

Al collegio dei Docenti

Dott. Roberto Silvestri

**Attività scientifica svolta nel 1° anno di Dottorato, Anno Accademico
2017/2018**

Introduzione

Il cancro del colon retto (CRC) è una delle principali cause di morte dovute a neoplasie. Malgrado la somministrazione di Oxaliplatino in combinazione con 5-fluorouracile (5-FU) abbia portato significativi miglioramenti prognostici, lo sviluppo di farmacoressistenza in circa il 90% dei pazienti, è una delle principali ragioni dell'elevata mortalità. La comprensione dei meccanismi di resistenza potrebbe portare all'identificazione di possibili *target* terapeutici e marcatori prognostici. Il gene *POLQ*, potrebbe rappresentare un ottimo candidato. *POLQ* è infatti coinvolto nella *translesion synthesis*, importante per la tolleranza ai danni indotti da Oxaliplatino. Risulta inoltre sovraespresso in diversi tipi di tumore, fra cui il CRC e la sua sovraespressione associata ad una peggiore prognosi. Inoltre, uno studio non ancora pubblicato, ha mostrato un'associazione fra polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) nella regione codificante di *POLQ* e la risposta ad Oxaliplatino in pazienti affetti da cancro al colon.

Metodiche utilizzate

Per verificare l'ipotesi di un coinvolgimento del gene *POLQ* nella risposta ai farmaci sono stati condotti test *in vitro*. È stata valutata, tramite *mtt-assay*, la sensibilità di diverse linee cellulari di cancro al colon (HCT116, HCT15, SW620, LOVO e CACO2) al 5-FU e all'Oxaliplatino. L'efficacia di diversi siRNA contro *POLQ* è stata valutata sulle stesse linee, al fine di mettere a punto condizioni di *knock-down* ottimali. Parallelamente si è cercato di ottenere un *knock-out* genico tramite CRISPR/Cas9. Linee *knock-out* potrebbero infatti essere utilizzate per approfondire l'impatto di alcuni SNP sull'attività di *POLQ*.

Risultati ottenuti

Per tutte le linee cellulari è stato stabilito l' IC_{50} per i due farmaci in esame. Sono state inoltre individuate le condizioni di *knock-down* *ideali* per alcune delle linee in esame e costruiti i vettori per il *knock-out* genico. Cellule trattate con questi vettori, sono attualmente in selezione antibiotica.

- **Abstracts e partecipazione a congressi e corsi**

09/09/2017 - Il sistema di ricerca Europeo: project design e gestione progetti –

14/11/2017 – Main reporter genes and their application in biomedical research-
Marzena Matejczyk

14/11/2017 – Application of microbial biosensors for environmental monitoring and new drugs development – Marzena Matejczyk

22/11/2017 – Should we allow CRISPR gene editing to take over? – George Malacinski

12/02/2018-14/02/2018 – Scientific writing and presentation – John L. Telford

13/02/2018 – 15/02/2018 – Creating value from large archive and big data – Laura Neri

16/02/2018 – Comunicare in ricerca – Elena Meli

15/06/2018 – Genetics and Epigenetics – ONB