

# HEAL ITALIA

HEALTH EXTENDED ALLIANCE FOR INNOVATIVE THERAPIES, ADVANCED LAB-RESEARCH, AND INTEGRATED APPROACHES OF PRECISION  
MEDICINE (PE\_00000019)

## BANDO A CASCATA

### SPOKE N.5 "NEXT-GEN THERAPEUTICS"

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

**AVVISO PUBBLICO PER LA SELEZIONE DI PROPOSTE PROGETTUALI DA FINANZIARE SUL TERRITORIO NAZIONALE CON PREVALENZA DI RICADUTE NELLE REGIONI DEL MEZZOGIORNO PER IL RAFFORZAMENTO DELLA FILIERA DI MEDICINA DI PRECISIONE NELL'AMBITO DEL PROGRAMMA DI RICERCA DEL PARTENARIATO ESTESO "HEAL ITALIA – HEALTH EXTENDED ALLIANCE FOR INNOVATIVE THERAPIES, ADVANCED LAB-RESEARCH, AND INTEGRATED APPROACHES OF PRECISION MEDICINE" – PE\_00000019 A VALERE SULLE RISORSE DEL PIANO NAZIONALE DI RIPRESA E RESILIENZA (PNRR), MISSIONE 4 "ISTRUZIONE E RICERCA" – COMPONENTE 2 "DALLA RICERCA ALL'IMPRESA" – INVESTIMENTO 1.3, FINANZIATO DALL'UNIONE EUROPEA – NEXTGENERATION EU – A VALERE SULL'AVVISO PUBBLICO DEL MINISTERO DELL'UNIVERSITÀ E DELLA RICERCA N. 341 DEL 15.03.2022 (CUP SPOKE LEADER: UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA – CUP H43C22000830006)**

Modello di bando a cascata approvato con Deliberazione n. 642/2023 del Consiglio di Amministrazione dell'Università di Milano-Bicocca nella seduta del 24/10/2023



**“From silico to bedside” design and validation of innovative tailored and personalized therapeutic strategies**

<p><b>Contesto</b></p>	<p>(ITA) I costi e il tempo necessari per identificare nuovi composti guida e portarli alla fase di nuovo farmaco sperimentale rappresentano uno dei fattori limitanti nell’area dello sviluppo di nuove terapie. Un elemento di ostacolo che deve essere affrontato per accelerare il processo e definire obiettivi terapeutici convincenti è l’identificazione di sistemi di screening preclinico ad alto rendimento, che consentano di testare l’efficacia dei farmaci con elevata riproducibilità e prevedibilità. Ciò può essere ottenuto solo attraverso l’uso di modelli umani in vitro all’avanguardia, sui quali è possibile confrontare gli effetti dei composti. È fondamentale istituire sistemi che verifichino in modo efficiente la specificità dei farmaci in vista di approcci di medicina personalizzata. Pertanto, il modello dovrà imitare la malattia originale in modo estremamente accurato, dovrebbe rimanere stabile e riproducibile nel comportamento nel tempo, anche dopo che siano state introdotte modifiche genetiche per sviluppare test specifici o personalizzati.</p> <p>(EN) The costs and time needed to identify new lead compounds and taking them to the Investigational New Drug phase level is one of the limiting factors in the area of new therapeutics development. A bottle-neck element that needs to be addressed to accelerate the process and define cogent therapeutic targets is the identification of high-throughput pre-clinical screening systems, allowing to test drug efficacy with high reproducibility and predictability. This can be achieved only through the use of state-of-the-art human in vitro models, upon which compounds’ effects can be compared. It is crucial to establish systems which efficiently verify drug specificity in view of personalized medicine approaches. Therefore, the model shall mimic the original disease in an extremely accurate way, should remain stable and reproducible in the behavior over time, also after genetic modifications are introduced to develop specific or customized assays</p>
<p><b>Finalità dello Spoke</b></p>	<p>(ITA) Questo Spoke mira a sviluppare piattaforme innovative e complete di screening e validazione dei farmaci che consentano di superare i limiti dei sistemi attualmente disponibili e accelerare l'identificazione di farmaci di nuova generazione efficaci nel campo della medicina di precisione per oncologia, cardiologia, malattie rare, alterazioni del microbiota ecc. Le piattaforme di questo tipo si basano sulla definizione e implementazione di un flusso di lavoro composto da una serie di saggi intrecciati in silico, in vitro e in vivo, provvisoriamente raggruppati in fasi successive di selezione, progressivamente più raffinate e specifiche. Un elemento altamente qualificante dell’approccio di Spoke è l’utilizzo di modelli umani in vitro unici, screening ad alto rendimento, nanotecnologie e modelli animali disponibili grazie alle competenze raccolte nell’attuale rete. Lo Spoke è concepito per raggiungere i seguenti obiettivi: i) validare nuovi bersagli ed effettori terapeutici; ii) valutare l'efficacia in vitro delle librerie di composti; iii) determinazione dei bersagli cellulari e molecolari su cui agiscono i farmaci candidati; iv) validazione dei farmaci candidati; v) definire i principali meccanismi d'azione che sono alla base dell'efficacia terapeutica del farmaco; vi) completare l'analisi dei loro effetti in contesti preclinici con una precisione senza precedenti.</p> <p>(EN) This Spoke aims at developing innovative and comprehensive drug-screening and validation platforms allowing to overcome the limits of currently available systems and accelerate the identification of next-generation effective drugs in the field of precision medicine for oncology, cardiology, rare diseases, microbiota alterations etc. Platforms of this Spoke are based upon the definition and implementation of a workflow composed by a series of intertwined in silico, in vitro</p>

