

Z3-9260 - Načrtovan varnostni mehanizem za uporabo v celično-posredovani terapiji

Vodja projekta:

Dr. Vida Forstnerič

1. VSEBINSKI OPIS PROJEKTA:

Celično-posredovana terapija predstavlja eno od osrednjih in pomembnih novosti v razvoju personaliziranega zdravljenja v zadnjih letih. Predvsem izstopajo uspehi na področju imunoterapije raka z uporabo himernih antigenskih receptorjev (ang. chimeric antigen receptor ali CAR) in zdravljenja na osnovi matičnih celic. Za razliko od majhnih molekul imajo terapevtske celice sposobnost zaznavanja pogojev v tkivu, sprožitve terapevtskega odgovora, proliferacije in preživetja v pacientih. Reakcija celic na določeno mikrookolje tkiva lahko povzroči, da celica opusti svoj prvotni terapevtski namen in povzroča škodo, na primer v obliki bolezni presadka proti gostitelju, kronične ali akutne toksičnosti ali nastanka tumorja. Vpeljava varnostnega mehanizma, ki bi omogočil zanesljivo odstranitev terapevtskih celic iz pacienta v primeru nastopa stranskih učinkov, ali ob zaključku terapije, bi predstavljala pomemben napredek in omogočila bolj razširjeno uporabo tovrstnih terapij. Varnostna stikala, ki so bila razvita do sedaj, temeljijo na indukciji aktivacije letalnega gen, kot je timidin kinaza ali kaspaza 9. Glavna pomanjkljivost teh sistemov je občutljivost na mutacije, ki lahko omogočijo, da celice zaobidejo varnostni mehanizem. Takšne celice so podvržene pozitivni selekciji *in vivo*. V sklopu našega projekta pripravljamo univerzalen varnostni mehanizem za uporabo v celičnih terapijah, ki bo omogočal hitro in učinkovito odstranitev terapevtskih celic in njegova varnost oziroma učinkovitost ne bo občutljiva na točkovne mutacije. Pri izdelavi varnostnega mehanizma uporabljamo orodja sintezne biologije, vključno s sistemom CRISPR-Cas9 (ang. clustered regularly interspaced short palindromic repeat-Cas9) in regulacijo celic z majhnimi regulatornimi molekulami. Predlagani mehanizem ima potencialno uporabo v različnih pristopih celične terapije, kot so imunoterapija s CAR-i, transgenimi T-celičnimi receptorji in terapiji z matičnimi celicami.

a. osnovni podatki glede financiranja:

Projekt financira ARRS v okviru cenovne kategorije B za obdobje dveh let v obsegu 1700 letnih ur. Pričetek financiranja je 1.7.2018.

b. sestava projektne skupine s povezavami na SICRIS

Podoktorski raziskovalni projekt; nosilka projekta na Kemijskem inštitutu:

34529; Vida Forstnerič – <http://www.sicris.si/search/rsr.aspx?lang=slv&id=39144>

2. faze projekta in njihova realizacija

Faze projekta so razdeljene v pet vsebinskih sklopov (ciljev):

Prvo leto:

Cilj 1: Določitev kandidatnih molekul za izdelavo varnostnega stikala

Cilj 2: *In silico* načrtovanje komponent varnostnega stikala

Cilj 3: Priprava genskih konstruktov in izbor funkcionalnih oblik komponent varnostnega stikala

Drugo leto:

Cilj 4: Stabilna integracija varnostnega stikala v genom celic

Cilj 5: Spremljanje proliferacije in fenotipa celic z vgrajenim varnostnim stikalom

3. bibliografske reference, ki izhajajo neposredno iz izvajanja projekta

- LAINŠČEK, Duško, **FORSTNERIČ, Vida**, MIKOLIČ, Veronika, MALENŠEK, Špela, PEČAN, Peter, BENČINA, Mojca, SEVER, Matjaž, PODGORNIK, Helena, JERALA, Roman. Coiled-coil heterodimer-based recruitment of an exonuclease to CRISPR/Cas for enhanced gene editing. *Nature communications*. 23 Jun. 2022, vol. 13, str. 1-12, ISSN 2041-1723. DOI: [10.1038/s41467-022-31386-1](https://doi.org/10.1038/s41467-022-31386-1). [COBISS.SI-ID [114151683](https://www.cobiss.si/id/114151683)]
- KADUNC, Lucija, SVETLIČIČ, Maja, **FORSTNERIČ, Vida**, HAFNER BRATKOVIČ, Iva, JERALA, Roman. Increased gene translation stringency in mammalian cells by nonsense suppression at multiple permissive sites with a single noncanonical amino acid. *FEBS Letters*. [Online ed.]. Aug. 2020, vol. 594, iss. 15, str. 2452-2461. ISSN 1873-3468., DOI: 10.1002/1873-3468.13810.
- LAINŠČEK, Duško, FINK, Tina, **FORSTNERIČ, Vida**, HAFNER BRATKOVIČ, Iva, OREHEK, Sara, STRMŠEK, Žiga, MANČEK KEBER, Mateja, PEČAN, Peter, ESIH, Hana, MALENŠEK, Špela, AUPIČ, Jana, DEKLEVA, Petra, PLAPER, Tjaša, VIDMAR, Sara, KADUNC, Lucija, BENČINA, Mojca, OMERSA, Neža, ANDERLUH, Gregor, POJER, Florence, LAU, Kelvin, HACKER, David, CORREIA, Bruno E., PETERHOFF, David, WAGNER, Ralf, BERGANT, Valter, HERRMANN, Alexander, PICHLMAIR, Andreas, JERALA, Roman. A nanoscaffolded spike-RBD vaccine provides protection against SARS-CoV-2 with minimal anti-scaffold response. *Vaccines*. May 2021, vol. 9, iss. 5, [article no.] 431, str. 1-21. ISSN 2076-393X., DOI: 10.3390/vaccines9050431.
- **FORSTNERIČ, Vida**, OVEN, Irena, OGOREVC, Jernej, LAINŠČEK, Duško, PRAZNIK, Arne, LEBAR, Tina, JERALA, Roman, HORVAT, Simon. CRISPRa-mediated FOXP3 gene upregulation in mammalian cells. *Cell & bioscience*. 21. Nov. 2019, vol. 9, art. 93, str. 1-12, ilustr. ISSN 2045-3701., DOI: 10.1186/s13578-019-0357-0.
- JERALA, Roman, FINK, Tina, **FORSTNERIČ, Vida**, MALENŠEK, Špela, AUPIČ, Jana, LAINŠČEK, Duško, BENČINA, Mojca, HAFNER BRATKOVIČ, Iva, MANČEK KEBER, Mateja, PEČAN, Peter, DEKLEVA, Petra, PLAPER, Tjaša, OREHEK, Sara, STRMŠEK, Žiga, ESIH, Hana. *Vaccines based on an antigen protein fused to a nanostructuring scaffold : LU102016, 2020-08-26*. Luxembourg: Office de la propriété intellectuelle Ministère de l'Économie, 2020. 5 str., ilustr.

4. logotip ARRS in drugih sofinancerjev



arrs

JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST
REPUBLIKE SLOVENIJE