

Dr.ssa Irene Dell'Anno

**Attività scientifica svolta nel 2° anno di Dottorato
Anno Accademico 2016/2017**

Introduzione. Il mesotelioma pleurico maligno (MPM) è un tumore della pleura molto aggressivo per il quale si rende indispensabile l'individuazione di biomarcatori diagnostici e prognostici. Il mio progetto di dottorato è finalizzato ad individuare geni differenzialmente espressi tra tessuti di mesotelio sano e di MPM i cui prodotti proteici potrebbero trovare impiego in questo campo.

I precedenti screening evidenziano importanti variazioni nel fenotipo di cellule di MPM indotte dal silenziamento dei geni *ASS1*, *IMP3*, *MCT4* e *RAN*. Silenziare nuovamente questi geni con un secondo nuovo siRNA e procedere alle analisi fenotipiche è necessario per confermare questi risultati ed escludere effetti “off-target”.

Il gene *RAN* è di certo quello che induce i maggiori cambiamenti se silenziato. Pertanto si è deciso di sopprimere in modo permanente (*Knock-out*) la sua espressione in una linea cellulare di MPM.

Metodi. L'espressione dei geni sopramenzionati è stata ridotta in una linea cellulare non maligna di mesotelio (Met-5A), e in quattro linee cellulari di MPM (Mero-14, Mero-25, Istmes-2, NCI-H28) tramite l'utilizzo della “RNA interference”. L'efficienza del silenziamento genico è stata valutata sia a livello trascrizionale (mediante *PCR* quantitativa) che a livello proteico (*Western Blot*). A seguito della deplezione genica è stata determinata la variazione di alcuni fenotipici, quali la proliferazione (*SRB assay*), l'apoptosi (misurazione della attività caspasiche 3 e 7), la capacità di formare colonie (*Colony formation assay*) e la capacità invasiva (*Wound healing assay*).

Il *knock-out* è realizzato mediante la tecnica CRISPR/CAS9 lentivirale. L'attivazione di tale sistema di editing è seguita dall'estrazione di DNA, RNA e proteine per provare l'avvenuta delezione genica.

Risultati. Il silenziamento di *IMP3*, *MCT4* e *RAN* causa una variazione del fenotipo cellulare conforme a quella già osservata. Per *ASS1* gli esperimenti sono ancora in fase di attuazione e replica. Il *knock-out* di *RAN* è stato confermato a livello trascrizionale ma non ancora a livello proteico.

- Abstracts e partecipazione a congressi e corsi:

- Soft skills, i corsi trasversali nei dottorati di ricerca: "Start up and Technology transfer" – 14 e 15 Novembre 2016, presso Auditorium Santa Chiara, Siena;
- Soft skills, i corsi trasversali nei dottorati di ricerca: "Project design e gestione dei progetti di ricerca" - 18 Novembre 2016, presso Auditorium Santa Chiara, Siena;
- "The Zebrafish-Day" - 30 Novembre 2016, presso l' I.R.C.C.S. "Stella Maris", Pisa;
- "Basic and advanced flow cytometry course" - 5 Dicembre 2016, presso Istituto Clinico Humanitas, Milano;
- "Presente e future Del Mesotelioma Pleurico Maligno" - 12 e 13 Maggio 2017, presso Grand Hotel Principe di Piemonte, Viareggio;
- "La genetica Del gusto" - 12 e 13 giugno 2017, presso Centro Convegni Sant'Agostino, Cortona;
- Soft skills, i corsi trasversali nei dottorati di ricerca: "La certificazione dei processi nel settore delle life sciences" - 23 giugno 2017, presso Auditorium Santa Chiara, Siena;
- Trieste Next, Festival della ricerca scientifica - 21, 22 e 23 Settembre 2017, presso Trieste.
- "Pattern Recognition Receptors control Oncogene Induced Senescence" – 03 Ottobre 2017, presso Barts Cancer Institute, Londra.

- Eventuali soggiorni in altri laboratori italiani o esteri:

- Inizio del soggiorno presso Barts Cancer Institute, Londra