and in vivo assays, tentatively grouped into successive stages of selection, progressively more refined and specific. A highly qualifying element of the Spoke's approach is the use of unique human in vitro models, high throughput screenings, nanotechnologies and animal models available thanks to the expertise gathered together in the present network. The Spoke is conceived in order to achieve the following: i) validating new targets and therapeutic effectors; ii) assessing the *in vitro* efficacy of compounds libraries; iii) determining the cellular and molecular targets on which the candidate drugs act; iv) validating candidate drugs; v) defining the key mechanisms of action that underlie the therapeutic efficacy of the drug; vi) completing the analysis of their effects in pre-clinical settings with unprecedented accuracy.

**Tematica A: Metodi innovativi per la modulazione del sistema immunitario a fini terapeutici.**

***Subject A: Innovative methods for modulating the immune system for therapeutic purposes***

**Sottotematica A1. Nuove strategie nanotecnologiche per la generazione di effettori immunitari con CAR modificato.** Lo scopo di questa call è lo sviluppo di nuove tecnologie per l'induzione efficace di effettori immunitari con CAR modificato che siano persistenti e sicuri. La collaborazione con partner industriali è favorita per aumentare la TRL

Le cellule T con recettore dell'antigene chimerico (CAR) sono un esempio di immunoterapia personalizzata: cellule T esprimenti un CAR ingegnerizzato possono indurre l'uccisione delle cellule tumorali mediante il riconoscimento dell'antigene. Sebbene ciò abbia successo in ematologia, nel caso dei tumori solidi è necessario superare diversi limiti per trasferire in modo solido le CAR-T, come per esempio le gravi reazioni avverse, la non chiara sicurezza a lungo termine, i costi elevati, le fasi di produzione lunghe e macchinose, la percentuale (fino al 15%) di fallimento nel processo di produzione e la biodisponibilità in aree specifiche, come il cervello. Pertanto, le tecnologie CAR-T dovrebbero essere rimodellate, sfruttando le nuove strategie derivate dalle nuove tecnologie - inclusa la nanotecnologia che combina nuovi materiali bioingegnerizzati - modificando le cellule effettrici ex vivo o in vitro.

Il vantaggio di produrre matrici biomimetiche (ovvero nanoliposomi) caricate con molecole o proteine bioattive sono le formulazioni farmaceutiche più promettenti per la nanomedicina. In effetti, queste innovative strutture supramolecolari possono essere altamente versatili e consentirebbero il rilascio di biomolecole naturali/sintetiche evitando la specificità del paziente. Pertanto, l'uso di nanovettori per il rilascio efficace di CAR ricombinanti mediante nanoliposomi sintetici è un potenziale modo per sviluppare farmaci innovativi estremamente efficaci per la terapia del cancro.

Idealmente, le proposte dovrebbero essere dirette allo sviluppo di terapie farmacologiche antitumorali innovative basate sull'uso di nanovettori per il rilascio efficace di CAR ricombinanti.

Questo bando è aperto a centri con livelli di preparazione tecnologica (TRL) significativi per applicare la tecnologia richiesta in una varietà di cellule effettrici sviluppate nell'ambito dello Spoke 5. Si dovrà prestare attenzione all'efficacia, alla

persistenza e alla sicurezza dell'induzione del CAR. Per incrementare TRL è favorita la collaborazione con partner industriali

**Sub-theme A1. Novel nanotechnology strategies to generate CAR-modified immune effectors.** *The aim of the call is the development of novel technologies to effectively induce persistent and safe CAR-modified immune effectors. Collaboration with industrial partners is favored to increase the TRL.*

Chimeric antigen receptor (CAR)-T cells are an example of personalized immunotherapy: a CAR engineered into T cells directs cancer cell killing by antigen recognition. While this is successful in hematology, in the case of solid tumors, several limitations need to be overcome to solidly transfer CAR-T such as the severe adverse reactions, the unclear long-term safety, the high cost, the lengthy and cumbersome manufacturing steps, the percentage (up to 15%) of failure in the manufacturing process and the bioavailability in specific areas, such as brain. Therefore, CAR-T technologies should be reshaped, taking advantage of novel strategies derived from new technologies - including nanotechnology combining novel bioengineered materials - modify effector cells to ex-vivo or in vitro.

