

IDENTIFICAZIONE DI NUOVI BERSAGLI TERAPEUTICI MEDIANTE STUDI DI CITOTOSSICITÀ DI MOLECOLE DI ORIGINE NATURALE O SINTETICA UTILIZZANDO MODELLI SPERIMENTALI DI NEOPLASIE, DI EMOGLOBINOPATIE E DI INFEZIONI DA HIV.

1) Il fallimento dei trattamenti chemioterapici contro diversi tipi di cancro è principalmente dovuto all'insorgenza di fenomeni di farmaco resistenza.

OBIETTIVO

Ne consegue l'importanza di identificare nuove molecole attive contro diversi bersagli tumorali al fine di consentire associazioni terapeutiche e minimizzare l'insorgenza di mutanti tumorali resistenti.

METODO

La linea cellulare umana K562 di leucemia mieloide cronica rappresenta un ottimo modello *in vitro* per identificare potenziali molecole ad attività antiproliferativa da valutare sia in riferimento che in associazione alla molecola Imatinib, utilizzata attualmente in terapia antitumorale. Analogamente studi di citotossicità si potranno avvalere di linee cellulari tumorali derivate da altri tipi di tumore, come il melanoma invasivo (Colo38), il carcinoma della cervice (HeLa), il carcinoma della mammella (MDA-MB231, MCF-7).

2) La riattivazione dell'espressione dell'emoglobina fetale (HbF) è stata proposta come possibile strategia terapeutica delle β -emoglobinopatie. Sebbene diversi induttori di HbF siano stati testati in studi clinici, solo l'idrossiurea (HU) ha ricevuto l'approvazione della FDA.

OBIETTIVO

Nonostante il trattamento con HU abbia prodotto livelli adeguati di HbF solo in metà dei pazienti con anemia falciforme e sia stato inefficace nei pazienti con beta-talassemia, gli effetti benefici di questo approccio incoraggiano la ricerca di nuove molecole in grado di indurre l'HbF.

METODO

Trattamento di cellule K562 con sostanze naturali di derivazione vegetale o molecole purificate da fonti naturali per valutare la cinetica di accumulo di HbF e verificare se esiste una relazione dose-risposta. L'induzione verrà paragonata con quella di induttori noti come l'HU e la rapamicina. Le miscele naturali con provata attività verranno caratterizzate mediante analisi GC-MS per identificare le specifiche molecole in grado di riattivare l'espressione di HbF.

3) È indispensabile identificare nuovi farmaci per combattere ceppi del virus HIV resistenti alle terapie, in particolare quelle molecole in grado di interferire con funzioni virali diverse da quelle prese di mira dai farmaci antiretrovirali attualmente in uso. Nonostante il ruolo centrale svolto dalla proteina Tat nella trascrizione di HIV, non è mai stata effettuata la ricerca di estratti vegetali in grado di ostacolare questa importante funzione virale

OBIETTIVO

Valutare l'eventuale interferenza di estratti vegetali con l'interazione Tat/TAR-RNA e con la trascrizione dell'LTR di HIV-1 indotta dalla proteina ricombinante Tat. Studiare la composizione chimica degli estratti attivi mediante analisi GC/MS per identificare molecole che una volta purificate mantengano l'effetto biologico.

METODO

Analisi dell'interferenza di estratti vegetali con la formazione del complesso Tat/TAR-RNA mediante *Electrophoretic Mobility Shift Assay*. L'effetto di estratti vegetali sulla trascrizione dell'LTR di HIV-1, indotta dalla proteina ricombinante Tat, si misura utilizzando le cellule HL3T1: esse possiedono, integrata nel genoma, una cassetta LTR-CAT di HIV-1, che viene trascritta ad alto livello in presenza della proteina Tat.

STRUMENTAZIONI E METODI

Attrezzature di base per colture cellulari. Saggio *MTT*, lettore *ELISA*, analisi di accumulo di Hb mediante colorazione con *benzidina*, strumentazione per gel elettroforesi e per l'acquisizione d'immagini, *thermal cycler*, sistema *real-time quantitative RT-PCR* per studiare l'espressione di geni coinvolti nella proliferazione, differenziamento, invasività cellulare, analisi al *FACS* per lo studio del ciclo cellulare, dell'apoptosi e di marcatori di differenziamento cellulare.

DISCIPLINE COINVOLTE

Biochimica, Biologia Cellulare, Biologia Molecolare e Chimica Analitica.

GRUPPO DI LAVORO

Giordana Feriotto

Carlo Mischiati (Dipartimento di Scienze biomediche e chirurgico specialistiche)

Federico Tagliati (Dipartimento di Scienze biomediche e chirurgico specialistiche)

COLLABORAZIONI

Dott. N. Marchetti (Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche, Università di Ferrara), Prof. A. Cavazzini (Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche, Università di Ferrara), Dott. F. Casciano (Centro LTTA, Università di Ferrara), Prof. S. Beninati (Dipartimento di Biologia, Università *Tor Vergata* di Roma), Dott. L. Maiolo (Dipartimento di Chimica e Tecnologie Chimiche, Università della Calabria), Dott. V. Costa (Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche, Università di Ferrara).