

## Poster P.10.66

### DEVELOPMENT OF EXON SPECIFIC U1 SNRNA-BASED THERAPY FOR FAMILIAL DYSAUTONOMIA

Riccardi F., Romano G., Bussani E., Vicidomini A., Peretto L., Pagani F.\*

*ICGEB ~ Trieste ~ Italy*

Familial Dysautonomia (FD) is a rare autosomal recessive neurodegenerative disorder that severely compromise the autonomic and sensory nervous system with no treatment available. It is caused by a splicing mutation (c.2204+6T>C) in the elongation complex protein 1 gene (ELP1) and the large size of the ELP1 cDNA makes a classical gene therapy approach with adeno-associated virus (AAV) vectors difficult. To directly rescue the splicing defect and recover exon 20 skipping, we investigated a novel class of U1 snRNAs molecules, exon-specific U1s (ExSpeU1s), designed to target intronic sequences downstream the 5'ss. In an in vitro minigene model system and in FD primary fibroblasts, ExSpeU1-ELP1 promoted complete inclusion of the defective exon. To test this approach in vivo we performed systemic and intra cerebro ventricular injections of AAV ExSpeU1-ELP1 in an asymptomatic transgenic FD mouse model that recapitulate the human splicing defect. Interestingly, this delivery systems corrects splicing and protein defects in several tissues including those more affected by the disease (Brain, Dorsal Root Ganglia and Trigeminum). The efficacy of ExSpeU1-ELP1 as a novel FD therapeutic treatment will be now tested in a novel symptomatic mouse model that does have both mis-splicing and FD symptoms.

### SVILUPPO DI UNA TERAPIA BASATA SUGLI EXON SPECIFIC U1 NELLA DISAUTONOMIA FAMILIARE

Lo scopo principale del progetto è quello di sviluppare una terapia innovativa basata su piccole molecole di RNA per il trattamento della Disautonomia Familiare, una grave malattia rara. I pazienti con Disautonomia Familiare sviluppano dei difetti nei neuroni sensitivi con sintomi cardiaci (instabilità cardiaca e bassa pressione sanguigna) e sintomi a carico dell'apparato gastrointestinale e polmonare (polmonite). Inoltre i pazienti perdono anche la capacità di percepire il dolore e sviluppano una atrofia progressiva del nervo ottico con perdita della vista dalla prima decade di vita. Non più del 50% dei pazienti raggiunge l'età di 30 anni e non esistono trattamenti curativi. Nei pazienti affetti da Disautonomia Familiare, il difetto genetico produce un RNA alterato (a causa di un cosiddetto difetto di splicing). Negli ultimi anni, studiando come viene prodotto questo RNA alterato, abbiamo scoperto una piccola molecola di RNA terapeutica. Questo piccolo RNA è normalmente presente nelle nostre cellule ma può essere modificato per correggere in modo specifico il difetto di base presente nella Disautonomia Familiare. In questo progetto sono stati identificate delle molecole attive in diversi modelli. Tali molecole attraverso dei vettori virali (AAV) vengono correttamente indirizzate nei tessuti bersaglio ed in particolare nei neuroni sensitivi. Tali evidenze verranno confermate in modelli di malattia più complessi.

Donadon, I., Pinotti, M., Rajkowska, K., Pianigiani, G., Barbon, E., Morini, E., Motaln, H., Rogelj, B., Mingozzi, F., Slaughter, S.A. et al. (2018) Exon-specific U1 snRNAs improve ELP1 exon 20 definition and rescue ELP1 protein expression in a familial dysautonomia mouse model. *Hum Mol Genet*, 27, 2466-2476.

Donadon, I., Bussani, E., Riccardi, F., Licastro, D., Romano, G., Pianigiani, G., Pinotti, M., Konstantinova, P., Evers, M., Lin, S. et al. (2019) Rescue of spinal muscular atrophy mouse models with AAV9-Exon-specific U1 snRNA. *Nucleic Acids Res*, 47, 7618-7632.

Rogalska, M.E., Tajnik, M., Licastro, D., Bussani, E., Camparini, L., Mattioli, C. and Pagani, F. (2016) Therapeutic activity of modified U1 core spliceosomal particles. *Nat Commun*, 7, 11168.

Disautonomia Familiare

Coordinator: Franco Pagani

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2017

**Telethon Project (nr):**

GGP17006

**Disease Name:**

Familial Dysautonomia

**Keywords:**

FAMILIAL DYSAUTONOMIA, Splicing Defects, Adeno Associates Virus