The advantage of producing biomimetic matrices (i.e nanoliposomes) loaded with bioactive molecules or proteins are the most promising pharmaceutical formulations for the nanomedicine. Indeed, these innovative supramolecular structures can be highly versatile and would allow the delivery the natural/synthetic biomolecules avoiding patient-specificity. Thus, the use of nanocarriers for the successful delivery of recombinant CAR by mean of synthetic nanoliposomes is a potential way to develop innovative drugs extremely effective for cancer therapy.

Ideally, proposals should be directed to develop innovative anti-cancer drugs therapies based on the use of nanocarriers for the successful delivery of recombinant CAR.

This call is open for centers having significant Technology Readiness Levels (TRL) to apply the required technology into a variety of effector cells developed within Spoke 5. Attention shall be given to the efficacy, the persistence, and the safety of the CAR induction. Collaboration with industrial partners is favored to increase TRL.

**Sottotematica A2. Sviluppo di nuovi prodotti probiotici con l'obiettivo di stimolare il sistema immunitario e aumentare l'efficacia delle vaccinazioni.** Lo scopo del bando è lo sviluppo di modelli in vivo per testare l'efficacia delle combinazioni probiotiche nelle seguenti condizioni: 1) Risposta immunitaria alle comuni infezioni respiratorie; 2) Risposta immunitaria nelle vaccinazioni di adulti e bambini; 3) Immunosenescenza

Il focus di questo argomento di ricerca è identificare e valutare l'efficacia di diversi preparati probiotici e nutraceutici nell'attivare il sistema immunitario e nel migliorare la risposta alle vaccinazioni.

A tal fine, è necessario lo sviluppo di modelli in vivo per testare l'efficacia delle combinazioni probiotiche nelle seguenti condizioni: 1) Risposta immunitaria alle

comuni infezioni respiratorie; 2) Risposta immunitaria nelle vaccinazioni di adulti e bambini; 3) Immunosenescenza

Idealmente, le proposte dovrebbero concentrarsi su:

- 1) Sviluppo e applicazione di soluzioni tecnologiche relative a combinazioni di probiotici e micronutrienti per la prevenzione delle infezioni delle vie respiratorie nei bambini e negli adulti
- 2) Sviluppo e applicazione di soluzioni tecnologiche relative a combinazioni di probiotici e micronutrienti volte a migliorare l'efficacia delle vaccinazioni negli adulti e nei bambini, con particolare interesse per la vaccinazione antinfluenzale
- 3) Sviluppo e applicazione di soluzioni tecnologiche relative a combinazioni di probiotici e micronutrienti volte a ridurre l'effetto di immunosenescenza negli anziani e molto anziani.

***Sub-theme A2. Development of new probiotic products with the aim of stimulating the immune system and increasing the effectiveness of vaccinations. The aim of the call is the development of in vivo models to test the effectiveness of probiotic combinations in the following conditions: 1) Immune response to common respiratory infections; 2) Immune response in adult and child vaccinations; 3) Immunosenescence***

The focus of this Research Topic is to identify and evaluate the effectiveness of different probiotic and nutraceutical preparations in activating the immune system and improving the response to vaccinations.

To this end, the development of in vivo models is required to test the effectiveness of probiotic combinations in the following conditions: 1) Immune response to common respiratory infections; 2) Immune response in adult and child vaccinations; 3) Immunosenescence

Ideally, proposals should focus on:

- 1) Development and application of technological solutions relating to combinations of probiotics and micronutrients for the prevention of respiratory tract infections in children and adults
- 2) Development and application of technological solutions relating to combinations of probiotics and micronutrients aimed at improving the effectiveness of vaccinations in adults and children, with particular interest in anti-flu vaccination
- 3) Development and application of technological solutions relating to combinations of probiotics and micronutrients aimed at reducing the effect of immunosenescence in the elderly and very elderly.

