

PROGETTI DI “RICERCA CORRENTE 2019”
RELAZIONE FINALE

N. identificativo progetto: IZS LT 01/19 RC

Progetto presentato da:

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
REGIONI LAZIO E TOSCANA “M. ALEANDRI”

Area tematica: Sanità Animale

Titolo del progetto:

Immortalizzazione e Riprogrammazione cellulare:
metodiche innovative per la produzione di linee cellulari in
diagnostica veterinaria

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute

Responsabile Scientifico: Dott.ssa *Katia Barbaro*

SINTESI

Immortalizzazione e Riprogrammazione cellulare: metodiche innovative per la produzione di linee cellulari in diagnostica veterinaria

Parole chiave: cellule primarie, immortalizzazione cellulare, editing genico, modello cellulare per test *in vitro*.

L'impiego di colture cellulari rappresenta un valido approccio di indagine *in vitro* e con applicazioni molto variegata e interdisciplinari. Il loro utilizzo risulta importante in molti ambiti di studio come nella ricerca di base, al fine di investigare sui meccanismi fisio-patologici che caratterizzano un particolare *lineage* cellulare. Tra le potenzialità delle colture cellulari c'è infatti quella di poter ricreare *in vitro* dei modelli specie specifici e tessuto specifici che possano sempre di più rappresentare un valido approccio sperimentale alternativo all'impiego degli animali di laboratorio. Inoltre, tra le altre applicazioni giocano un ruolo importante nella produzione di vaccini virali sia in ambito veterinario che umano. Questi substrati cellulari rappresentano ancora oggi l'approccio di elezione per la diagnostica virologica, in quanto permettono l'isolamento, l'amplificazione e l'identificazione dei virus animali patogeni, affiancate dalle tecniche di biologia molecolare. Nell'ottica di ampliare il ventaglio di linee cellulari attualmente disponibili, ancora non sufficienti a rispondere a tutte le esigenze di isolamento virale, nasce l'esigenza di sviluppare modelli cellulari aggiuntivi che possano diventare validi sistemi di studio anche per i virus ad oggi difficili da coltivare. A tal proposito il *goal* principale di questo progetto è stato quello di ottenere nuove linee primarie a partire da diversi distretti cellulari e da differenti specie. Con lo scopo di riuscire a generare dei modelli cellulari, con caratteristiche costanti e riproducibili nel tempo, alcune delle linee isolate sono state immortalizzate grazie al gene hTERT. Le nuove linee così ottenute rappresentano nuovi potenziali substrati cellulari che possano andare a coprire ambiti di diagnostica virologica finora poco esplorati.

SUMMARY

Immortalization and cellular reprogramming: innovative methods for the production of cell lines in veterinary diagnostics

Keywords: primary cells, cellular immortalization, gene editing, cellular model for in vitro tests.

The use of cell cultures represents a valid *in vitro* investigation approach with very varied and interdisciplinary applications. Their use is important in many fields of study, such as in basic research, in order to investigate the physio-pathological mechanisms that characterize a particular cell lineage. The potentiality of cell cultures is to recreate the species-specific and tissue-specific models *in vitro* which can increasingly represent a valid alternative approach to the use of laboratory animals. Furthermore, among other applications they play an important role in the production of viral vaccines, in both veterinary and human fields. Currently, these cellular substrates still represent the *gold standard* for virological diagnostics, as they allow the isolation, amplification and identification of pathogenic animal viruses, together with molecular biology techniques. In order to extend the range of cell lines currently available, which are still not sufficient to respond to all viral isolation, the need to develop additional cell models arises. In this regard, the main *goal* of this project was to obtain new primary lines starting from different cellular districts and from different species. In order to generate cellular models, with constant and reproducible characteristics, some of the isolated lines have been immortalized through the hTERT gene. In conclusions, the new lines obtained represent innovative cellular substrates that can cover areas of virological diagnostics until now unexplored.