

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

Design of a fast signaling and logic processing pathway based on orthogonal proteases

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 projektne 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*. May 2020, vol. 16, iss. 5, str. 513-519, ISSN 1552-4450, DOI: [10.1038/s41589-019-0443-y](https://doi.org/10.1038/s41589-019-0443-y). [COBISS.SI-ID [6774042](https://www.cobiss.si/COBISS.SI-ID/6774042)]

ZHOU, Weijun, ŠMIDLEHNER, Tamara, JERALA, Roman. Synthetic biology principles for the design of protein with novel structures and functions. *FEBS Letters*. [Online ed.]. Jul. 2020, vol. 594, iss. 14, str. 2199-2212. ISSN 1873-3468. DOI: [10.1002/1873-3468.13796](https://doi.org/10.1002/1873-3468.13796). [COBISS.SI-ID [40872963](https://www.cobiss.si/COBISS.SI-ID/40872963)]

VERBIČ, Anže, PRAZNIK, Arne, JERALA, Roman. A guide to the design of synthetic gene networks in mammalian cells. *FEBS journal*. Sep. 2021, vol. 288, iss. 18, str. 5265-5288. ISSN 1742-464X, DOI: [10.1111/febs.15652](https://doi.org/10.1111/febs.15652). [COBISS.SI-ID [46208515](https://www.cobiss.si/COBISS.SI-ID/46208515)]

PLAPER, Tjaša, AUPIČ, Jana, DEKLEVA, Petra, LAPENTA, Fabio, MANČEK KEBER, Mateja, JERALA, Roman, BENČINA, Mojca. Coiled-coil heterodimers with increased stability for cellular regulation and sensing SARS-CoV-2 spike protein-mediated cell fusion. *Scientific reports*. 28 Apr. 2021, vol. 11, [article no.] 9136, str. 1-16. ISSN 2045-2322, DOI: [10.1038/s41598-021-88315-3](https://doi.org/10.1038/s41598-021-88315-3). [COBISS.SI-ID [64544771](https://www.cobiss.si/COBISS.SI-ID/64544771)]

LAPENTA, Fabio, AUPIČ, Jana, VEZZOLI, Marco, STRMŠEK, Žiga, DA VELA, Stefano, SVERGUN, Dmitrii Ivanovich, CARAZO, José María, MELERO, Roberto, JERALA, Roman. Self-assembly and regulation of protein cages from pre-organised coiled-coil modules. *Nature communications*. 2021, vol. 12, str. 1-12, ISSN 2041-1723. <https://repositorij.ung.si/lzpisGradiva.php?id=6282>, DOI: [10.1038/s41467-021-21184-6](https://doi.org/10.1038/s41467-021-21184-6). [COBISS.SI-ID [51114755](https://www.cobiss.si/COBISS.SI-ID/51114755)]

AUPIČ, Jana, LAPENTA, Fabio, STRMŠEK, Žiga, MERLJAK, Estera, PLAPER, Tjaša, JERALA, Roman. Metal ion-regulated assembly of designed modular protein cages. *Science advances*. 17 Jun. 2022, vol. 8, iss. 24, str. 1-12. ISSN 2375-2548. DOI: [10.1126/sciadv.abm8243](https://doi.org/10.1126/sciadv.abm8243). [COBISS.SI-ID [114422019](https://www.cobiss.si/COBISS.SI-ID/114422019)]

LEBEN, Katja, STRMŠEK, Žiga, LEBAR, Tina, VERBIČ, Anže, DRAGOVAN, Matej, OMERSA, Neža, ANDERLUH, Gregor, JERALA, Roman. Binding of the transcription activator-like effector augments transcriptional regulation by another transcription factor. *Nucleic acids research*. 7 Jun. 2022, vol. 50, iss. 11, str. 6562–6574, ISSN 0305-1048, DOI: [10.1093/nar/gkac454](https://doi.org/10.1093/nar/gkac454). [COBISS.SI-ID [120903171](https://www.cobiss.si/COBISS.SI-ID/120903171)]

FINK, Tina, JERALA, Roman. Designed protease-based signaling networks. *Current opinion in chemical biology*. Apr. 2022, vol. 68, str. 1-8, ISSN 1367-5931. <https://dirros.openscience.si/lzpisGradiva.php?id=15108>, DOI: [10.1016/j.cbpa.2022.102146](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2022.102146). [COBISS.SI-ID [108341507](https://www.cobiss.si/id/108341507)],

PRAZNIK, Arne, FINK, Tina, FRANKO, Nik, LONZARIĆ, Jan, BENČINA, Mojca, JERALA, Nina, PLAPER, Tjaša, ROŠKAR, Samo, JERALA, Roman. Regulation of protein secretion through chemical regulation of endoplasmic reticulum retention signal cleavage. *Nature communications*. 14 Mar. 2022, vol. 13, str. 1-14, ISSN 2041-1723, DOI: [10.1038/s41467-022-28971-9](https://doi.org/10.1038/s41467-022-28971-9). [COBISS.SI-ID [101106947](https://www.cobiss.si/id/101106947)]

JAZBEC, Vid, JERALA, Roman, BENČINA, Mojca. Proteolytically activated CRAC effectors through designed intramolecular inhibition. *ACS synthetic biology*. 8. Jul. 2022, vol. 11, iss. 8, str. 2756–2765, ISSN 2161-5063. <https://dirros.openscience.si/lzpisGradiva.php?id=15301>, <https://repozitorij.uni-lj.si/lzpisGradiva.php?id=140820>, DOI: [10.1021/acssynbio.2c00151](https://doi.org/10.1021/acssynbio.2c00151). [COBISS.SI-ID [115643651](https://www.cobiss.si/id/115643651)]

RIHTAR, Erik, LEBAR, Tina, LAINŠČEK, Duško, KORES, Katarina, LEŠNIK, Samo, BREN, Urban, JERALA, Roman. Chemically inducible split protein regulators for mammalian cells. *Nature chemical biology*. 2023, vol. 19, str.64-71, ISSN 1552-4450, DOI: [10.1038/s41589-022-01136-x](https://doi.org/10.1038/s41589-022-01136-x). [COBISS.SI-ID [123628035](https://www.cobiss.si/id/123628035)]

KADUNC, Lucija, LAINŠČEK, Duško, GAŠPERŠIČ, Rok, SUŠJAN, Petra, KOVAČIČ, Uroš, BUTINAR, Miha, TURK, Boris, JERALA, Roman, HAFNER BRATKOVIČ, Iva. Engineered combinatorial cell device for wound healing and bone regeneration. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2023, vol. 11, str. 1-16, ISSN 2296-4185, <https://dirros.openscience.si/lzpisGradiva.php?id=16610>, DOI: [10.3389/fbioe.2023.1168330](https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1168330). [COBISS.SI-ID [152044035](https://www.cobiss.si/id/152044035)]

4. logotip ARRS in drugih sofinancerjev



arrs

JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST
REPUBLIKE SLOVENIJE