

J3-7034 - Napredna nano-cepiva na osnovi proteinskega origamija, ki kombinirajo aktivatorje prirojenega in pridobljenega imunskega odziva

Advanced nano-vaccines based on protein origami combining activators of innate and adaptive immune response

Vodja projekta:

Izr. prof. dr. Mojca Benčina

1. VSEBINSKI OPIS PROJEKTA:

Cepiva so rešila več človeških življenj kot katera koli druga medicinska terapija. Kljub izjemnemu napredku pri razumevanju delovanja cepiv, določena cepiva še vedno ne dosežejo ustreznega dolgotrajnega učinka zaščite pred patogeni. Okužbe z respiratornim sincicijskim virusom (RSV), ki je etiološki agens resnih obolenj nižjih dihal, predstavljajo veliko zdravstveno breme po vsem svetu. Zdravljenje okužb z RSV je omejeno zgolj na protivirusna zdravila, saj cepiv, ki bi zagotavljala dolgotrajno zaščito pred RSV, ni, kar je posledica slabe imunogenosti RSV. Iz omenjenega sledi, da so za učinkovito nevtralizacijo RSV potrebna drugačna, naprednejša cepiva.

Dobra imunogenost cepiv, ki temeljijo na oslavljenih ali mrtvih patogenih, je posledica prisotnosti kombinacije adjuvansov, t.i. aktivatorjev prirojene imunosti, vendar so ta cepiva lahko nevarna ravno zaradi njihove slabo poznane, heterogene sestave. Moderna cepiva, ki temeljijo na izoliranih antigenih, so varnejša, vendar pogosto le šibko imunogena. Imunski odziv teh cepiv se izboljša z dodatkom aktivatorjev prirojene imunosti, vendar pa naključna mešanica adjuvansov z antigeni ne predstavlja najbolj učinkovitega načina aktivacije celične predstavitve antigena. Imunogenost je najbolj učinkovita, ko so v istih antigen predstavitenih celicah (APC) prisotni tako antigen, kot tudi agonisti Toll-u podobnih receptorjev (TLR). Idealni nosilec cepiva naj bi torej zagotovil prostorsko ureditev antigenov in agonistov TLR, ter vseboval signale za celično internalizacijo in usmerjeno dostavo cepiva.

Predpostavljamo, da bo medsebojno povezovanje agonistov receptorjev TLR in antigenov preko polipeptidne matrike na osnovi obvitih vijačnic (ang. coiled coil, CC) pri t.i. naprednih nanocepivih, izboljšalo imunski odziv, celično predstavitve antigenov ter tvorbo protiteles. Poleg tega predvidevamo, da bomo lahko jakost in specifičnost imunskega odziva uravnavali z različnimi kombinacijami agonistov TLR vezanih na CC-polipeptidne matrike. Priprava načrtovanih naprednih nano-cepiv bo temeljila na našem znanju o prirojeni imunosti in bionanomaterialih, pri katerih bomo uporabljali nabor načrtovanih modularno sestavljenih polipeptidov (t.i. proteinski origami) na osnovi parov ortogonalnih peptidov, ki tvorijo obvite vijačnice (CC-peptidov). Medsebojno povezovanje imunološko aktivnih domen preko samo-sestavljljivih struktur obvitih vijačnic bo zagotovilo celovitost nano-cepiv, saj je tak način povezovanja značilen za večfunkcionalne delce, hkrati pa bo omogočilo, da agonisti in antigeni skupaj vstopijo v iste celične strukture.

Pričakujemo, da bomo z našimi večfunkcionalnimi načrtovanimi nano-cepivi uspešno uravnavali predstavitve antigenov in odziv Th1 in Th2. Pripravili bomo napredna nano-cepiva proti RSV, ki bodo vsebovala skupino izbranih agonistov TLR, ki zagotavljajo celično predstavitve antigenov pri zrelih dendritičnih celicah in izolirane antigene RSV povezane na polipeptidne matrike preko obvitih vijačnic. Čeprav se predlog projekta osredotoča na cepivo proti RSV, bodo pridobljena znanja, izkušnje in principi uporabni tudi pri razvoju drugih cepiv proti virusnim, bakterijskim ali glivnim okužbam, kot tudi pri terapiji raka.

Prednost predlaganega pristopa uporabe modularne izgradnje cepiva na osnovi obvitih vijačnic je njegova široka uporabnost za enostavno in nadzorovano umeščanje raznovrstnih aktivatorskih domen, ki jih lahko poljubno nadgrajujemo z novimi molekulami. Takšni materiali imajo izjemen potencial za biotehnoške in biomedicinske aplikacije.

