



Appendice IV – Tematiche di ricerca e innovazione dello SPOKE 9 del Progetto National Center for Gene Therapy and Drugs based on RNA Technology

Bando pubblico per la selezione di progetti di ricerca fondamentale, ricerca industriale e sviluppo sperimentale da finanziare nell'ambito del PNRR, MISURA 4 - COMPONENTE 2 – INVESTIMENTO 1.4 – “Programma di Ricerca del Centro Nazionale Di Ricerca - Sviluppo di Terapia Genica e Farmaci con Tecnologia a Rna” CN00000041, SPOKE 9 “From target to therapy: pharmacology, safety and regulatory competence center”, CUP G43C22001320007, finanziato dall'Unione Europea – NextGenerationEU

Track A – Attività di Ricerca

Ambito n. 1 - *Ricerca sulle proprietà di crescita di sistemi cellulari in 3D per l'automazione, la miniaturizzazione e la standardizzazione del loro impiego nella ricerca e sviluppo di farmaci a RNA.*

I progetti presentati in questo ambito devono contribuire alla standardizzazione di modelli cellulari tridimensionali avanzati derivati da pazienti. Ciò deve essere realizzato attraverso la dimostrazione della riproducibilità dei protocolli di generazione, mantenimento e stoccaggio di tali modelli. Inoltre, la ricerca proposta deve includere l'obiettivo di automatizzare e miniaturizzare le procedure e i saggi eseguiti sui modelli 3D. Ciò sarà possibile grazie all'utilizzo di strumentazione avanzata, come bracci robotici, sensori delle condizioni di coltura, dispensatori automatici di liquidi, chip con microfluidica e stampanti 3D.

Ambito n. 2 - *Implementazione di un sistema informatico sperimentale per la gestione dell'ampia varietà di dati generati dallo Spoke 9 finalizzato allo sviluppo di strumenti di intelligenza artificiale e machine learning*

La varietà di dati (e metadati ad essi associati) prodotti dallo Spoke 9 derivati dai diversi modelli utilizzati (cellule, modelli animali, organoidi derivati di pazienti) e analizzati attraverso un'ampia varietà di tecnologie, comprendenti l'imaging e gli approcci “omici”, richiede una ricerca informatica finalizzata alla creazione di una piattaforma dati necessaria per sviluppare tecnologie di Intelligenza Artificiale e Machine Learning (AI/ML). Tale ricerca deve fornire soluzioni per il caricamento automatico dei dati, la strutturazione dei dataset nella piattaforma, la creazione di una interfaccia di accesso con funzioni di browsing e di ricerca dei dati e metadati e la loro estrazione tramite procedure automatiche sicure da parte dei gruppi di bioinformatica autorizzati al loro utilizzo. Saranno requisiti preferenziali (i) l'utilizzo di formati standard per tipi di input, gestione interna dei dati, e formati di output; (ii) abilitare soluzioni di Open Science, con particolare riferimento a semplificare un approccio FAIR per i dati che saranno resi condivisibili. Sarà infine favorito uno sviluppo con licenze open source e che permettano la integrazione futura della piattaforma con soluzioni della comunità scientifica. Prerequisito nel progettare tale piattaforma è l'esistenza dell'hardware fornito dall'Università degli Studi di Milano attraverso la piattaforma di servizi INDACO già presente e strutturata in Ateneo.

Ambito n. 3 – *Ricerca e messa a punto di strumenti di intelligenza artificiale per l'ottimizzazione dei farmaci a RNA*



