



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca e dell’Innovazione in Sanità

Fondi 5 per mille ANNO 2021
Abstract ed elenco pubblicazioni scientifiche

Ente della Ricerca Sanitaria

Denominazione Ente: Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza

Codice fiscale: 00138660717

Sede legale: Viale Cappuccini, 71013 San Giovanni Rotondo

Indirizzo di posta elettronica dell'ente: segreteria.scientifica@operapadrepio.it

Dati del rappresentante legale: Giuliani Michele

Titolo del progetto: Studio di meccanismi molecolari patogenetici di malattie genetiche rare e complesse tramite strumenti e metodi computazionali non convenzionali

Abstract dei risultati ottenuti:

Nel 2021 ci si è concentrati particolarmente sullo studio del genoma mitocondriale. In particolare, si è studiata l’interazione tra genoma nucleare e mitocondriale. E’ noto infatti che questa interazione garantisce il funzionamento efficiente dei complessi OXPHOS, con sostanziali implicazioni in bioenergetica, adattamento e malattia. Questa interazione è stata quindi esplorata nella terza release di MitImpact (<https://mitimpact.css-mendel.it/>), un database di annotazioni genomiche, cliniche e funzionali per tutti i cambiamenti nucleotidici che causano sostituzioni non sinonime nei geni codificanti proteine mitocondriali umane. MitImpact amplia la sua collezione di

annotazioni con nuove informazioni su varianti compensative del fenotipo (Compensative Pathogenic Deviations), coppie di varianti che co-evolvono in mammiferi e vertebrati e coppie di varianti energeticamente compensative o additivamente destabilizzanti le proteine di interesse. In MitImpact è ora disponibile una sezione a sé stante in cui l’effetto sulle proteine mitocondriali di coppie di varianti interagenti sono state analizzate tramite tecniche di dinamica molecolare [1].

Tecniche di analisi di dati di Next-Generation Sequencing sono state impiegate, invece, in [2]: uno studio in cui è stata eseguita la fenotipizzazione clinica e di imaging di 56 probandi con una diagnosi neuroradiologica di Pontocerebellar hypoplasias (PCH) e, successivamente, il target resequencing di tutti i geni noti essere associati a PCH. La diagnosi genetica è stata ottenuta per 43 probandi (77%). Il gene causativo più comune è risultato essere CASK, che ha rappresentato quasi la metà dei casi (45%) ed è risultato mutato prevalentemente nelle femmine. La mutazione founder europea p.Ala307Ser in TSEN54 e le varianti patogenetiche in EXOSC3 hanno rappresentato rispettivamente il 18% e il 9% dei casi. CASK rappresenta, quindi, il principale gene responsabile della PCH in Italia. La variabilità fenotipica associata alle cause genetiche più comuni di PCH è più ampia di quanto si possa pensare, con una marcata sovrapposizione tra CASK e disturbi associati a TSEN54.

In ambito oncologico si è studiato come il metabolismo lipidico epatico alterato possa

promuovere lo sviluppo del carcinoma epatocellulare (HCC) attraverso l'infiammazione e l'attivazione di oncogeni. GDF11 è un membro della superfamiglia TGF- β e dati recenti gli attribuiscono caratteristiche anti-invecchiamento che possono alleviare l'obesità indotta da una dieta ricca di grassi, l'iperglicemia, la resistenza all'insulina e la NAFLD. Tuttavia, il suo ruolo nel metabolismo lipidico epatico non è ancora completamente delineato. In [3] si è caratterizzato il ruolo di GDF11 nell'accumulo di lipidi nelle cellule epatiche e HCC, tramite tecniche di imaging, biochimiche, lipidomiche e trascrittomiche, condotti negli epatociti primari e nelle cellule HCC trattate con GDF11. Si è concluso che l'integrazione con GDF11 promuove l'espressione genica pro-lipogenica e l'accumulo di lipidi nelle cellule HCC. Inoltre, l'integrazione dei vari dati "omici" impiegati in questo studio ha indicato una sovraregolazione indotta da GDF11 della lipogenesi de novo attraverso l'attivazione delle vie ALK5/SMAD2/3/PI3K-AKT. Pertanto, GDF11 potrebbe contribuire alla riprogrammazione metabolica e alla disregolazione del metabolismo lipidico nelle cellule HCC senza effetti sugli epatociti sani.

In ambito epigenetico, si è studiato come l'espressione genica e i processi epigenetici in diverse regioni del cervello regolino alcuni importanti processi fisiologici, come le funzioni cognitive e il comportamento sociale. MacroH2A1.1 è una variante ubiqua dell'istone H2A che questo laboratorio studia da diversi anni. Essa regola la staminalità e la differenziazione delle cellule in vari organi. Non essendo noto se macroH2A1.1 abbia un ruolo modulatore nel comportamento emotivo, in [4] sono stati studiati topi knock-out per macroH2A1.1 (-/-) al fine di eseguire una batteria completa di test comportamentali e una valutazione della plasticità sinaptica dell'ippocampo accompagnata dal sequenziamento dell'RNA dell'intero ippocampo. I topi macroH2A1.1-/- hanno mostrato un sorprendente miglioramento sia della socialità che della gestione attiva dello stress ed hanno dimostrato anche un'aumentata plasticità sinaptica dell'ippocampo, accompagnata da significativi cambiamenti nei networks trascrizionali di neurotrasmissione. Questi risultati suggeriscono che la deplezione sistemica dell'istone macroH2A1.1 supporta un controllo epigenetico necessario per la funzione dell'ippocampo ed il comportamento sociale.

