

J1-9173 Načrtovanje hitro odzivne signalne in logične poti na osnovi ortogonalnih proteaz

Vodja projekta: Dr. Roman Jerala

1. VSEBINSKI OPIS PROJEKTA:

Celice so nenehno izpostavljene različnim signalom, na katere se morajo ustrezno odzvati. Prenos signala je pomemben biološki proces, ki ga celice uporabljajo za odkrivanje, prepoznavanje in obdelavo različnih kemičnih ali fizikalnih signalov iz okolja ali iz endogenih procesov. Poleg obstoječih signalnih in procesnih vezij lahko v celice dodamo tudi nova logična vezja, kar je že bilo uporabljeno za inovativne terapije, kot npr. v imunoterapiji raka s CAR-T celicami ali v optogenetiki. Doslej so že bila pripravljena celična logična vezja, ki obdelujejo izbrane signale na ravni transkripcijske regulacije. Pomanjkljivost transkripcijskih signalizacijskih poti je sorazmerno počasen odzivni čas v rangu več ur ali celo dni, saj zahteva transkripcijo in translacijo novih proteinov in/ali modifikacije kromatina. Za hitrejši odziv na signale celice uporabljajo naravne **proteinske signalne poti**, ki se lahko odzivajo v rangu sekund ali minut, saj sinteza novih proteinov ni potrebna. To je še posebej pomembno za fiziološko pomembne procese, ki zahtevajo hiter odziv, v nekaj minutah, kot je npr. odziv na povečano koncentracijo glukoze, kar povzroči izločanje insulina. Te signalne poti temeljijo na **modifikaciji in/ali povezovanju proteinov** in so kot take zahtevnejše za grajenje, saj temeljijo na specifičnih proteinskih interakcijah z drugimi proteini.

Predlagamo **načrtovanje in pripravo hitre signalne in logične procesne poti na osnovi proteinov**, ki bo sposobna integracije več signalov v ustrezen celični odziv. Načrtovana signalna pot bo temeljila na kombinaciji **cepljenih ortogonalnih proteaz** in načrtovanih **interakcij** na osnovi peptidov **obvitih vijačnic**, njeno delovanje pa bomo dokazali v sesalskih celicah, kar je uporabno za potencialne terapevtske aplikacije. Pričakovani rezultat projekta bo prvi primer *de novo* načrtovane signalne poti v sesalskih celicah.

Sodelujoče organizacije:

EN-FIST CENTER ODLIČNOSTI

a. osnovni podatki glede financiranja:

Projekt financira ARRS v okviru cenovne kategorije D za obdobje treh let v obsegu 2284 letnih ur. Trajanje financiranja je 1.7.2018 - 30.06.2021.

b. sestava projektne skupine s povezavami na SICRIS

Na Kemijskem inštitutu v projektini skupini J1-9173 sodelujejo:

14360; Benčina Mojca - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=8380>
35277; Fink Tina - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=40263>
17915; Gradišar Helena - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=10174>
28881; Ivičak Kocjan Karolina - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=31432>
06628; Jerala Roman - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=5855>
34252; Lebar Tina - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=38797>
17917; Majerle Andreja - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=10176>
23939; Mohorčič Martina – <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=17172>
50616; Praznik Arne - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=46785>

2. faze projekta in njihova realizacija

Namen projekta je zasnovati, testirati in demonstrirati funkcijo načrtovanega signalizacijskega in logičnega sistema, osnovanega na stikalih na osnovi proteolize in peptidov obvitih vijačnic (PCCS). Potek projekta temelji na naslednjih delovnih paketih:

- Delovni paket 1** - načrtovanje seta razcepljenih ortogonalnih proteaz in testiranje njihove funkcije v sesalskih celicah;
- Delovni paket 2** - načrtovanje intramolekularnih antiparalelnih zaporedij peptidov obvitih vijačnic, ki jih lahko izpodrine močna vezava CC peptida po proteolitični cepitvi na načrtovanih mestih;
- Delovni paket 3** - implementacija signalnih poti in logičnih funkcij v sesalskih celicah sesalcev na osnovi PCCS in
- Delovni paket 4** - *in vivo* izvedba in validacija hitrega odziva zasnovane signalne poti (PCCS).

3. bibliografske reference, ki izhajajo neposredno iz izvajanja projekta

LEBAR, Tina, LAINŠČEK, Duško, MERLJAK, Estera, AUPIČ, Jana, JERALA, Roman. A tunable orthogonal coiled-coil interaction toolbox for engineering mammalian cells. *Nature chemical biology*, 6 Jan. 2020. doi: [10.1038/s41589-019-0443-y](https://doi.org/10.1038/s41589-019-0443-y).

4. logotip ARRS in drugih sofinancerjev



ARRS

JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST
REPUBLIKE SLOVENIJE