**Tematica B: Metodi innovativi per lo sviluppo di nuovi farmaci per la medicina di precisione.**

***Subject B: Innovative methods for the development of new drugs for precision medicine***

**Sottotematica B1. Aptameri come strumenti innovativi per la medicina di precisione nel trattamento di malattie cardiovascolari, neurodegenerative, oncologiche ed altre patologie.** Lo scopo di questa call è lo sviluppo, l'applicazione e la validazione come proof-of-concept di nuovi aptameri che possano essere impiegati nella medicina di precisione per un ampio campo di patologie come – ma non limitato a – i tumori, le malattie neurodegenerative, le patologie cardiovascolari

Gli aptameri sono oligonucleotidi di RNA o DNA a filamento singolo di lunghezza compresa fra 15 e 60 nucleotidi che possono legarsi con un'affinità molto elevata alle proteine e a una varietà di bersagli, comprese le cellule intatte. Rispetto agli anticorpi, gli aptameri vengono completamente generati in vitro tramite un processo di selezione, denominato SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment). Rispetto agli anticorpi, il loro sviluppo è più economico e veloce e possono essere facilmente risintetizzati e modificati chimicamente, con coerenza da lotto a lotto e biocompatibilità soddisfacente. Inoltre, possono essere coniugati e, in seguito alla loro combinazione con nanomateriali all'avanguardia, è stato possibile sviluppare la teranostica basata sugli aptameri. Pertanto, gli aptameri possono essere utilizzati come strumenti molecolari innovativi sia per una diagnosi accurata che per un trattamento di precisione. Sono infatti già stati condotti oltre 40 studi clinici con aptameri, evidenziandone l'enorme potenziale nella pratica clinica.

In questa call, i proponenti sono tenuti a sviluppare, applicare e convalidare come prova di concetto nuovi aptameri da utilizzare per la medicina di precisione applicata a un'ampia gamma di malattie come, ma non limitate a, cancro, malattie neurodegenerative e patologie cardiovascolari.

Idealmente, le proposte dovrebbero essere indirizzate a:

- 1) identificare, isolare, caratterizzare e validare nuovi aptameri che si legano specificamente a bersagli utilizzabili già noti, per scopi diagnostici o terapeutici o entrambi
- 2) caratterizzare e validare aptameri già isolati per scopi diagnostici o terapeutici o entrambi
- 3) modificare aptameri già caratterizzati per migliorarne l'uso come strumento teranostico.

***Sub-theme B1. Nucleic acid aptamers as innovative molecular tools for accurate diagnostics and precision treatment of major diseases.*** The aim of the call is the development, the application, and the validations as proo-of-concept of new aptamers to be used for precision medicine in a wide range of diseases such as - but not limited to - cancer, neurodegenerative disorders, cardiovascular pathologies.

Aptamers are single-stranded DNA or RNA oligonucleotides composed of DNA or RNA, with a length of 15-60 nucleotides and can bind with a very high affinity to proteins and a variety of targets including intact cells. Compared to antibodies, aptamers are completely generated in vitro via a selection process, termed SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment). Compared to antibodies, their development is cheaper and faster and they can be easily resynthesized and chemically modified, with batch-to-batch consistency, and satisfying biocompatibility. In addition, they can be conjugated and, combined with the cutting-edge nanomaterials, aptamer-based theranostics has been developed. Thus, aptamers may be used as innovative molecular tools for both accurate

diagnostics and precision treatment. In fact, over 40 clinical trials with aptamers have already been conducted, highlighting their enormous potential in clinical practice.

In this call for proposals, the applicants are required to develop, apply, and validate as proof-of-concept new aptamers to be used for precision medicine applied to a wide range of diseases such as - but not limited to - cancer, neurodegenerative disorders, cardiovascular pathologies.

Ideally, proposals should be directed to:

- 1) screen, isolate, characterize and validate new aptamers specifically binding to already known actionable targets, for either diagnostic or therapeutic purposes or both
- 2) characterize and validate already isolated aptamers for either diagnostic or therapeutic purposes or both
- 3) modify already characterized aptamers to improve their use as theranostic tool

**Sottotematica B2. Approcci di intelligenza artificiale per sviluppare farmaci attivi sulle interazioni tra proteine.** Lo scopo di questa call è lo sviluppo, l'applicazione e la validazione come proof-of-concept di nuove metodologie per modellare grandi e significative interazioni fra proteine, predire possibili punti di interazione e disegnare nuove entità che possano fungere da farmaci che interferiscano con tali interazioni, il tutto sviluppato mediante l'aumento del potere computazionale ed i modelli di AI.

Le interazioni proteina-proteina (PPI) sono ormai bersagli farmacologici importanti nello sviluppo di nuove terapie, grazie al loro ruolo chiave nel determinare i percorsi patologici. Le PPI, pur essendo rilevanti per un gran numero di malattie, sono tuttavia estremamente difficili da individuare con gli approcci classici di progettazione e scoperta dei farmaci.

