

Poster P.07.42

RNA THERAPEUTICS FOR FRIEDREICH'S ATAXIA

Bon C.^[2], Luffarelli R.^[1], Russo R.^[2], Fortuni S.^[1], Pierattini B.^[3], Santulli C.^[3], Fimiani C.^[2], Persichetti F.^[4], Cotella D.^[4], Mallamaci A.^[3], Santoro C.^[4], Carninci P.^[5], Espinoza S.^[2], Testi R.^[1], Zucchelli S.^[4], Condò I.*^[1], Gustincich S.^[2]

^[1]University of Rome "Tor Vergata" ~ Roma ~ Italy, ^[2]Istituto Italiano di Tecnologia (IIT) ~ Genova ~ Italy, ^[3]International School for Advanced Studies (SISSA) ~ Trieste ~ Italy, ^[4]University of Piemonte Orientale ~ Novara ~ Italy, ^[5]RIKEN Center for Life Science Technologies ~ Yokohama ~ Japan

Friedreich's ataxia (FRDA) is an incurable disorder with neuro- and cardiodegenerative progression. This monogenic disease is caused by the expansion of naturally occurring GAA repeat in the first intron of the FXN gene, encoding for frataxin, a protein implicated in the biogenesis of iron-sulfur clusters, in iron metabolism and in stress-induced apoptosis. As the genetic defect interferes with FXN transcription, FRDA patients express a normal frataxin protein but at insufficient levels. Thus, current therapeutic strategies in FRDA are mostly aimed to restore physiological frataxin expression by targeting FXN transcription. In this scenario, RNA therapeutics could represent an appealing approach to induce a gene-specific activation. Among regulatory RNAs, a new functional class of antisense long non-coding RNAs (lncRNAs) acting as enhancers of target mRNA translation was previously described. The activity of this lncRNAs requires an inverted SINEB2 sequence to increase translation (Effector Domain; ED) and an overlapping region to target its sense mRNA (Binding Domain; BD): this class of RNAs was designated as SINEUPs. Here, by in vitro screening, we have identified a number of synthetic SINEUPs targeting human FXN mRNA (SINEUP-FXNs) and capable to up-regulate frataxin protein acting at the post-transcriptional level in human cells. Subsequently, a second generation of optimized RNAs, with a shorten structure and named miniSINEUP-FXNs, was tested on endogenous mRNA in FRDA patient-derived cells. Some miniSINEUP-FXNs variants demonstrated to be the best candidates for subsequent investigations and intriguingly achieved frataxin protein restore to physiological levels. More importantly, our results indicated a consistent recovery of disease-associated aconitase defects in FRDA patient-derived cells. Collectively, we provide evidence that SINEUPs may be a gene-specific therapeutic approach to activate frataxin translation in FRDA.

TERAPIA A BASE DI RNA PER L'ATASSIA DI FRIEDREICH

L'atassia di Friedreich (AF) è una patologia neurodegenerativa e cardiodegenerativa per la quale non esiste ancora una terapia efficace. Questa malattia è causata da mutazioni nel gene che produce la frataxina, una proteina coinvolta nel metabolismo del ferro e nella protezione dagli stress che inducono la morte cellulare. Il difetto genetico nei pazienti con AF non causa la produzione di una frataxina malfunzionante, ma ne determina invece una quantità insufficiente rispetto alle cellule sane. Per questo motivo, la maggior parte delle terapie sperimentali per il trattamento dell'AF sono concepite per aumentare le quantità di frataxina stimolando il processo chiamato "trascrizione genica". Negli ultimi anni è stata scoperta una grande categoria di molecole, chiamate "RNA non codificanti", che svolgono un ruolo importante nei molti processi che permettono ad un gene di produrre la rispettiva proteina. Una particolare tipologia di questi RNA, denominati SINEUP, sono in grado di aumentare la quantità di una determinata proteina stimolando il processo chiamato "sintesi proteica". Il nostro studio ha avuto lo scopo di verificare se fosse possibile una nuova terapia sperimentale per l'AF, creando delle molecole SINEUP in grado di far aumentare in maniera specifica la sintesi proteica della frataxina. In questo modo, abbiamo identificato delle SINEUP capaci di far produrre maggiori quantità

di frataxina quando somministrate a cellule umane normali (SINEUP-FXN). Successivamente, abbiamo creato delle varianti ottimizzate per l'utilizzo terapeutico (miniSINEUP-FXN), la cui efficacia è stata valutata dopo somministrazione in cellule derivate da pazienti con AF. Abbiamo così dimostrato che diverse di queste molecole di RNA sintetico riescono ad aumentare la quantità di frataxina nelle cellule di paziente, arrivando a livelli molto simili a quelli presenti in cellule sane. Inoltre, i nostri risultati indicano che le cellule di paziente trattate in questo modo possono recuperare la funzionalità delle aconitasi, uno dei marcatori tipicamente carenti nell'AF.

None

Atassia di Friedreich

Coordinator: Stefano Gustincich

Partners: Ivano Condò, Antonello Mallamaci

Duration (N. Years): 2

Starting year: 2015

Telethon Project (nr):

GGP15004

Disease Name:

Friedreich's Ataxia

Keywords:

Friedreich's Ataxia, SINEUPs, Frataxin