

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**

SPOKE :8 Platform for DNA-RNA delivery

Sviluppo di modelli tumorali basati sulla membrana corio-allantoidea di pollo (CAM) per analizzare il traffico, l'efficienza di rilascio e la tossicità di nanopiatteforme a base di RNA.

Lo scopo di questo progetto di ricerca è valutare la sicurezza e l'efficacia di RNA terapeutici, opportunamente veicolati in nanocarrier, in linee cellulari tumorali sensibili o resistenti ai comuni farmaci chemioterapici. L'obiettivo principale è sviluppare un modello tumorale umano basato sul CAM (membrana corio-allantoidea di pollo) come piattaforma di screening preclinico per RNA opportunamente veicolati. In particolare, gli obiettivi del progetto sono: i) generare linee cellulari tumorali (2D e 3D/sferoidi) che esprimano stabilmente geni reporter come GFP, luciferasi o GAPD come strumenti di analisi quantitativa della vitalità delle cellule bersaglio; ii) mettere a punto la procedura ottimizzata per il modello CAM. Si prevede di utilizzare come modello sperimentale cellule di cancro del colon prive di p53 (HCT 116^{p53}-/-) già presenti nel nostro laboratorio, e cellule uL3ΔHCT 116^{p53}-/-, da esse derivate e silenziate in modo stabile per la proteina ribosomale uL3; l'assenza di uL3 è associata a chemioresistenza ai comuni farmaci chemioterapici. Successivamente, per sviluppare colture tridimensionali (3D) che riflettano più da vicino la fisiopatologia dei tumori in vivo, intendiamo generare sferoidi da cellule HCT 116p53^{-/-} e uL3ΔHCT 116p53^{-/-} e da altre linee cellulari di cancro disponibili in laboratorio. Queste linee cellulari tumorali saranno utilizzate per valutare la sicurezza e l'efficacia degli RNA terapeutici quando vengono opportunamente veicolati in nanocarrier nel nostro modello sperimentale basato su CAM. Il modello CAM intrinsecamente immunodeficiente può essere utilizzato in modo efficiente e in tempi rapidi (5-10 giorni) per testare terapie mirate multiple su diverse linee cellulari tumorali e anche su frammenti derivati dallo stesso tumore; il sistema consente di monitorare il tasso di crescita del tumore e di osservare le controparti vascolari tumore/ospite. Il saggio CAM potrà essere utilizzato anche per studiare l'angiogenesi e per valutare l'invasione e le metastasi tumorali.

References

1. Schneider-Stock R, Ribatti D. The CAM Assay as an Alternative In Vivo Model for Drug Testing. *Handb Exp Pharmacol*. 2021;265:303-323. doi:10.1007/164_2020_375
2. Chu PY, Koh AP, Antony J, Huang RY. Applications of the Chick Chorioallantoic Membrane as an Alternative Model for Cancer Studies. *Cells Tissues Organs*. 2022;211(2):222-237. doi:10.1159/000513039
3. Zhu Y, Zhu L, Wang X, Jin H. RNA-based therapeutics: an overview and prospectus. *Cell Death Dis*. 2022;13(7):644. Published 2022 Jul 23. doi:10.1038/s41419-022-05075-2
- 4. Setten RL, Rossi JJ, Han SP. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics [published correction appears in *Nat Rev Drug Discov*. 2019 Mar 18;:] [published correction appears in *Nat Rev Drug Discov*. 2019 Apr 24;:]. *Nat Rev Drug Discov*. 2019;18(6):421-446. doi:10.1038/s41573-019-0017-4