L'attuale esplosione della potenza di calcolo e l'avvento di approcci sempre più potenti all'intelligenza artificiale (AI) hanno il potenziale per trasformare la scoperta di farmaci per il targeting dei PPI.

In questa call, i proponenti sono tenuti a sviluppare, applicare e convalidare come proof-of-concept nuovi metodi che sfruttano l'aumento della potenza di calcolo e modelli di AI per modellare complessi PPI grandi e significativi, per prevedere possibili punti di interazione nonché progettare nuove entità come possibili farmaci mirati ai PPI.

Idealmente, le proposte dovrebbero riguardare punti specifici come:

- 1) l'integrazione di metodi classici basati sulla struttura con l'AI per prevedere strutture, progettare e ottimizzare ligandi costituiti da piccole molecole e miniproteine per interagire con bersagli specifici normalmente coinvolti nella formazione di grandi complessi funzionali. In applicazioni specifiche, ad es. nel cancro, questo può essere utilizzato per facilitare l'identificazione e la profilazione molecolare delle cellule tumorali specifiche del paziente e quindi la progettazione di

molecole che possano legarsi selettivamente e distruggere quelle cellule lasciando illese le cellule sane.

2) L'identificazione e la modellazione di proteine specifiche coinvolte nelle reti correlate alla malattia con firme specifiche nelle cellule tumorali ma non nelle cellule sane, come base per modelli automatizzati per fornire nuove piccole molecole che garantiscano specificamente l'interazione con un complesso multiproteico, migliorando specificità ed efficacia

**Sub-theme B2. Artificial Intelligence approaches for discovery of drugs targeting protein-protein interactions (PPIs).** *By using the increase in computing power and AI models the aim of the call is the development, the application, and the validation as PoC of new methods for modeling large, significant PPI assemblies and for predicting possible interaction points as well as designing new entities as possible PPI targeting drugs.*

Protein-Protein Interactions (PPIs) are now established significant pharmacological targets in the development of new therapeutics, due to their key roles in determining pathological pathways. PPIs, while relevant for a large number of diseases, are however extremely challenging to target with classical drug design and discovery approaches.

The current explosion in computing power and the advent of increasingly potent Artificial Intelligence (AI) approaches have the potential to transform drug discovery for PPI targeting.

In this call for proposals, the applicants are required to develop, apply, and validate as proof-of-concept new methods that take advantage of the increase in computing power for modeling large, significant PPI assemblies, with AI models for predicting possible interaction points as well as design new entities as possible PPI targeting drugs.

Ideally, proposals should target specific points such as:

- 1) the integration of classical structure-based methods with AI to predict structures, design and optimize small molecule ligands and miniproteins as binders of specific targets normally involved in the formation of large functional assemblies. In specific applications, e.g. in cancer, this can be used to facilitate the identification and molecular profiling of patient-specific cancer cells and then the design of molecules that can selectively bind to and destroy those cells while leaving healthy cells unharmed.
- 2) The identification and modeling of specific proteins involved in disease-related networks with specific signatures in cancer cells but not on healthy cells, as the basis for automated models to deliver new small molecules that specifically ensure engagement in a multi-protein complex, improving specificity and efficacy.

**Sottotematica B3. Caratterizzazione biologica e farmacologica di candidati farmaci contro le tauopatie.** Lo scopo del bando è lo sviluppo, la validazione e l'applicazione di modelli in vitro e in vivo per caratterizzare il profilo biologico e farmacologico di piccole molecole in grado di modulare l'aggregazione e la fosforilazione della tau



La Tau è una proteina altamente solubile localizzata principalmente a livello citoplasmatico nelle cellule neuronali e svolge un ruolo cruciale nella regolazione della dinamica dei microtubuli. Studi recenti hanno dimostrato che diversi fattori, come l'aggregazione patologica della tau, l'iperfosforilazione o le alterazioni del metabolismo della tau, possono contribuire all'accumulo patologico di aggregati proteici, e ciò può provocare la morte neuronale e l'insorgenza di numerosi disturbi neurologici, tra cui il morbo di Alzheimer quello con l'impatto più devastante. Studi recenti hanno rivelato che il deterioramento cognitivo è maggiormente correlato con la presenza di tau patologica e la perdita neuronale che con la presenza di amiloide- $\beta$  patologica. Ciò suggerisce che i farmaci mirati alla tau potrebbero rappresentare una promettente terapia modificante la malattia.

In questa call i proponenti sono tenuti a sviluppare, validare e applicare modelli in vitro e in vivo al fine di caratterizzare il profilo biologico e farmacologico di candidati farmaci costituiti da piccole molecole in grado di modulare l'aggregazione e la fosforilazione della tau. Si prevede che i dati generati forniranno una solida base per lo sviluppo di opzioni terapeutiche basate sull'intervento sui meccanismi alterati e di medicina di precisione, che dovranno poi essere testate su modelli animali appropriati.

