

Relazione Mobilità di breve durata (Short-term mobility STM) 2015 della dott.ssa Daniela D'Angelo riguardante il periodo di permanenza presso l'University of Texas, MD Anderson Cancer Center, Houston

A chi di competenza

Dal giorno **lunedì 13 Aprile 2015 al giorno giovedì 14 Maggio 2015**, per un periodo di **31 giorni**, ho lavorato presso il laboratorio diretto dal prof. George Calin, University of Texas, MD Anderson Cancer Center, Houston, per una collaborazione scientifica nell'ambito del programma di **Mobilità di breve durata (Short-term mobility STM) 2015 del CNR**. Durante questo periodo, come pianificato nella proposta STM, ho avuto la possibilità di caratterizzare il meccanismo molecolare di un long non coding RNA, RPSAP52, identificato come l'antisense naturale del gene HMGA2.

E' noto che meno del 2% del genoma codifica per proteine e che il 90% è trascritto sottoforma di RNA non codificanti (ncRNA) (Guttman et al., Nature 2009). Gli RNA non codificanti comprendono più classi di RNA che non sono tradotti in proteine, ma che regolano la trascrizione, la stabilità o la traduzione di geni codificanti per proteine (Bartel, Cell 2009). Recenti studi hanno dimostrato che una particolare classe di ncRNA, noti come long non coding RNA (lncRNA), possono avere un ruolo dinamico nella regolazione trascrizionale e traslazionale, e che sono coinvolti in diverse patologie umane, tra cui il cancro (Esteller, Nature Rev. Genet 2011; Spizzo et al., Oncogene 2012). Recentemente ho eseguito una analisi di espressione di lncRNA in adenomi ipofisari, al fine di individuare lncRNA differenzialmente espressi tra campioni normali e tumorali. Tra i lncRNAs con la maggiore espressione nei campioni tumorali rispetto ai normali, ho individuato il lncRNA RPSAP52 (ribosomal protein SA pseudogene 52), identificato come l'antisense naturale del gene HMGA2. HMGA2 appartiene alla famiglia delle proteine cromatiniche non istoniche HMGA (High mobility group A), una famiglia di proteine a basso peso molecolare note anche come "fattori architetonici della trascrizione" in quanto non presentano alcuna attività trascrizionale intrinseca, ma possono modificare la struttura della cromatina, regolando positivamente o negativamente la trascrizione di specifici geni.

Durante la mia permanenza presso il laboratorio del prof. George Calin, presso l'University of Texas MD Anderson Cancer Center, ho avuto la possibilità di verificare se l'aumentata espressione di RPSAP52 è responsabile dell'aumentata espressione della proteina HMGA2 e l'eventuale/i meccanismo/i mediante il quale agisce.

In particolare mi sono focalizzata sul ruolo di RPSAP52 nella regolazione della stabilità dell'RNA messaggero di HMGA2. Ho valutato se RPSAP52 potesse agire come un 'spugna' endogena di una serie di microRNA che hanno HMGA2 come bersaglio molecolare. La valutazione dei putativi microRNA che hanno come bersaglio RPSAP52, oltre che HMGA2, è stata effettuata mediante il software online <http://www.mircode.org>. Ho identificato miR-15a, miR-15b e miR-16 come possibili bersagli dell'azione del lncRNA, in quanto presentano putativi siti di legame sia per HMGA2 che per RPSAP52. Inoltre, durante la mia permanenza presso il laboratorio del prof. Calin, ho clonato un vettore luciferasico contenente il cDNA di RPSAP52. Tale vettore è stato trasfettato nelle cellule insieme con i microRNA per valutare se i microRNA fossero in grado di ridurre l'attività luciferasica. Ho dimostrato che la trasfezione dei suddetti miR è in grado di abbassare l'attività luciferasica di RPSAP52. In seguito, al fine di valutare una eventuale funzione di "esca" endogena del lncRNA, ho trasfettato un vettore contenente la regione 3'UTR di HMGA2 insieme ai microRNA, in presenza e in assenza del lncRNA, ottenendo che la presenza dei soli microRNA è in grado di abbassare l'attività luciferasica di HMGA2, mentre la presenza del lncRNA, agendo come spugna per i microRNA, è in grado di revertire questo effetto inibitorio. L'esperienza presso il laboratorio del prof. Calin mi è servita non solo per acquisire numerose conoscenze tecniche relative allo studio dei non coding RNA,

ma anche conoscenze di natura teorica. Ho infatti avuto la possibilità di interagire attivamente con i componenti del suddetto gruppo di ricerca, ed in particolare con il prof. Calin, con il quale ho discusso spesso dei miei risultati e del progetto, ricevendo numerosi spunti di riflessione. Inoltre ho potuto constatare che l'ambiente dell'MD Anderson Cancer Center è molto stimolante in quanto si effettuano con cadenza settimanale seminari e corsi di formazione interni grazie ai quali è possibile ottenere nuove conoscenze sia teoriche che pratiche.

In conclusione ritengo che questa esperienza e la conseguente collaborazione che abbiamo instaurato con il gruppo del prof. Calin sia stata molto costruttiva ai fini del proseguimento dei miei studi nell'ambito dei non coding RNA.

Napoli, 08/06/2015

