

## Progetto di ricerca “Assegno di Ricerca su Zebrafish e instabilità genomica” 2025

---

Titolo: Ruolo del “backtracking” della RNA polimerasi II nello sviluppo di Zebrafish.

Tutor: Prof. Giovanni Capranico

Co-tutor: Dr. Pietro Cacialli

Gli R-loops sono strutture non-canoniche del DNA in cui uno dei due filamenti della doppia elica del DNA è appaiato con un filamento di RNA, soprattutto al 5' di geni attivamente trascritti. 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 di queste strutture non canoniche del DNA, è la DNA Topoisomerasi I (Top1) che governa le tensioni torsionali del genoma. 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, delle collisioni replicazione/trascrizione (TRC) e formazione di micronuclei. Inoltre, abbiamo definito i loci genomici dove le TRC sono più frequenti e stabilito che TRC e danno dipendono da elevati livelli di trascrizione e da “backtracking” di RNA polimerasi II. Infine, abbiamo evidenziato come la generazione di micronuclei possa indurre la cascata cellulare mediata dal pathway di cGAS/STING, con effetto immunomodulatorio a livello cellulare in cellule di microcitoma polmonare umano.

In collaborazione con il dr. Pietro Cacialli, l'assegnista sarà responsabile di definire il ruolo di mutazioni della RNA polimerasi II nei meccanismi molecolari dello sviluppo embrionale in Zebrafish. Il progetto prenderà in esame mutazioni che conferiscono un fenotipo “backtracking resistant” alla RNA polimerasi II per definire l'effetto delle mutazioni nello sviluppo e nei fenotipi cellulari differenziati. Inoltre, il progetto prevede di determinare se il danno al DNA e le TRC sono indotte da inibitori della Topoisomerasi I anche in Zebrafish, e le conseguenze sulla stabilità del genoma.

### Bibliografia

- [1] R. C. Duardo *et al.*, “Human DNA topoisomerase I poisoning causes R loop–mediated genome instability attenuated by transcription factor IIS,” *Sci. Adv.*, vol. 10, no. 21, p. 8196, May 2024.
- [2] G. Miglietta, J. Marinello, M. Russo, and G. Capranico, “Ligands stimulating antitumour immunity as the next G-quadruplex challenge,” *Mol. Cancer*, vol. 21, p. 180, 2021.
- [3] J. Marinello *et al.*, “Topoisomerase I poison-triggered immune gene activation is markedly reduced in human small-cell lung cancers by impairment of the cGAS/STING pathway,” *Br. J. Cancer*, vol. 127, no. 7, pp. 1214–1225, Jul. 2022.
- [4] A. De Magis *et al.*, “DNA damage and genome instability by G-quadruplex ligands are mediated by R loops in human cancer cells,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 116, no. 3, pp. 816–825, 2019.
- [5] R. C. Duardo, F. Guerra, S. Pepe, and G. Capranico, “Non-B DNA structures as a booster of genome instability,” *Biochimie*, vol. 214, pp. 176–192, Jul. 2023.
- [6] G. Miglietta, M. Russo, and G. Capranico, “G-quadruplex–R-loop interactions and the mechanism of anticancer G-quadruplex binders,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 48, no. 21, pp. 11942–11957, Dec. 2020.
- [7] Cacialli P, Dogan S, Linnerz T, Pasche C, Bertrand JY. Minichromosome maintenance protein 10 (mcm10) regulates hematopoietic stem cell emergence in the zebrafish embryo. *Stem Cell Reports*. 2023 Jul 11;18(7):1534-1546.
- [8] Cacialli P, Mailhe MP, Wagner I, Merkler D, Golub R, Bertrand JY. Synergistic prostaglandin E synthesis by myeloid and endothelial cells promotes fetal hematopoietic stem cell expansion in vertebrates. *EMBO J*. 2022 Oct 4;41(19):e108536.

## PIANO FORMATIVO

### **Formazione di un ricercatore per ricerche su *cancer genome instability* utilizzando tecnologie post-genomiche e di biologia molecolare cellulare.**

L'assegnista farà parte del gruppo di ricerca come post-doc e sarà responsabile del progetto scientifico condotto anche con l'aiuto di uno studente e/o dottorando.

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

- Capacità di disegnare esperimenti e analizzare dati di proteomica/genomica in modo integrato. Capacità di comunicare i propri risultati ad altri ricercatori.

Queste capacità forniranno all'assegnista gli strumenti necessari per affrontare ricerche di Genomica funzionale per il raggiungimento degli obiettivi del progetto di cui sarà responsabile.

La formazione teorica sarà basata su: a) studio intenso della letteratura scientifica; b) esposizione e discussione di articoli scientifici con tutti i membri del gruppo di ricerca; c) presentazione e discussione dei risultati sperimentali ottenuti dal formando con gli membri del gruppo di ricerca.

I *lab meeting* sono settimanali e sono interni al gruppo.

In aggiunta, l'assegnista avrà a disposizione un fondo destinato alla partecipazione almeno ad un congresso nazionale/internazionale all'anno.