I progetti presentati in questo ambito devono sviluppare strategie che permettano, sulla base dei dati generati con diverse tecnologie nell'ambito dello Spoke 9, l'implementazione e l'utilizzo di metodologie computazionali e di sistemi di intelligenza artificiale al fine di predire l'interazione dei farmaci a RNA con i loro target e i loro effetti sull'organismo in termini di efficacia e sicurezza. Le "pipeline" di analisi già sviluppate per identificare piccole molecole in grado di interferire con le attività enzimatiche o con le interazioni proteina-proteina non sono applicabili alle molecole a RNA che hanno caratteristiche chimico-fisiche e strutturali differenti. La richiesta è quindi di implementare le nuove "pipeline" di analisi che sfruttino strumenti computazionali per lo studio della struttura e della dinamica delle molecole di RNA integrate con algoritmi di intelligenza artificiale che permettano un'analisi rapida ed integrata delle loro capacità di legame alle molecole target e dei loro effetti terapeutici o indesiderati sull'organismo. I nodi di calcolo altamente performanti (CPU + GPU) e la disponibilità di spazi di archiviazione e recupero rapido dei dati necessari per lo svolgimento di questo progetto di ricerca verranno forniti dallo Spoke9.

Ambito n. 4 - Ricerca di nuove metodologie finalizzate al controllo di qualità e alla comparazione di prodotti nanoparticellari per fini regolatori

Il progetto di ricerca dovrà rendere disponibile un nuovo metodo per determinare il contenuto genetico in un elevato numero di nanoparticelle - potenzialmente tutte - tale da stabilirne una distribuzione statistica rappresentativa dell'intera popolazione.

Il metodo dovrà fornire informazioni utili a: i) supportare la convalida del processo di preparazione/produzione del medicinale; ii) fornire dati utili per supportare richieste di change manufacturing eventualmente necessarie durante la vita del prodotto; iii) determinare la riproducibilità dei lotti.

La validità del saggio dovrà essere dimostrata utilizzando come vettori non virali nanoparticelle lipidiche costituite da lipidi non ionizzabili o ionizzabili che sono le formulazioni attualmente più studiate e disponibili sul mercato. Altri vettori sintetici possono essere comunque presi in considerazione, come complessi interpolimerici costituiti da DNA/RNA e polimeri (ad esempio, cationici) per supportare la versatilità della metodica proposta. Il saggio potrà essere sviluppato utilizzando degli apparecchi già disponibili sul mercato, adattandoli alla specifica esigenza, o ancora proponendo delle nuove soluzioni. Infine, il saggio dovrà comprendere la parte di analisi dati, che sia il più possibile automatizzata. Si dovrà inoltre considerare il tempo necessario per l'esame di un campione, con l'intento finale di minimizzarlo.

Ambito n. 5 - Ricerca e messa a punto di modifiche nucleotidiche per la stabilizzazione metabolica e per il miglioramento funzionale di RNA terapeutici di sintesi chimica

La ricerca ha la finalità di definire una metodica basata sull'analisi bioinformatica strutturale e sulla chimica degli acidi nucleici, che permetta di progettare e sintetizzare modifiche nucleotidiche di diverse tipologie di acidi nucleici di sintesi chimica (aptameri, siRNA ecc). Nell'ambito progettuale, la metodica dovrà essere validata e applicata su specifici composti - discutendo con i ricercatori dello Spoke 9 – per ottenere caratteristiche farmacocinetiche, farmacodinamiche e tossicologiche più appropriate da valutare nella modellistica sviluppata dai gruppi di ricerca. Nella progettazione vanno indicate: il numero di progetti che si possono sostenere nell'arco temporale di 18 mesi, le tipologie



di modifiche nucleotidiche realizzabili e le quantità minime e massime di produzione, la tipologia di produzione (GLP, GLP-like o altre), le tipologie di purificazione e le caratteristiche analizzate nei controlli di qualità che dovranno essere supportati da un sistema di gestione della qualità delle molecole sviluppate.