**Sub-Theme B3. Biological and pharmacological characterization of drug candidates against tauopathies.** The aim of the call is the development, the validation and the application of in vitro and in vivo models in order to characterize the biological and pharmacological profile of small molecule drug candidates able to modulate tau aggregation and phosphorylation

Tau is a highly soluble protein mainly localized at a cytoplasmic level in the neuronal cells and plays a crucial role in the regulation of microtubule dynamics. Recent studies have demonstrated that several factors, such as pathological tau aggregation, hyperphosphorylation or alterations of tau metabolism, may contribute to the pathological accumulation of protein aggregates, which can result in neuronal death and the onset of a number of neurological disorders, Alzheimer's disease being the one with the most devastating impact. Recent studies revealed that cognitive impairment correlate better with tau pathology and neuronal loss than with pathologic amyloid  $\beta$ . This suggests that tau-targeted drugs may be a promising disease-modifying therapy.

In this call for proposals, applicants are required to develop, validate and apply in vitro and in vivo models in order to characterize the biological and pharmacological profile of small molecule drug candidates able to modulate tau aggregation and phosphorylation. The generated data are expected to provide a solid foundation for the development of mechanism-based and precision medicine treatment options, which would then need to be tested in appropriate animal models.

**Tematica C: Sviluppo di nuove biotecnologie per applicazioni biomediche.**

**Subject C: Development of new biotechnologies for biomedical applications**

**Sottotematica C1. Ricerca di vettori "GMP-ready" per la modificazione di geni cellulari.** Lo scopo di questa call è la ricerca di fornitori accademici/farmaceutici che siano in grado di customizzare e produrre vettori virali che possano essere "GMP-

ready" (research grade può essere sufficiente) in modo da facilitare la transizione dalla ricerca accademica alle prime fasi manifatturiere

La maggior parte degli sviluppi preclinici nella terapia genica prevedono vettori virali generalmente sviluppati in ambiente accademico. Tuttavia, esiste la necessità di disporre, fin dalle prime fasi della ricerca traslazionale, di vettori di qualità paragonabili a quelli potenzialmente utilizzabili in clinica. In generale, i fornitori di vettori possono generare vettori "research grade", vettori di livello tecnico e vettori di livello GMP (buone pratiche di fabbricazione).

Per questo motivo, questo invito aperto è alla ricerca di fornitori accademici/farmaceutici in grado di personalizzare e produrre vettori virali che possano essere pronti per GMP (research grade può essere sufficiente) per facilitare la transizione dalla ricerca accademica alla produzione iniziale.

Idealmente, le proposte dovrebbero concentrarsi su:

- 1) lo sviluppo di cassette di espressione, promotori, eventuali inserti bicistronici codificanti per payload e geni suicidi, se applicabile.
- 2) Produzione di plasmidi (espressione, helper) e sviluppo di linee cellulari produttrici stabili. I vettori lentivirali sono preferiti, tuttavia possono essere accettate altre strategie di modificazione efficienti e pronte per GMP. Per incrementare il TRL è favorita la collaborazione con partner industriali.

**Sub-Theme C1: Scouting for GMP-ready vectors for cell gene modification.** *The aim of the call is to look for academic/pharma providers able to customize and produce viral vector that may be GMP-ready (research grade may suffice) to facilitate the transition from academic research to an early manufacturing.*

Most of the pre-clinical developments in gene therapy foresee viral vector generally developed in an academic environment. However, there is the need to have, since the early phase of translational research, vectors of quality that may be comparable to the ones that may be potentially used in the clinic. Generally, vector providers can generate research batch vector, technical grade vectors and Good Manufacturing Practice (GMP) grade vectors.

For this reason, this open call is looking for academic/pharma providers able to customize and produce viral vector that may be GMP-ready (research grade may suffice) to facilitate the transition from academic research to an early manufacturing.

Ideally, proposals should focus on:

- 1) the development of expression cassettes, promoters, possible bicistronic insert/s encoding for payload and suicide genes, if applicable.
- 2) The manufacturing of plasmids (expression, helpers) and development of stable producer cell lines. Lentiviral vectors are favoured, however other GMP-ready efficient modification strategy may be accepted. Collaboration with industrial partners is favored to increase the TRL.

