

Uso di vettori lentivirali per trasdurre linee cellulari di adenocarcinoma coloretale con shRNAs silenzianti il gene *herg1* e loro applicazione in studi pre-clinici.

Continuazione

Gli esperimenti condotti fino a questo momento suggeriscono una alta efficacia dei protocolli di trasduzione lentivirale sia *in vitro* sia negli esperimenti *in vivo* sul topo. L'utilizzo dei lentivirus come vettori per il trasferimento genico si è pertanto dimostrata una strategia molto efficace che ci ha consentito di acquisire molto velocemente informazioni sul ruolo del gene *herg1* nello sviluppo di tumori. Tali informazioni, che confermano quanto già proposto in precedenza dal nostro gruppo di ricerca (Arcangeli A et al., Targeting ion channels in cancer: a novel frontier in antineoplastic therapy. *Curr. Med. Chem.*, 16: 66-93, 2009), aprono inoltre importanti prospettive anche in campo terapeutico, suggerendo l'utilizzo di inibitori specifici di questo canale, comprendenti anche lentivirus contenenti shRNA, nel trattamento di carcinomi coloretali. Inoltre questi esperimenti ci hanno consentito di sviluppare e ottimizzare una tecnica che ora siamo in grado di applicare su un numero maggiore di linee cellulari tumorali coinvolgendo anche altri geni potenzialmente coinvolti con lo sviluppo di vari tumori. In particolare, poiché sta emergendo un ruolo sempre importante dei canali ionici nelle neoplasie (vedi il prossimo congresso internazionale che si terrà a Firenze dal 3 al 6 Marzo 2010 su "Ion channels and cancer"), prevediamo di produrre ulteriori lentivirus, portanti shRNA diretti verso altri membri della stessa, o di altre famiglie di canali ionici, applicabili a diversi tipi di tumore. Ancora una volta, la produzione e lo studio di tali vettori lentivirali contenenti sequenze shRNA, permetteranno alla comunità scientifica internazionale non solo di acquisire importanti indicazioni riguardanti il ruolo dei canali ionici nello sviluppo dei tumori, ma anche di sviluppare nuove strategie terapeutiche efficaci nella terapia antineoplastica.

Sulla base di quanto fin qui esposto si prospetta il proseguimento del progetto di ricerca in oggetto per un ulteriore anno allo scopo di:

- 1) Testare l'effetto del vettore lentivirale contenente sequenze shRNA in grado di silenziare il canale hERG1, già assemblato e studiato nel primo anno di progetto, su cellule provenienti da altri tipi di tumori umani, in particolare su cellule provenienti da tumori pancreatici. Su queste ultime cellule, si procederà a valutare gli effetti *in vitro* e *in vivo* del silenziamento genico del canale hERG1, utilizzando le procedure sperimentali già messe a punto nel primo anno di progetto.

- 2) Produrre nuovi vettori lentivirali contenenti a) sequenze shRNA in grado di silenziare gli altri geni della famiglia hERG (hERG2 e hERG3), la cui overespressione è stata dimostrata in cellule di retinoblastoma e tumore mammario, rispettivamente (Crociani o. et al., J. Biol.Chem., 278: 2947-55, 2003); b) sequenze shRNA in grado di silenziare geni codificanti altri canali di potassio (in particolare Kv1.3, KCa 3.1 e Kv 10.1) la cui iperespressione è stata dimostrata sia in cellule di tumore mammario che prostatico. Se i nuovi vettori lentivirali si dimostreranno in grado di produrre un significativo silenziamento dei geni in oggetto, essi verranno successivamente usati per infettare cellule tumorali e testarne l'efficiacia *in vitro* e *in vivo*, seguendo la procedura sperimentale messa a punto nel primo anno di progetto.