In [5] si è condotto uno studio computazionale che dimostra l'esistenza di motivi bersaglio nel genoma SARS-CoV-2 adatti a formare un legame specifico con RNA endogeni umani, micro e lunghi, non codificanti (miRNA e lncRNA, rispettivamente). Infatti, il genoma di SARS-CoV-2 contiene tre motivi nella sequenza leader 5'UTR riconosciuta da nucleotidi selettivi all'interno della sequenza *seed* di specifici miRNA umani. Il *seed* di 57 microRNA è risultato contenere un motivo "GGG" che promuoveva il riconoscimento della sequenza leader, principalmente attraverso siti offset-6mer in grado di promuovere il legame non canonico dei microRNA all'RNA virale. Allo stesso modo, lncRNA H19 risulta capace di legarsi al 5'UTR del genoma virale e, più specificamente, al trascritto del gene virale Spike, che ha un ruolo fondamentale nell'infezione. È interessante notare come alcuni degli RNA non codificanti identificati in questo studio come candidati per l'inibizione dell'espressione del gene SARS-CoV-2 siano già stati proposti come soluzioni contro altre infezioni virali, come l'ipertensione arteriosa polmonare e malattie correlate. Circa il medesimo argomento, in [6] abbiamo dimostrato come i pazienti COVID-19 abbiano un aumento dei marcatori di superficie specifici di COVID in diversi sottoinsiemi della composizione delle cellule immunitarie. L'espressione dei recettori cellulari, IFNGR1 e CXCR4, è risultata ridotta in risposta all'infezione virale e associata all'inibizione delle relative vie di segnalazione e delle funzioni immunitarie. Questi risultati hanno evidenziato nuovi immunorecettori, espressi selettivamente nei pazienti COVID-19, che influenzano la funzionalità immunitaria e sono correlati agli outcome clinici.

Infine, in collaborazione con l'Alleanza Contro il Cancro (ACC), è stato portato a termine lo sviluppo di TMBlER, uno strumento bioinformatico per ottimizzare la stima del tumor mutational burden (TMB). Il TMB valutato da esperimenti di Whole-Exome Sequencing è considerato, infatti, il gold-standard, nella ricerca scientifica. In ambito clinico, invece, sono stati proposti pannelli di geni mirati e diverse strategie per stimare il TMB, anche se non è ancora emerso alcuno standard ufficiale. TMBlER si propone come uno strumento

per misurare l'impatto clinico di varie strategie di misurazione del TMB basata su gene panels. Il tool è disponibile gratuitamente all'indirizzo: <https://acc-bioinfo.github.io/TMBleR/>.

Prodotti della Ricerca (correlati al progetto):

Elenco pubblicazioni su riviste indicizzate:

- [1] Castellana S, Biagini T, Petrizzelli F, Parca L, Panzironi N, Caputo V, Vescovi AL, Carella M, Mazza T. MitImpact 3: modeling the residue interaction network of the Respiratory Chain subunits. *Nucleic Acids Res.* 2021 Jan 8;49(D1):D1282-D1288.
- [2] Nuovo S, Micalizzi A, Romaniello R, Arrigoni F, Ginevrino M, Casella A, Serpieri V, D'Arrigo S, Briguglio M, Salerno GG, Rossato S, Sartori S, Leuzzi V, Battini R, Ben-Zeev B, Graziano C, Mirabelli Badenier M, Brankovic V, Nardocci N, Spiegel R, Petković Ramadža D, Vento G, Marti I, Simonati A, Dipresa S, Freri E, Mazza T, Bassi MT, Bosco L, Travaglini L, Zanni G, Bertini ES, Vanacore N, Borgatti R, Valente EM. Refining the mutational spectrum and gene-phenotype correlates in pontocerebellar hypoplasia: results of a multicentric study. *J Med Genet.* 2021 Mar 5.
- [3] Frohlich J, Mazza T, Sobolewski C, Foti M, Vinciguerra M. GDF11 rapidly increases lipid accumulation in liver cancer cells through ALK5-dependent signaling. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2021 Jun;1866(6):158920.
- [4] Chiodi V, Domenici MR, Biagini T, De Simone R, Tartaglione AM, Di Rosa M, Lo Re O, Mazza T, Micale V, Vinciguerra M. Systemic depletion of histone macroH2A1.1 boosts hippocampal synaptic plasticity and social behavior in mice. *FASEB J.* 2021 Aug;35(8):e21793.
- [5] Natarelli L, Parca L, Mazza T, Weber C, Virgili F, Fratantonio D. MicroRNAs and Long Non-Coding RNAs as Potential Candidates to Target Specific Motifs of SARS-CoV-2. *Noncoding RNA.* 2021 Feb 18;7(1).
- [6] Sansico F, Miroballo M, Bianco DS, Tamiro F, Colucci M, Santis E, Rossi G, Rosati J, Di Mauro L, Miscio G, Mazza T, Vescovi AL, Mazzoccoli G, Giambra V, On Behalf Of CSS-Covid Group. COVID-19 Specific Immune Markers Revealed by Single Cell Phenotypic Profiling. *Biomedicines.* 2021 Nov 29;9(12):1794.
- [7] Fancello L, Guida A, Frige G, Michel Ceol AG, Babini G, Scaglione GL, Zanfardino M, Mazza T, Ferrando L, Pelicci PG, Mazzarella L. TMBleR, a bioinformatic tool to optimize TMB estimation and predictive power. *Bioinformatics.* 2021 Dec 20:btab836.

Data 29/03/2022

Il Responsabile del Progetto
Dott. Tommaso Mazza

Il Legale Rappresentante
Dott. Michele Giuliani

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante
Dott. Michele Giuliani