**Sottotematica C2. Produzione biotecnologica di c-di-AMP.** Al fine di rendere possibile la produzione industriale di c-di-AMP lo scopo di questa call è lo sviluppo di processi biotecnologici per la produzione di c-di-AMP mediante fermentazione o biocatalisi e di processi a valle per il recupero e la purificazione del c-di-AMP così prodotto

La di-adenosina monofosfato ciclico (c-di-AMP) è un secondo messaggero ampiamente utilizzato nella trasduzione del segnale nei procarioti, dove viene sintetizzato da due molecole di ATP mediante l'enzima diadenilato ciclasi e viene degradato a 5'-fosfoadenilil-3'-5'-adenosina o due molecole di AMP mediante fosfodiesterasi specifiche di c-di-AMP. c-di-AMP svolge un ruolo importante nella regolazione delle attività fisiologiche batteriche, come il ciclo cellulare, la stabilità della parete cellulare, la risposta allo stress ambientale e la formazione di biofilm. Il c-di-AMP batterico può essere riconosciuto dalle cellule ospiti per attivare le risposte immunitarie e promuovere l'immunogenicità inducendo un ambiente pro-infiammatorio che favorisce il reclutamento locale e la successiva attivazione delle cellule presentanti l'antigene. c-di-AMP è un agonista di STING che promuove l'espressione del TNF, induce la risposta dell'interferone di tipo I, attiva la via di NFkappa-B, l'infiammasoma, l'autofagia dell'ospite e innesca la risposta immunitaria della mucosa. Tutti i processi immunitari attivati da c-di-AMP permettono una rapida eliminazione degli agenti patogeni e per questo motivo è stato proposto come potenziale immunomodulatore. Infatti, c-di-AMP è stato identificato come mediatore della diversa risposta associata al microbioma nell'immunoterapia ed è stato ampiamente studiato come adiuvante immunitario per l'immunoterapia tumorale.

La sintesi biotecnologica del c-di-AMP è vantaggiosa rispetto alla sintesi chimica, tuttavia ad oggi non esiste un bioprocesso disponibile per la produzione di c-di-AMP su una scala di preparazione superiore a un grammo. È urgentemente necessaria una preparazione efficiente su larga scala di c-di-AMP per valutarne il potenziale medico e farmacologico.

Idealmente, le proposte dovrebbero concentrarsi su:

- 1) Lo sviluppo di processi biotecnologici per produrre c-di-AMP mediante fermentazione o biocatalisi che possano essere applicati su una scala di produzione sufficiente per lo studio e le potenziali applicazioni.
- 2) Lo sviluppo del trattamento a valle per il recupero e la purificazione del c-di-AMP al fine di rendere fattibile la produzione industriale di c-di-AMP.

**Sub-Theme C2: Biotechnological production of c-di-AMP.** In order to make industrial production of c-di-AMP feasible the aim of the call is the development of biotechnological process(es) to produce c-di-AMP by fermentation or by biocatalysis and the development of downstream processing for the recovery and purification of c-di-AMP

Cyclic di-adenosine monophosphate (c-di-AMP) is a second messenger largely used in signal transduction in prokaryotes, where it is synthesized from two molecules of ATP by the enzyme diadenylate cyclases and is degraded to 5'-phosphoadenylyl-3'-5'-adenosine or two molecules of AMP by c-di-AMP-specific phosphodiesterases. c-di-AMP plays an important role in the regulation of bacterial physiological activities, such as the cell cycle, cell wall stability, environmental stress response, and biofilm formation. Bacterial c-di-AMP can be recognized by host cells to activate immune responses and to promote immunogenicity by inducing a proinflammatory

environment that fosters local recruitment and subsequent activation of antigen-presenting cells. c-di-AMP is a STING agonist that promotes the expression of TNF, induces type I interferon response, activates the nuclear factor kappa B pathway, the inflammasome, the host autophagy, and triggers mucosal immune response. All immune processes activated by c-di-AMP allow rapid elimination of pathogens and for this reason it has been proposed as a potential immunomodulator. In fact, c-di-AMP has been identified as a mediator of the diverse microbiome-associated response in immunotherapy and has been widely studied as an immune adjuvant for tumor immunotherapy.

The biotechnological synthesis of c-di-AMP is advantageous compared to chemical synthesis, however to date there is no bioprocess available for the production of c-di-AMP on a preparation scale greater than one gram. Efficient largescale preparation of c-di-AMP is urgently needed in order to assess its medical and pharmacologic potential.

Ideally, proposals should focus on:

- 1) The development of biotechnological process(es) to produce c-di-AMP by fermentation or by biocatalysis that can be applied on a production scale sufficient for study and potential applications.
- 2) The development of downstream processing for the recovery and purification of c-di-AMP in order to make industrial production of c-di-AMP feasible.

