



## **Titolo progetto:**

NANOTHER - Testing novel nano delivery of RNA molecules and synthetic genes as therapeutic approaches for muscular dystrophy

NANOTHER-Valutare un nuovo tipo di trasporto di molecole di RNA e di geni sintetici utilizzando nanoparticelle per terapie innovative per la distrofia muscolare

## **Abstract:**

Negli ultimi 15 anni nuove terapie molecolari e geniche, tra cui quelle basate su oligonucleotidi antisenso (AON), siRNA/miRNA, Cas9 nucleasi e geni ricombinanti, sono state sviluppate per alcune (5%) malattie rare (RD) come la atrofia muscolare spinale, la distrofia muscolare di Duchenne (DMD), e la polineuropatia amiloidotica. La sfida delle terapie geniche e basate su molecole a RNA è la modalità di somministrazione e il targeting tissutale e/o sistemico che deve essere efficiente al fine di minimizzare gli effetti "off-target" e le reazioni avverse. Attraverso contesti preclinici multidisciplinari, l'obiettivo di NANOTHER è quello di fornire nuove formulazioni di molecole a RNA o minigeni assemblati con nanoparticelle e di valutarne la efficacia in vitro, utilizzando colture cellulari, modello animale zebrafish, e sferoidi. Il target terapeutico sono malattie rare neuromuscolari (NMD) e in particolare la distrofia muscolare di Duchenne (DMD). Sintetizzeremo e valuteremo nuovi "nanoformulazioni" (NF), funzionalizzate con peptidi per aumentare il targeting muscolare e nucleare mediante una serie di studi in vitro su modelli cellulari e animali (pesce zebra). Le NF saranno coniugate con molecole di RNA già in fase di sperimentazione clinica o addirittura approvati provvisoriamente come farmaci orfani, come l'AON per omettere (exon skipping) l'esone 51 del gene distrofina (Eteplirsen), molecole di RNA chimeriche come l'antisenso U7snRNA, e tRNA che correggano i codoni di stop. Progetteremo anche geni sintetici per terapia genica utilizzando una nuova procedura di ottimizzazione dei codoni. Ci aspettiamo di raggiungere TRL4 in collaborazione con altri progetti a cascata nello SPOKE 1 e se validato, il nostro approccio potrebbe avere un impatto traslazionale rilevante sullo sviluppo di nuovi farmaci a RNA somministrati con nanomateriali, evitando tutte le problematiche del trasporto con particelle virali.

## **Obiettivi e risultati attesi:**

L'utilizzo di nano-formulazioni per il trasporto di molecole terapeutiche è certamente una sfida importante soprattutto per i farmaci a base di RNA/DNA. La maggiore criticità per le strategie non virali è raggiungere il bersaglio terapeutico (muscolo) che massimizza la efficienza farmacologica, necessario per ridurre al minimo gli effetti off-target e le reazioni avverse.

L'obiettivo del progetto NANOTHER è quello di disegnare e convalidare nuove nano-formulazioni (NF) di farmaci a RNA e DNA (transgeni) o piccole molecole di tRNA

per la somministrazione di effettori terapeutici al muscolo scheletrico utilizzando la DMD come modello paradigmatico di malattia rara neuromuscolare (NMD).

Gli obiettivi specifici sono:

- i) Disegnare e sintetizzare nuove NF, utilizzando nanoparticelle (varie caratteristiche fisico-chimiche) anche funzionalizzate con peptidi per aumentare il targeting muscolare, che includono AON e U7snRNA, tRNA e minigeni
- ii) convalidarne la efficacia in modelli cellulari in vitro (cellule miogeniche), pesce zebra o “zebrafish” (*Danio Rerio*) e sferoidi miogenici.
- iii) Utilizzando un nuovo disegno progettare un gene sintetico della distrofina umana (microdistrofina) per terapia genica
- iv) valutare la efficacia delle nano formulazioni con le molecole sopra descritte con misure di “outcome” omiche (trascrittomiche, biochimiche, proteiche, morfologiche)

NANOTHER attraverso questa serie di strategie combinate e complementari dovrebbe fornire evidenze dell'efficacia della somministrazione di NF per la DMD, per valutare la loro applicabilità clinica.