

GENSKI ELEKTROPRENOS mRNA Z ZAPISOM ZA IL-12 V CELICAH MELANOMA IN KOLOREKTALNEGA KARCINOMA

Ajda Medved^{1,2}, Urša Lampreht Tratar^{1,3}, Matjaž Peterka⁵, Urban Bezeljak^{5,6}, Nastja Štemberger⁵, Tjaša Marušič^{5,7}, Maja Čemažar^{1,4}

¹ Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Ljubljana, Slovenija

² Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

³ Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, Slovenija

⁴ Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju, Izola, Slovenija

⁵ COBIK, Ajdovščina, Slovenija

⁶ Sferogen d.o.o., Ajdovščina, Slovenija

⁷ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Ljubljana, Slovenija

Elektronski naslov: amedved@onko-i.si

p21

Interlevkin 12 (IL-12) je močan imunostimulativni citokin z velikim potencialom za zdravljenje raka, saj modulira različne mehanizme, ki delujejo proti imunosupresivnemu tumorskem mikrookolju. Sistemska uporaba IL-12 je povezana s toksičnostjo, kar je preusmerilo predklinične raziskave v lokalne metode za dostavo terapije, kot je genski elektroprenos (GET).^{1,2} GET mRNA molekul predstavlja alternativo plazmidni DNA (pDNA), saj mRNA omogoča višje stopnje transfekcije, prav tako pa ne predstavlja tveganja za insercijsko mutagenozo, saj molekule za uspešen prepis v proteine, ne vstopajo v jedro. Stabilnost mRNA molekul in učinkovitost transfekcije je mogoče dodatno izboljšati s kemičnimi modifikacijami, med katere spada tudi t.i. Kapa (ang. Cap) na mRNA molekuli.

V naši raziskavi smo ocenili učinkovitost GET terapevtske mRNA z zapisom za IL-12 v celičnih linijah mišjega melanoma (B16F10) in karcinoma debelega črevesa (CT26). Uporabili smo dve različici IL-12 mRNA (mRIL12), ki se razlikujeta v modifikaciji Kape (Cap0 in Cap1), skupaj z nekodirajočo kontrolno mRNA (mRScramble Cap0 in mRScramble Cap1).

Viabilnost celic smo ocenili tri dni po GET, medtem ko smo izražanje proteina IL-12 merili v več časovnih točkah. Rezultati so pokazali, da je izražanje IL-12 doseglo najvišjo vrednost 24 ur po GET. V celicah B16F10 so bile koncentracije IL-12 po elektroprenosu mRNA Cap1 znatno višje v primerjavi s Cap0, kar je skladno z izboljšano stabilnostjo molekule mRNA Cap1 modifikacijo v citosolu. V celicah CT26 pa ni bila ugotovljena statistično značilna razlika med Cap0 in Cap1. Pomembno je, da je GET mRNA IL-12 zmanjšal viabilnost celic v primerjavi s kontrolnimi skupinami. Rezultati kažejo, da je terapevtsko mRNA z zapisom za IL-12 mogoče učinkovito dostaviti z GET, pri čemer modifikacije Cap vplivajo na viabilnost celic in izražanje proteina, ki se razlikuje med celičnimi linijami. Rezultati predstavljajo pomembno podlago za nadaljnje raziskave *in vivo* in optimizacijo imunoterapije raka na osnovi mRNA IL-12.

Literatura

1. Kos, Spela, et al. "Non-Clinical In Vitro Evaluation of Antibiotic Resistance Gene-Free Plasmids Encoding Human or Murine IL-12 Intended for First-in-Human Clinical Study." *Pharmaceutics* vol. 13,10 1739. 19 Oct. 2021,
2. Markelc, Bostjan et al. "Non-clinical evaluation of pmIL12 gene therapy for approval of the phase I clinical study." *Scientific reports* vol. 14,1 22288. 27 Sep. 2024.