**Sottotematica C3. Generazione di dispositivi biomedici impiantabili per il monitoraggio degli ormoni circolanti.** Lo scopo del bando è lo sviluppo di sistemi di rilevamento "intelligenti" per gli ormoni circolanti che siano adatti a modelli preclinici costituiti da animali di piccola taglia e siano potenzialmente scalabili per l'uomo nonché la generazione di dispositivi biomedici impiantabili accoppiati a pompe osmotiche per monitorare e modulare simultaneamente specifici ormoni circolanti.

Il rilevamento in vivo degli ormoni circolanti ha importanti applicazioni nel campo della ricerca biomedica e della pratica clinica. I dispositivi di rilevamento avanzati possono fornire un mezzo diretto per monitorare i livelli ormonali all'interno dell'organismo vivente, consentendo una comprensione più profonda delle dinamiche ormonali e del loro impatto su vari processi fisiologici.

Monitorando le fluttuazioni ormonali, ricercatori e medici possono catturare la natura dinamica della secrezione ormonale e ottenere informazioni dettagliate sui loro modelli temporali e sulle risposte ai vari stimoli. In questo modo, i ricercatori possono studiare le variazioni naturali nella secrezione ormonale, nonché gli effetti di malattie, farmaci o fattori legati allo stile di vita sulla regolazione ormonale.

È importante sottolineare che lo sviluppo di dispositivi biomedici impiantabili rappresenta una grande promessa per la medicina personalizzata. Gli ormoni svolgono un ruolo cruciale nella regolazione di numerosi processi fisiologici, tra cui la rigenerazione degli organi, il metabolismo, la riproduzione e la crescita. Valutando accuratamente i livelli ormonali in tempo reale, i medici possono personalizzare i piani di trattamento per i singoli pazienti, ottimizzando gli interventi terapeutici e migliorando i risultati sanitari.

Nel complesso, la generazione di sistemi di rilevamento intelligenti per il monitoraggio degli ormoni circolanti rappresenta un progresso significativo nella nostra capacità di comprendere e manipolare la segnalazione ormonale negli organismi viventi. Fornendo un rilevamento accurato dei livelli ormonali, questi sistemi di rilevamento contribuiscono alla nostra comprensione delle dinamiche ormonali, consentono approcci medici personalizzati e hanno il potenziale per un'ampia gamma di applicazioni sia in ambito di ricerca che clinico.

Questa call è aperta alla ricerca di fornitori accademici/farmaceutici che idealmente dovrebbero concentrarsi su:

- 1) Sviluppare sistemi di rilevamento intelligenti per gli ormoni circolanti adatti a modelli preclinici di piccoli animali e che abbiano il potenziale per essere scalabili per gli esseri umani.
- 2) Generazione di dispositivi biomedicali impiantabili accoppiati a pompe osmotiche per monitorare e modulare contemporaneamente specifici ormoni circolanti.

**Sub-Theme C3. Generation of implantable biomedical devices for monitoring circulating hormones.** *The aim of the call is the development of intelligent sensing systems for circulating hormones that are suitable for small animal pre-clinical models and have the potential to be scalable to humans and the generation of implantable biomedical devices coupled with osmotic pumps to simultaneously monitor and modulate specific circulating hormones.*

In vivo detection of circulating hormones has important applications in the field of biomedical research and clinical practice. Advanced sensing devices may provide a direct means of monitoring hormone levels within the living organism, enabling a deeper understanding of hormonal dynamics and their impact on various physiological processes.

By monitoring hormone fluctuations, researchers and clinicians can capture the dynamic nature of hormone secretion and gain insights into their temporal patterns and responses to various stimuli. By doing so, researchers can investigate the natural variations in hormone secretion, as well as the effects of diseases, medications, or lifestyle factors on hormone regulation.

Importantly, the development of implantable biomedical devices holds great promise for personalized medicine. Hormones play a crucial role in regulating numerous physiological processes, including organ regeneration, metabolism, reproduction and growth. By accurately assessing hormone levels in real-time, clinicians can tailor treatment plans to individual patients, optimizing therapeutic interventions and improving health outcomes.

Overall, the generation of intelligent sensing systems for monitoring circulating hormones represents a significant advancement in our ability to understand and manipulate hormone signalling in living organisms. By providing accurate detection of hormone levels, these sensing systems contribute to our understanding of hormone dynamics, enable personalized medicine approaches, and hold potential for a wide range of applications in both research and clinical settings.

This open call is seeking academic/pharma providers that ideally should focus on:



	<p>1) Developing intelligent sensing systems for circulating hormones that are suitable for small animal pre-clinical models and have the potential to be scalable to humans.</p> <p>Generating implantable biomedical devices coupled with osmotic pumps to simultaneously monitor and modulate specific circulating hormones.</p>
--	---