Sodelujoče organizacije:

EN-FIST

a. osnovni podatki glede financiranja:

Projekt financira ARRS v okviru cenovne kategorije D za obdobje treh let v obsegu 2472 letnih ur. Doba financiranja je 1. 1. 2016 – 31. 12. 2018.

b. sestava projektne skupine s povezavami na SICRIS

Na Kemijskem inštitutu v projektni skupini J3-7034 sodelujejo:

Aupič Jana - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=44051>
Benčina Mojca - <http://sicris.izum.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=8380>
Forstnerič Vida - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=39144>
Gradišar Helena - <http://sicris.izum.si/search/rsr.aspx?opt=1&lang=slv&id=10174>
Hafner Bratkovič Iva <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=16734>
Horvat Simon - <http://sicris.izum.si/search/rsr.aspx?opt=1&lang=slv&id=6972>
Ivičak Kocjan Karolina - <http://sicris.izum.si/search/rsr.aspx?opt=1&lang=slv&id=31432>
Jerala Roman - <http://sicris.izum.si/search/rsr.aspx?opt=1&lang=slv&id=5855>
Lainšček Duško - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=38518>
Lebar Tina - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=38797>
Lonzarič Jan - <http://sicris.izum.si/search/rsr.aspx?opt=1&lang=slv&id=35834>
Manček Keber Mateja - <http://sicris.izum.si/search/rsr.aspx?opt=1&lang=slv&id=13349>
Majerle Andreja - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=10176>
Panter Gabriela - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=19641>
Pohar Jelka - <http://sicris.izum.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=34886>
Praznik Arne - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=46785>
Smole Anže - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=36072>
Stevović Bojana - <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=43898>

2. faze projekta in njihova realizacija

Projekt je razdeljen na pet delovnih sklopov, ki so:

- **oblikovanje polipeptidnega ogrodja iz zaporedno vezanih peptidov, ki tvorijo obvite vijačnice.**
- **določiti kombinacije agonistov receptorjev TLR povezanih na strukture, ki bodo sestavljene iz obvitih vijačnic, ki bodo najbolj optimalno aktivirali prirojene imunosti v celičnih linijah.**
- **pripraviti racionalno načrtovana nanocepiva z uvedbo domen antigenov v različne geometrijske ureditve v strukturi s spodbujanje funkcionalnega oligomerizacijskega stanja antigena.**
- **študij učinka naprednih nanocepiv, na katera so vezane polipeptidne domene, ki usmerjajo nanodelce cepiva do APC in omogočajo dostavo antigena in agonistov TLR v ustrezne organele.**
- **z uporabo naprednih nanocepiv izboljšati sintezo protiteles in s tem zaščito pred okužbami z RSV na živalskih modelih.**

Pomembnejši mejniki:

- M1. Knjižnica peptidnih mrež, osnovanih na obvitih vijačnicah
- M2. Zbirka modulov obvitih vijačnic z agonisti imunskega odgovora, antigeni in tarčnimi skupinami
- M3. OVA nano-cepiva
- M4. RSV nano-cepiva
- M5. Celično-specifična tarčna usmeritev
- M6. RSV izziv

3. bibliografske reference, ki izhajajo neposredno iz izvajanja projekta

POHAR, Jelka, LAINŠČEK, Duško, IVIČAK-KOCJAN, Karolina, CAJNKO, Miša Mojca, JERALA, Roman, **BENČINA, Mojca**. Short single-stranded DNA degradation products augment the activation of Toll-like receptor 9. *Nature communications*, 2017, 8: 1-13. [link](#), doi: [10.1038/ncomms15363](https://doi.org/10.1038/ncomms15363).

POHAR, Jelka, LAINŠČEK, Duško, KUNŠEK, Ana, CAJNKO, Miša Mojca, JERALA, Roman, **BENČINA, Mojca**. Phosphodiester backbone of the CpG motif within immunostimulatory oligodeoxynucleotides augments activation of Toll-like receptor 9. *Scientific reports*, 2017, 7, p. 1-11. [link](#), doi: [10.1038/s41598-017-15178-y](https://doi.org/10.1038/s41598-017-15178-y).

LJUBETIČ, Ajasja, LAPENTA, Fabio, GRADIŠAR, Helena, DROBNAK, Igor, AUPIČ, Jana, STRMŠEK, Žiga, LAINŠČEK, Duško, HAFNER BRATKOVIČ, Iva, MAJERLE, Andreja, KRIVEC, Nuša, **BENČINA, Mojca**, PISANSKI, Tomaž, ČIRKOVIČ-VELIČKOVIČ, Tanja, ROUND, Adam, CARAZO, José María, MELERO, Roberto, JERALA, Roman. Design of coiled-coil protein-origami cages that self-assemble *in vitro* and *in vivo*. *Nature biotechnology*, 2017, 35, 1094-1101, doi: [10.1038/nbt.3994](https://doi.org/10.1038/nbt.3994).

IVIČAK-KOCJAN, Karolina, FORSTNERIČ, Vida, PANTER, Gabriela, JERALA, Roman, **BENČINA, Mojca**. Extension and refinement of the recognition motif for Toll-like receptor 5 activation by flagellin. *Journal of leukocyte biology*, 2018, [link](#), doi: [10.1002/JLB.3VMA0118-035R](https://doi.org/10.1002/JLB.3VMA0118-035R).

FINK, Tina, LONZARIČ, Jan, PRAZNIK, Arne, PLAPER, Tjaša, MERLIJAK, Estera, LEBEN, Katja, JERALA, Nina, LEBAR, Tina, STRMŠEK, Žiga, LAPENTA, Fabio, **BENČINA, Mojca**, JERALA, Roman. Design of fast proteolysis-based signaling and logic circuits in mammalian cells. *Nature chemical biology*. Feb. 2019, 15, 115-122. [link](#), DOI: [10.1038/s41589-018-0181-6](https://doi.org/10.1038/s41589-018-0181-6).

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

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://repozitorij.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](#)]

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](#)]

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](#)]

4. logotip ARRS in drugih sofinancerjev

