

SCHEDA PER BANDO DI SELEZIONE PUBBLICA PER TITOLI E COLLOQUIO PER IL CONFERIMENTO DI UN ASSEGNO DI RICERCA EX ART. 22 DELLA L. 240/2010

1. Tipologia di assegno¹

lettera a lettera b

2. Durata²: 12 mesi/anni

non rinnovabile rinnovabile eventualmente rinnovabile

3. Dipartimento richiedente: Dipartimento di Biotecnologie Mediche

4. Settore/i scientifico disciplinare/i: BIO/18 Genetica

5. Settore concorsuale: 05/I1 Genetica

6. Campo³ (solo ai fini della pubblicazione sul portale europeo): Medical sciences

7. Progetto di ricerca⁴: “Progetto MIUR/PRIN 2017 - n. 20172C9HLW (CUP B64I19000370001)”

8. Tema di ricerca (titolo sintetico in italiano e in inglese):

- CRISPR/cas9 gene editing per la terapia della malattia da mutazioni in PCDH19
- CRISPR/cas9 gene editing for the therapy of disease due to mutations in PCDH19 gene

9. Piano delle attività di ricerca che saranno affidate all’assegnista (in italiano e in inglese, max 900 caratteri per ciascuna delle due lingue, compresi spazi e punteggiatura):

- Il progetto ha come finalità l’applicazione della tecnologia di gene editing con CRISPR/cas9 per i disordini del neurosviluppo causati dal meccanismo di “interferenza cellulare” dovuta a mutazioni nel gene PCDH19, per i quali al momento non esistono trattamenti. A tale scopo, il presente progetto si propone di agire sulla causa molecolare della malattia andando a correggere l’interferenza cellulare attraverso l’utilizzo dell’innovativa tecnologia di “gene editing” CRISPR/Cas9, sia *in-vitro* che *in-vivo* su un modello animale.

Le attività dell’assegnista sono le seguenti: costruzione del tool di gene editing attraverso l’ingegnerizzazione di vettori Homology-dependent-recombination-AAV che veicolano all’interno delle cellule il sistema CRISPR/Cas9 e le gRNA disegnate sul gene PCDH19 per la delezione del gene stesso al fine di generare una popolazione omogenea di cellule PCDH19-negative. Verranno prese in considerazione almeno tre diverse coppie di gRNA. Le cellule trasfettate positive al GFP saranno selezionate al FACS per identificare le celle correttamente modificate. L’efficienza della delezione di PCDH19 guidata dalle varie combinazioni di coppie di gRNA sarà valutata mediante analisi Real-Time PCR (per valutare i livelli di mRNA totali) e la tecnica del Western Blot (per valutare i livelli di proteina) sui fibroblasti dei pazienti. La coppia di gRNA che mostra la maggiore efficienza nella delezione genica sarà poi utilizzata per valutare specificità ed efficienza del sistema

¹ Vedasi art. 3 del Regolamento per gli assegni di ricerca (DR 325/2016 e s.m.i.).

² Da uno e tre anni, eventualmente rinnovabili.

³ Ai fini della pubblicazione sul portale europeo, indicare un campo tra i seguenti: Agricultural sciences; Anthropology; Architecture; Arts; Astronomy; Biological sciences; Chemistry; Communication sciences; Computer science; Criminology; Cultural studies; Demography; economics; Educational sciences; Engineering; Environmental science; Ethics in Health sciences; Ethics in natural sciences; Ethics in physical sciences; Ethics in social sciences; Geography; History; Information science; Juridical sciences; Language sciences; Literature; Mathematics; Medical sciences; Neurosciences; Pharmacological sciences; Philosophy; Physics; Political sciences; Psychological sciences; Religious Sciences; Sociology; Technology; Other.

⁴ Indicazione dello specifico progetto di ricerca, con la relativa durata e tutte le informazioni necessarie ad individuarlo (titolo, acronimo, finanziatore, tipologia di finanziamento, etc.).

in vitro (nei neuroni derivati da iPS dei pazienti) e *in vivo* (nel modello animale).

- The aim of the project is to apply the CRISPR/cas9 gene editing technology for the treatment of neurodevelopment disorders caused by the "cellular interference" mechanism due to mutations in PCDH19 gene, for which there are currently no treatments. To this aim, this project plans to act on the molecular cause

of the disease by correcting cellular interference through the use of the innovative CRISPR/Cas9 "gene editing" technology, both *in-vitro* and *in-vivo*.

The assignee's activities are as follows: construction of the gene editing tool through the engineering of Homology-dependent-recombination-AAV vectors that carry the CRISPR/Cas9 system and the gRNAs drawn on the PCDH19 gene for gene deletion in order to generate a homogeneous population of PCDH19-negative cells. At least three different pairs of gRNA will be considered. GFP positive transfected cells will be selected at the FACS to identify correctly modified cells. The efficiency of the PCDH19 deletion guided by the various combinations of gRNA pairs will be assessed by Real-Time PCR analysis (to evaluate the total mRNA levels) and the Western Blot technique (to evaluate the protein levels) on the patients' fibroblasts.

The gRNA pair showing the greatest efficiency in gene deletion will then be used to assess the specificity and efficiency of the system *in vitro* (in patients' iPS-derived neurons) and *in vivo* (in animal model).

10. Eventuale piano delle attività assistenziali connesse alle esigenze del progetto di ricerca (in italiano e in inglese, max 900 per ciascuna delle due lingue, compresi spazi e punteggiatura)⁵:

11. Sede/i di svolgimento dell'attività: Dipartimento di Biotecnologie Mediche

12. Importo dell'assegno (nel rispetto del minimo fissato dal MIUR)⁶: Euro 26.970,00 lordo beneficiario (€ 33.124,00 Lordo complessivo)

13. Disponibilità di budget e imputazione dei costi dell'assegno, inclusi gli oneri a carico del datore di lavoro: Codice progetto padre "PRIN 2017 n. 20172C9HLW – prog. 2266-2020-FE-CONRICMIUR_001"

14. Responsabile scientifico: Prof.ssa Elisa Frullanti

15. Eventuali ulteriori titoli e/o requisiti connessi alla produzione scientifica e/o al curriculum scientifico-professionale richiesti per lo svolgimento dello specifico progetto di ricerca⁷:

16. Eventuale svolgimento della prova orale in via telematica

si no da valutare da parte della Commissione

Siena, data della firma digitale

Il Direttore del Dipartimento

Il Segretario Amministrativo

⁵ Nel caso di assegni di ricerca relativi a S.S.D. delle aree delle scienze biologiche e mediche. Qualora il progetto di ricerca preveda lo svolgimento di attività assistenziale da parte dell'assegnista è necessaria l'autorizzazione da parte dell'Azienda ospedaliera universitaria senese o delle altre aziende sanitarie interessate.

⁶ Indicare l'importo complessivo compresi gli oneri a carico del datore di lavoro, e l'importo lordo beneficiario.

⁷ Ad esempio (a titolo puramente indicativo):

Eventuale numero massimo di pubblicazioni da presentare per la selezione;

Eventuale/i lingua/e straniera/e richiesta/e;

Livello avanzato di conoscenza scritta e parlata di una o più lingue straniere;

Esperienza lavorativa e/o formativa presso strutture di ricerca pubbliche e/o private;

Esperienze in ambito internazionale.

