

Código do Concurso | 02/SAICT/2017

Designação do projeto | LISBOA-01-0145-FEDER-029469 BRCA_RNA .: Organóides com edição génica para estudar o impacto funcional de mutações BRCA1 e BRCA2

Código do projeto | LISBOA-01-0145-FEDER-029469

Objectivo Principal | Reforçar a investigação, o desenvolvimento tecnológico e a inovação

Região de intervenção | Lisboa

Entidade beneficiária | Instituto de Medicina Molecular João Lobo Antunes

Data de aprovação | 2018-04-16

Data de início | 01-07-2018

Data de conclusão | 30-06-2021 **Prorrogação** | 31-12-2021

Custo total elegível | 237.261,62 euros

Apoio financeiro da União Europeia | FEDER - 94.904,65 euros

Apoio financeiro público nacional | Orçamento de Estado -142.356,97 euros

A disfunção das proteínas BRCA1 e BRCA2 causada por mutações genéticas resulta num risco elevado de cancro, em particular da mama e ovário. Além disso, mutações em BRCA1/2 proporcionam oportunidades para terapia dirigida no cancro. Assim, testes genéticos para mutações BRCA1/2 têm implicações nas estratégias de prevenção e tratamento do cancro. Contudo, em mais de dois terços dos doentes, os testes de DNA convencionais não detectam qualquer mutação patogénica conhecida. Com base na observação de que muitas mutações patogénicas BRCA descritas introduzem um codão de terminação prematuro, que leva à degradação do mRNA anormal por nonsensemediated mRNA decay, colocamos a hipótese da quantificação dos transcritos BRCA1/2 ser uma abordagem geral para identificar indivíduos que produzem níveis mais baixos de mRNA, independentemente da localização da mutação na sequência de DNA. Propomos, assim, desenvolver uma abordagem de rastreio usando a tecnologia NanoString, que fornece quantificação absoluta, sensível e precisa, de moléculas de mRNA em amostras biológicas, incluindo tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina. Provavelmente nem todas as mutações patogénicas BRCA1/2 são funcionalmente equivalentes, como mostra uma avaliação recente da incidência de cancro em mais de 31 000 portadores de mutação BRCA1/2. Desenvolver modelos para avaliar a função das mutações BRCA é actualmente uma necessidade. Os estudos funcionais têm-se baseado em modelos de murganho, linhas celulares malignas e células primárias imortalizadas transfectadas com minigenes ou vectores virais. Embora os modelos animais permitam uma experimentação aprofundada, não refletem todas as características genéticas e a fisiologia dos tecidos humanos; portanto, não são ideais para o estudo do processo oncogénico. Do mesmo modo, as linhas celulares acumulam mutações com as passagens e não conseguem recapitular a fisiologia dos tecidos. Para superar estas limitações, propomos gerar organóides de epitélio mamário e trompa de falópio a partir de células estaminais pluripotentes induzidas (iPSCs) humanas e usá-los como modelo para estudar a contribuição de alelos BRCA heterozigóticos identificados em doentes na diferenciação celular, reparação do DNA, instabilidade genómica e sensibilidade a inibidores da PARP. Embora se usem "ratinhos avatar" no tratamento personalizado de doentes com cancro, os organóides e os organs-on-chips estão a revelar-se uma boa alternativa, com grandes promessas enquanto plataformas para prever a resposta em humanos. Neste projeto usaremos ferramentas de edição de genes CRISPR-cas9 para introduzir alelos BRCA identificados em doentes em iPSCs humanas que serão induzidas a diferenciarem-se em organóides. Combinando a estratégia inovadora de rastreio de RNA com organóides de mama e ovário como modelos de cancro, ajudaremos na seleção de indivíduos em risco que poderão beneficiar de cirurgia profilática e doentes com cancro que poderão responder a inibidores da PARP.