

26 Novembre, 2015
Istituto di Genetica e Biofisica "A- Buzzati Traverso"
Via Pietro Castellino 111
80131, Napoli

Oggetto: Relazione Scientifica STM

Titolo del programma: Un nuovo approccio molecolare per l'identificazione delle vie di segnalazione alla base della Lipofusinosi Neuronale Ceroidea

Obiettivi (max 500 battute)

L'obiettivo di questa proposta era quello di identificare processi di segnalazione coinvolti nell'insorgenza della Lipofusinosi neuronale ceroidea attraverso l'over-espressione di fattori di trascrizione pro-dopaminergici in fibroblasti ottenuti da pazienti affetti.

Il lavoro svolto durante il soggiorno presso i laboratori del Prof. Bruno Gasnier si è focalizzato sulla seguente linea di ricerca:

Abbiamo utilizzato due linee di fibroblasti ottenuti da pazienti recanti la mutazione G208R nel gene CLN7 (responsabile per l'insorgenza di una severa forma di Lipofusinosi) allo scopo di osservare se l'overespressione di fattori di trascrizione oggetto di questo lavoro fossero in grado di stimolare il processo autofagico e ridurre le variazioni morfologiche a carico dei compartimenti acidi, che in questi mutanti risultano essere di dimensioni maggiori rispetto a fibroblasti di controllo, ottenuti cioè da pazienti non affetti. A tale scopo abbiamo generato (nel laboratorio ospite) vettori lentivirali in grado di esprimere i fattori Nurr1 e Lmx1a. Tali vettori sono stati utilizzati dapprima in un esperimento pilota per monitorarne l'efficienza e l'eventuale tossicità a carico delle cellule. In una seconda fase dopo aver stabilito le migliori condizioni di infezione in assenza di fenomeni di tossicità abbiamo provveduto ad effettuare l'esperimento finale che consisteva in infezioni singole e doppie.

Tre giorni dopo la trasfezione le cellule sono state fissate e l'espressione dei geni Nurr1 e Lmx1a verificata mediante immunofluorescenza.

La taglia dei compartimenti acidi (visualizzati mediante lisotracker, un colorante che permette la visualizzazione dei compartimenti a basso pH) è stata misurata mediante acquisizioni d'immagini in microscopia a fluorescenza. L'analisi è stata effettuata mediante l'utilizzo di un apposito software in grado di misurare automaticamente parametri di taglia e dimensione. I risultati ottenuti hanno mostrato che il trattamento con i fattori di trascrizione determinava una lieve diminuzione statisticamente non significativa dei lisosomi in fibroblasti provenienti da pazienti affetti. In parallelo abbiamo raccolto parte dei fibroblasti trattati allo scopo di identificare mediante microarray per mRNA quei messaggeri la cui espressione variava in seguito all'infezione lentivirale. Tale analisi è attualmente in corso

In fede
Gian Carlo Bellenchi

