

PLIEGO TECNICO
SERVICIO DE TESTEO IN VIVO DE TOXICIDAD Y ACTIVIDAD POTENCIALMENTE
TERAPEUTICA DE COMPUESTOS CANDIDATOS EN UN MODELO DE MOSCA DE
DISTROFIA MITOONICA
EXPEDIENTE NÚM: PNEG 15/2015

1. OBJETO DEL CONTRATO

Servicio de Testeo in vivo de toxicidad y actividad potencialmente terapéutica de compuestos candidatos en un modelo de mosca de Distrofia Miotónica.

Se requiere la evaluación sistemática in vivo de la actividad anti Distrofia Miotónica de tipo 1 (DM1) de colecciones de compuestos.

Esta memoria técnica se enmarca en el contexto del proyecto "Characterization of novel suppressors of neurodegeneration in myotonic dystrophy type

La distrofia miotónica tipo 1 (DM1) es una enfermedad hereditaria con un patrón de herencia autosómico dominante y representa la distrofia muscular más común en adultos. Se trata de una enfermedad multisistémica entre cuyos síntomas se encuentra la atrofia muscular, causa principal de la invalidez que afecta a los pacientes con DM1 avanzada y una de las principales causas de muerte, y las alteraciones cognitivas, tales como déficit de atención y somnolencia diurna.

2. DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS TECNICAS DEL SERVICIO

Descripción:

Se requiere la evaluación sistemática in vivo de la actividad anti Distrofia Miotónica de tipo 1 (DM1) de colecciones de compuestos.

Características:

La evaluación in vivo requiere un modelo en Drosophila por expresión de repeticiones CTG en el cerebro del insecto. El modelo ha de estar previamente validado con alguna publicación científica.

En este proyecto se realizará el testeo de quimiotecas de compuestos y de fármacos candidatos, hasta un total de aproximadamente 1900, y según los siguientes parámetros esenciales. Se establecerán cruces de los genotipos adecuados ("mushroom bodies"-Gal4> UAS(CTG)480) para la recogida de embriones de la F1, con la particularidad de que debido a que el driver Gal4 se encuentra localizado en el cromosoma X, solo las

hembras expresan las repeticiones sirviendo los machos como control negativo. Esta descendencia se creará a 29°C, que es la temperatura a la que se observa letalidad originada por la expresión de las expansiones CTG en el cerebro de *Drosophila*. Los compuestos se administrarán diluidos en el medio nutritivo a una concentración entre 1 y 10 microM por triplicado sirviendo una cantidad equivalente del DMSO presente en el medio como control. Se computará el número de machos que nacen, lo que confirma que el compuesto no es tóxico a esa concentración, y en caso de nacer alguna hembra se considerará como positivo preliminar (hit). Todos los hits iniciales se evaluarán de nuevo en experimentos independientes para confirmar la reproducibilidad de los resultados. Para aquellos que sean reproducibles, evaluaremos la respuesta a dosis así como la actividad del mismo compuesto de distintos proveedores, como control de que no hay interferencias por contaminantes específicos de proveedor. La diversidad química a testar incluye la quimioteca Prestwick, una colección de 84 compuestos licenciados de la empresa Pfizer, quimioteca Greenpharma y unos 1000 compuestos del proveedor Otava, entre otros.

Tras un ensayo primario, (1) se testará la reproducibilidad de la actividad inicialmente detectada en ensayos independientes y (2) se validarán aquellos compuestos con actividad reproducible que además sean capaces de reducir fenotipos adicionales típicos del modelo como puedan ser capacidad de vuelo y/o escalada, alteraciones en el splicing alternativo o reducción en la supervivencia de las moscas.

Valencia 23 de Diciembre 2015