthalmia. *Clin Genet.* 2021 Mar;99(3):437-442. doi: 10.1111/cge.13897.
3. Chowdhury F, Wang L, Al-Raqad M, Amor DJ, Baxová A, Bendová Š, Biamino E, Brusco A, Caluseriu O, Cox NJ, Froukh T, Gunay-Aygun M, Hancárová M, Haynes D, Heide S, Hoganson G, Kaname T, Keren B, Kosaki K, Kubota K, Lemons JM, Magriña MA, Mark PR, McDonald MT, Montgomery S, Morley GM, Ohnishi H, Okamoto N, Rodriguez-Buritica D, Rump P, Sedláček Z, Schatz K, Streff H, Uehara T, Walia JS, Wheeler PG, Wiesener A, Zweier C, Kawakami K, Wentzensen IM, Lalani SR, Siu VM, Bi W, Balci TB. Haploinsufficiency of PRR12 causes a spectrum of neurodevelopmental, eye, and multisystem abnormalities. *Genet Med.* 2021 Jul;23(7):1234-1245. doi: 10.1038/s41436-021-01129-6.
4. Córdova-Fletes C, Domínguez MG, Delint-Ramirez I, Martínez-Rodríguez HG, Rivas-Estilla AM, Barros-Núñez P, Ortiz-López R, Neira VA. A de novo t(10;19)(q22.3;q13.33) leads to ZMIZ1/PRR12 reciprocal fusion transcripts in a girl with intellectual disability and neuropsychiatric alterations. *Neurogenetics.* 2015 Oct;16(4):287-98. doi: 10.1007/s10048-015-0452-2. Epub 2015 Jul 11. PMID: 26163108.