

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0215**
Multivalentný morpholino-based antisense systém pre CML

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Filip Rázga, PhD.**
Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Lekárska fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Lekárska Fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

-

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

-

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

- 1) Razga F, Nemethova V. Selective therapeutic intervention: A challenge against off-target effects. 2017, Trends Mol Med; 23: 671-4, IF: 10.73
- 2) Nemethova V, Razga F. Chronic myelogenous leukemia on target. 2018, Cancer Med; 00:1-5, IF: 3.36
- 3) Nemethova V, Razga F. Overexpression of ABCB1 as prediction marker for CML: How close we are to translation into clinics? 2017, Leukemia; 31(1): 266-7. IF: 12.10
- 4) Razga F, Nemethova V. Gene expression patterns as predictive biomarkers in hemato-oncology: principal hurdles on the road to the clinic. 2017, Haematologica; 102(1): e31-2, IF: 6.67
- 5) Mazancova P, Nemethova V, Trelova D, Klescikova L, Lacik I, Razga F. Dissociation of chitosan/tripolyphosphate complexes into separate components upon pH elevation. 2018, Carbohydr Polym; 192: 104-10, IF: 4.81
- 6) Mazancova P, Nemethova V, Lacik I, Razga F. Chitosan-based particles: The (forgotten) interplay between process, properties and performance. 2017, Mater Sci Eng C; 71: 570-1, IF: 3.42
- 7) Selc M, Razga F, Nemethova V, Mazancova P, Ursinyova M., Novotova M, Kopecka K, Gabelova A, Babelova A. Surface coating determines the inflammatory potential of

magnetite nanoparticles in murine renal podocytes and mesangial cells. 2020. RSC Advances, 10: 23916-23929, IF: 3.07

8) Mazancova P, Trelova D, Nemethova V, Klescikova L, Lacik I, Razga F. Chitosan/TPP particles at physiological pH: do they exist at all? 2017. Biomed. Eng.- Biomed. Tech, 62(s2): 60-65, IF: 0.95

Uplatnenie výsledkov projektu

Bolo prijatých 8 publikácií v zahraničných karentovaných časopisoch s celkovým impakt faktorom 45,11; s priemerným impakt faktorom na publikáciu 5,64.

AS MOR4CML charakteristický inovatívnym dizajnom bol úspešne validovaný in vitro a nepochybne ukázal potenciál pre transláciu do klinickej praxe. Získané dáta jednoznačne kvalifikujú a legitimizujú túto progresívnu platformu k ďalším testom v rámci predklinickej validácie, čoho dôkazom je aj poskytnutie finančných prostriedkov pre kontinuitu projektu pod hlavičkou APVV-19-0070.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Projektové obdobie prinieslo viaceré štruktúrne varianty AS MOR4CML, ktoré úspešne prešli in vitro validáciou.

Prvým princípálnym výsledkom bolo potvrdenie ich exkluzívneho rozpoznávania BCR-ABL mRNA v prítomnosti homológnych BCR a ABL mRNA. Na tomto mieste je nutné podotknúť, že sú to práve neželané interakcie AS s homológnymi sekvenciami, ktoré bránia hladkej translácii AS do klinickej praxe. Tieto neželané interakcie sú v drvivej miere zodpovedné za vedľajšie účinky AS, nakoľko spôsobujú funkčné potlačenie mRNA mimo terapeutický zámer. Štruktúrny dizajn AS MOR4CML tento perzistentný problém efektívne rieši, čo dáva základný predpoklad pre pôsobenie exkluzívne v bunkách obsahujúcich cieľovú mRNA.

Druhým kľúčovým výsledkom bola absolútne spontánna bunková internalizácia, ktorá dosahovala hodnôt až 140 miliónov molekúl AS na bunku, čo je ~1000-násobne viac ako pri súčasne používaných štandardných ON. Štruktúrny dizajn AS MOR4CML tak efektívne rieši i ďalší pálčivý problém AS, a síce ich nedostatočnú bunkovú internalizáciu.

Tretím zásadným výsledkom bolo potvrdenie inhibície translácie BCR-ABL mRNA. AS MOR4CML tak efektívne potlačil vznik kauzálneho BCR-ABL onkoproteínu, s dosiahnutím jeho 100% redukcie v horizonte 4-5 dní od administrácie.

Najpodstatnejším výsledkom však bolo potvrdenie očakávaní o selektívnej indukcii biologického efektu výlučne v BCR-ABL pozitívnych bunkách. AS MOR4CML totiž exkluzívnym spôsobom indukoval bunkovú smrť u >97% BCR-ABL pozitívnych buniek, zatiaľ čo BCR-ABL negatívne bunky zostali živé vo viac ako 94%. V priamej korelácii s redukciou BCR-ABL onkoproteínu tak bola pozorovaná selektívne indukovaná smrť výlučne CML buniek.

V sumáre tak možno zhodnotiť, že všetky plánované Fázy projektu ako aj hlavný cieľ projektu boli úspešne zvládnuté a zrealizované v plnej miere.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The project period brought several structural variants of AS MOR4CML, which successfully passed in vitro validation.

The confirmation of exclusive recognition of BCR-ABL mRNA in the presence of homologous BCR and ABL mRNAs is considered as the first principal result. At this point, it should be noted that it is the undesirable interactions of AS with homologous sequences that prevent smooth translation of AS into clinical practice. These unwanted interactions are

responsible for the side effects of AS, as they cause functional suppression of mRNAs outside of the therapeutic intent. The structural design of AS MOR4CML effectively solves this persistent problem, which provides a basic prerequisite for acting without side effects.

The second key result was absolutely spontaneous cell internalization, which reached values of up to 140 million AS molecules per cell, which is 1000-fold more than the currently used standard ONs. The structural design of AS MOR4CML thus effectively solves another major problem of AS, namely their insufficient cellular internalization.

The third principal result was the successful inhibition of BCR-ABL mRNA translation. AS MOR4CML effectively suppressed the formation of causal BCR-ABL oncoprotein, achieving a remarkable 100% reduction of BCR-ABL levels within 4-5 days of administration.

Finally, the most significant result was the selective induction of a biological effect exclusively in BCR-ABL positive cells. Indeed, AS MOR4CML exclusively induced cell death in > 97% of BCR-ABL positive cells, while BCR-ABL negative cells maintained viability in more than 94%. Thus, in direct correlation with the reduction of BCR-ABL oncoprotein levels, AS MOR4CML selectively induced death of CML cells only (no toxicity observed).

In the summary, all the planned individual Phases of the project as well as the ultimate goal of the project were successfully achieved and fully implemented.