

PNRR Missione 4, Componente 2, Investimento 1.4 “Potenziamento strutture di ricerca e creazione di "campioni nazionali di R&S" su alcune Key Enabling Technologies”

Iniziativa finanziata dall'Unione europea — NextGenerationEU.

National Center for Gene Therapy and Drugs based on RNA Technology

Sviluppo di terapia genica e farmaci con tecnologia a RNA

Codice progetto MUR: **CN00000041** – CUP UNINA: **E63C22000940007**

Tematica per SPOKE 6: Indagine chimico-fisica su farmaci a RNA e sull'energetica della loro interazione con target biomolecolari.

A seguito del successo dei farmaci a mRNA, grande attenzione è stata focalizzata sullo studio e la progettazione di terapie basate sull'RNA [1]. Questi farmaci includono: mRNA, siRNA, miRNA, ASOs e aptameri. In particolare, gli aptameri a RNA possono legare con alta affinità specifici target. In particolare, gli aptameri di RNA possono legare bersagli specifici con alta affinità e un aptamero di RNA, Pegaptanib, è stato il primo terapeutico a base di RNA approvato dalla Food and Drug Administration per il trattamento della degenerazione maculare senile [2]. Nel dettaglio, il Pegaptanib è un oligonucleotide PEGilato che lega il fattore di crescita vascolare endoteliale, e inibisce la sua attività. Quindi, la scoperta di nuovi aptameri che hanno come target specifiche proteine possono aprire la strada per nuovi approcci terapeutici. Negli ultimi anni, Condorelli *et al.* hanno scoperto aptameri a RNA selettivi per le cellule del glioblastoma [3]. Per questi aptameri sono ancora sconosciuti la struttura, la stabilità termodinamica e la base molecolare delle interazioni con la proteina target. Inoltre, eventuali modifiche chimiche potrebbero apportare un miglioramento della loro attività, e di conseguenza, migliorare la loro stabilità *in vitro* e *in vivo*, prevenire l'attivazione immunologica e risultare importanti per la loro veicolazione con sistemi nanoparticellari. L'obiettivo del progetto è quindi quello di colmare queste lacune nella conoscenza sugli aptameri. Nell'ambito dello Spoke 6, in stretta collaborazione con i ricercatori dello Spoke, ci concentreremo sulla “biophysical characterization of new therapeutic aptamers as therapeutics or targeting agents” nell'ambito del Milestone MS6.2.1: Development and chemical modification of DNA/RNA-based molecules. Saranno impiegate diverse metodologie chimico-fisiche per studiare sia la stabilità degli aptameri modificati e di nuovi aptameri a RNA, sia l'energetica della loro interazione con i target. Alcune delle metodiche utilizzate saranno: spettroscopia di fluorescenza, dicroismo circolare (CD), calorimetria a scansione differenziale (DSC), calorimetria isoterma di titolazione (ITC), risonanza plasmonica di superficie (SPR). L'attività dei nuovi aptameri a RNA sarà saggiato in cellule tumorali dal gruppo della prof.ssa Condorelli. La caratterizzazione chimico-fisica, accoppiata a studi biochimici su cellule tumorali, sarà poi estesa ad altri RNA/DNA bioterapeutici.

[1] Kim, YK. RNA therapy: rich history, various applications and unlimited future prospects. *Exp Mol Med* 54, 455–465 (2022)

[2] Gragoudas, ES *et al.* Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 351, 2805-16 (2004)

[3] Affinito, A *et al.* The Discovery of RNA Aptamers that Selectively Bind Glioblastoma Stem Cells *Molecular Therapy: Nucleic Acids* 18, 99-109 (2019)