

## Poster P.22.145

### COMPUTATIONAL AND QUANTITATIVE BIOLOGY IN RARE GENETIC DISEASES.

Di Bernardo D.\*

*TIGEM ~ Pozzuoli ~ Italy*

The possibility of quantitatively measuring gene, protein and metabolite levels in a cell population and more recently in individual cells represents a unique opportunity to gain insight into disease mechanisms in order to identify potential therapeutic approaches. In our lab, we are leveraging state-of-the-art experimental approaches based on microfluidics and next-generation sequencing with novel computational approaches based on computer science and engineering to aid the study of rare genetic disorders including lysosomal storage disorders, cystic fibrosis (CF) and polycystic kidney disease (PKD). In the field of lysosomal storage disorders, we focused on the transcription factor E Box (TFEB) involved in the regulation of lysosomal biogenesis. We are building quantitative models of the dynamics of TFEB nuclear accumulation in single cells in response to a diverse range of perturbations (e.g. stress stimuli and small molecules) by means of a microfluidics device enabling dynamic control of the microenvironment in which cells are growing, coupled to microscopy to follow in real time TFEB shuttling dynamics. The goal is to verify whether different dynamics are elicited by different stimuli, what the functional relevance of TFEB dynamics is, and which are the molecular mechanisms behind the observed dynamics. Ultimately, we expect that this project will lead to the identification of novel pathways involved in TFEB regulation and a comprehensive understanding of how different stress stimuli regulate TFEB activity. With respect to cystic fibrosis, we set-up an in-house technology based on droplet generation via microfluidics to measure transcriptional profiles in single cells and applied it to characterise airway epithelial cell cultures of CF patients (in partnership with Luis Galiotta at TIGEM) with the aim to identify cell type specific expression of ion channels and assess the changes in cell-type composition in disease. With respect to PKD, in partnership with Alessandra Boletta at San Raffaele, we recently introduced a novel computational approach to simulate in silico kidney metabolism in response to different challenges including gene knock-outs and overexpression, and applied it to dissect the metabolic reprogramming occurring in PKD.

La possibilità di misurare quantitativamente i livelli di geni, proteine e metaboliti in una popolazione cellulare e più recentemente nelle singole cellule rappresenta un'opportunità unica per ottenere informazioni sui meccanismi della malattia al fine di identificare potenziali approcci terapeutici. Nel nostro laboratorio, stiamo sfruttando approcci sperimentali all'avanguardia basati sulla microfluidica e sul sequenziamento di prossima generazione con nuovi approcci computazionali basati su informatica e ingegneria applicate allo studio di malattie genetiche rare tra cui disturbi da accumulo lisosomiale, fibrosi cistica (CF) e malattia renale policistica (PKD). Nel campo dei disturbi da accumulo lisosomiale, ci siamo concentrati sul fattore di trascrizione E Box (TFEB) coinvolto nella regolazione della biogenesi lisosomiale. Stiamo costruendo modelli quantitativi della dinamica dell'accumulo nucleare di TFEB in singole cellule in risposta a una vasta gamma di perturbazioni (ad es. Stimoli da stress e piccole molecole) mediante un dispositivo di microfluidica che consente il controllo dinamico del microambiente in cui le cellule crescono, accoppiate alla microscopia per seguire in tempo reale le dinamiche di shuttling del TFEB. L'obiettivo è verificare la rilevanza funzionale delle cinetiche di TFEB in risposta a stimoli diversi, e quali sono i meccanismi molecolari alla base delle cinetiche osservate. In definitiva, prevediamo che questo progetto porterà all'identificazione di nuovi pathway coinvolti nella regolazione di TFEB e ad una comprensione dettagliata della sua regolazione. Per quanto riguarda la fibrosi cistica, abbiamo implementato una tecnologia microfluidica per misurare i profili trascrizionali in

single cellule per caratterizzare le colture di cellule epiteliali delle vie aeree dei pazienti con CF (in collaborazione con Luis Galiotta presso il TIGEM) con lo scopo di identificare i diversi tipi cellulari e valutare i cambiamenti nella composizione del tessuto nella malattia. Per quanto riguarda il rene policistico, in collaborazione con Alessandra Boletta del San Raffaele di Milano, abbiamo applicato un approccio computazionale per simulare il metabolismo renale al computer in risposta a diverse perturbazioni tra cui knock-out genici e sovraespressione di geni al fine di comprendere la riprogrammazione metabolica che si verifica nella malattia.

gene2drug: a computational tool for pathway-based rational drug repositioning.

Napolitano F, Carrella D, Mandriani B, Pisonero-Vaquero S, Sirci F, Medina DL, Brunetti-Pierri N, di Bernardo D.

Bioinformatics. 2018 May 1;34(9):1498-1505. doi: 10.1093/bioinformatics/btx800.

The Autophagy Inhibitor Spautin-1 Antagonizes Rescue of Mutant CFTR Through an Autophagy-Independent and USP13-Mediated Mechanism.

Pesce E, Sondo E, Ferrera L, Tomati V, Caci E, Scudieri P, Musante I, Renda M, Baatallah N, Servel N, Hinzpeter A, di Bernardo D, Pedemonte N, Galiotta LJV.

Front Pharmacol. 2018 Dec 13;9:1464. doi: 10.3389/fphar.2018.01464. eCollection 2018.

Regulation of Gene Expression and Signaling Pathway Activity in Mammalian Cells by Automated Microfluidics Feedback Control.

Postiglione L, Napolitano S, Pedone E, Rocca DL, Aulicino F, Santorelli M, Tumaini B, Marucci L, di Bernardo D.

ACS Synth Biol. 2018 Nov 16;7(11):2558-2565. doi: 10.1021/acssynbio.8b00235. Epub 2018 Oct 22.

Dissection of metabolic reprogramming in polycystic kidney disease reveals coordinated rewiring of bioenergetic pathways.

Podrini C, Rowe I, Pagliarini R, Costa ASH, Chiaravalli M, Di Meo I, Kim H, Distefano G, Tiranti V, Qian F, di Bernardo D, Frezza C, Boletta A.

Commun Biol. 2018 Nov 16;1:194. doi: 10.1038/s42003-018-0200-x. eCollection 2018.

Fibrosi Cistica, Malattie da accumulo lisosomiale

Coordinator: Diego Di Bernardo

**Telethon Project (nr):**

TIGEM

**Disease Name:**

Cystic Fibrosis, Lysosomal Storage Disorders

**Keywords:**

computational biology, microfluidics, systems biology