Šifra projekta / Project code **J3-60061**

Razvoj CAR-T stikal usmerjenih na fosforilacijo z izboljšano varnostjo in učinkovitostjo
Development of switchable CAR-T designs for enhanced safety and efficacy

Vodja projekta:
izr. prof. dr. Mojca Benčina

1. VSEBINSKI OPIS PROJEKTA:

Projekt z razvojem inovativnega sistema CAR naslavlja ključno potrebo po varnejši in bolj nadzorovani celični terapiji CAR-T. Kljub revolucionarnemu učinku CAR-T terapije pri zdravljenju hematoloških rakov, so trenutni izzivi terapij CAR-T hudi stranski učinki in pomanjkanje nadzora nad zelo učinkovitimi celicami CAR-T. Rešitve, ki jih predlagamo, vključujejo oblikovanje sistema CAR, ki vključuje hiter, reverzibilen in nastavljiv nadzor signalizacije CAR z uporabo negativnih regulatorjev ali oblikovanja intramolekularne neaktivne zanke, usmerjene na fosforilacijo domene CD3ζ.

Za nadzor nad signaliziranjem receptorjev CAR bomo uporabili kemično inducirane dimerizacijske domene (CID). Te domene, ki jih aktivira majhna molekula (klinično odobreno zdravilo), bodo v bližino receptorja CAR pripeljale negativne regulatorje, usmerjene v inhibicijo fosforilacijo CD3ζ, kar bo predvidoma povzročilo inhibicijo signalizacije receptorja CAR. Poleg tega, inovativni pristop vključuje oblikovanje intramolekularne zanke v znotrajceličnem delu receptorja CAR ob uvedbi farmakološkega regulatorja. Prednost te zasnove je v enoviti strukturi ene polipeptidne verige, ki omogoča hitro, prehodno in reverzibilno zaviranje aktivacije celic CAR-T.

V prvi fazi projekta bomo zasnovo preverili na celičnih linijah. Funkcionalnost, kinetiko in odzivnost najučinkovitejših receptorjev CAR bomo testirali na primarnih T celicah in živalskem modelu raka. Čeprav je ta nova platforma za regulacijo CAR sprva osredotočena na celice, ki izražajo CD19, jo bo mogoče prilagoditi za različne tumorske markerje. Projekt obeta varnejši in bolj nadzorovan pristop h terapijam, ki temeljijo na celicah CAR-T, kar daje upanje na boljše rezultate zdravljenja z manj neželenimi učinki.

The project aims to address the urgent need for safer and more regulated CAR-T cell therapies through the development of an innovative CAR system. Despite their significant impact on haematological malignancies, existing challenges with CAR-T therapies include severe side effects and the inability to control highly potent CAR-T cells. The proposed solution is to develop a CAR system that incorporates rapid, reversible and tunable control of CAR signalling by targeting the phosphorylation of CD3ζ domain using negative regulators or intramolecular inactive loop formation.

To achieve precise regulation of CAR receptor signalling, the project will use chemically inducible dimerisation (CID) domains. These domains, triggered by an exogenous small molecule (a clinically approved drug), will facilitate the proximity of negative regulators targeting CD3ζ phosphorylation to the CAR receptor. In addition, an innovative strategy involves inducing an intramolecular loop within the intracellular CAR receptor upon the introduction of a pharmacological regulator. The streamlined, single polypeptide chain structure of this design allows for rapid, transient and reversible suppression of CAR T-cell activation.

The initial stages will involve the implementation of these designs in cell lines, progressing to primary T cells and an animal cancer model. While initially focused on CD19, this novel CAR regulatory platform holds promise for adaptation to various CAR constructs. The project aims to provide a safer and more finely controlled approach to CAR-T cell-based therapies, offering the prospect of improved treatment efficacy with minimised side effects.

Sodelujoče organizacije

- **KEMIJSKI INŠTITUT**
- **EN-FIST CENTER ODLIČNOSTI**

a. osnovni podatki glede financiranja

Projekt financira ARRS v okviru cenovne kategorije D za obdobje treh let v obsegu 1753 letnimi urami za obdobje 3 let. Pričetek financiranja je 1. 1. 2025.
The project is co-financed by ARRS with 1753 annual hours of price class D for a period of 3 years. Funding starts on January 1, 2025.

b. sestava projektne skupine s povezavami na SICRIS

Izr. Prof. dr. Mojca Benčina; 14360	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/8380
Dr. Vida Forstnerič; 34529	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/39144
Dr. Duško Lainšček; 34069	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/38518
Dr. Tina Fink; 35277	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/40263
Dr. Tjaša Plaper; 39111	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/45131
Dr. Vid Jazbec; 52001	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/48320
Dr. Iva Hafner Bratkovič; 23563	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/16734
Dr. Roman Jerala; 6628	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/5855
Dr. Mateja Manček Keber; 21426	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/13349
Tina Strmljan; 55061	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/51736
Nina Varda; 58064	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/55216

2. faze projekta in njihova realizacija

Projekt sestavljajo štirje sklopi, ki sledijo zastavljenim ciljem.
Delovni paket 1. Načrtovanje stikal CAR-T (1.-2. leto)
Delovni paket 2. Uporaba in ocenjevanje delovanja stikal CAR-T (1.-2. leto)
Delovni paket 3. Funkcionalnost stikal CAR-T (2.-3. leto)
Delovni paket 4. Delovanje *in vivo* stikal CAR-T (2.-3. leto)

The project consists of four scientific work packages in line with the set specific objectives.
WP1. Switchable CAR designs (year 1-2)
WP2. Implementation and assessment of CAR designs (year 1-2)
WP3. Functionality of the switchable CAR-T cells (year 2-3)
WP4. *In vivo* functionality of the switchable CAR-T cells (year 2-3)

3. bibliografske reference, ki izhajajo neposredno iz izvajanja projekta

4. logotip ARIS in drugih sofinancerjev