Ambito n. 6 - Ricerca e messa a punto di modifiche nucleotidiche per la stabilizzazione metabolica e per il miglioramento funzionale di RNA terapeutici di sintesi biologica

La ricerca ha la finalità di definire una metodica basata sull'analisi bioinformatica strutturale e sulla sintesi biologica di mRNA, che permetta di progettare e sintetizzare modifiche nucleotidiche agli mRNA di sintesi biologica con la finalità di stabilizzare e aumentare la traduzione della proteina nelle cellule bersaglio. Nell'ambito progettuale, la metodica dovrà essere validata e applicata su specifici mRNA - discutendo con i ricercatori dello Spoke 9 – per ottenere le caratteristiche più appropriate che verranno valutate con la modellistica sviluppata dai gruppi di ricerca. Nella progettazione vanno indicate: il numero di progetti che si possono sostenere nell'arco temporale di 18 mesi, il razionale delle tipologie di modifiche nucleotidiche proposte e le quantità minime e massime di produzione, la tipologia di produzione (GLP, GLP-like o altre), le tipologie di purificazione e le caratteristiche analizzate nei controlli di qualità che dovranno essere supportati da un sistema di gestione della qualità delle molecole sviluppate.

Ambito n. 7 - Sviluppo di un sistema di validazione delle metodologie di ricerca e sviluppo del farmaco a RNA attraverso l'analisi integrata statistica di dati preclinici e clinici inclusi dati di 'omica

La ricerca proposta deve essere finalizzata alla definizione di un sistema di validazione delle metodologie di sviluppo del farmaco ad RNA basato sull'analisi statistica. Tale sistema deve integrare le diverse tipologie di dati raccolti all'interno dello Spoke 9 inclusi i dati di "omica", con lo scopo di identificare e validare biomarcatori di efficacia e sicurezza del farmaco a RNA, e di sostenere la robustezza metodologica dei saggi di efficacia e tossicità sviluppati dai gruppi di ricerca. I modelli e i metodi di analisi dati sviluppati dovranno contribuire a garantire l'accessibilità e la riutilizzabilità per scopi di ricerca e valutazione dell'efficacia e sicurezza dei farmaci a RNA, seguendo i principi FAIR (Findable - Accessible - Interoperable - Reusable) nell'ambito di un approccio di "Open Science". La strategia di analisi statistica dovrà anche consentire ai gruppi di ricerca di definire il dimensionamento dei campioni oggetto della sperimentazione e in generale il controllo della qualità dei dati prodotti. I proponenti potranno ricorrere all'utilizzo di metodologie computazionali, statistiche e di apprendimento automatico/intelligenza artificiale e a qualsiasi altra strategia che ritengano necessaria.

Ambito n.8 – Sperimentazione finalizzata alla certificazione riconosciuta dalle agenzie regolatorie di saggi di farmacocinetica, tossicità e biocompatibilità applicati ai farmaci a RNA e alla corretta conservazione e rivitalizzazione dei modelli utilizzati per tali saggi

Lo sviluppo di saggi che siano accettati dal sistema regolatorio è tra gli scopi perseguiti dallo SPOKE9. Il bando si rivolge a enti che abbiano la capacità di sviluppare processi finalizzati alla certificazione delle procedure sperimentali basate su modelli cellulari e animali, e alla loro corretta conservazione e rivitalizzazione per ripetuti utilizzi. Per la corretta conservazione la ricerca deve essere finalizzata



a dimostrare l'efficacia della metodica di stoccaggio utilizzata anche attraverso la dimostrazione del mantenimento delle proprietà originarie. La ricerca avrà come oggetto sistemi biochimici ricostituiti, cellule - sia cellule primarie che in 3D - e animali transgenici che dovranno essere conservati con modalità efficaci in modo da poterli rivitalizzare al bisogno. La proposta progettuale deve fornire indicazioni sul volume totale di stoccaggi che saranno consentiti per ogni tipologia di modello.

Track C – Clinical trial setup (RI e SS)

Ambito n. 1 – *Set up di uno studio clinico volto a determinare la farmacocinetica e la farmacodinamica di nanoparticelle autologhe (vescicole extracellulari) nei pazienti oncologici*

Il bando si rivolge a enti certificati che garantiscano un'attività che comprende la stesura dell'IMPD e dell'IB, il monitoraggio dell'andamento dello studio clinico monocentrico che si svolgerà presso la Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano, il controllo che la ricerca venga effettuata in osservanza del protocollo, delle Procedure Operative Standard, delle disposizioni normative applicabili e delle norme di Buona Pratica Clinica, e infine di supervisionare integrità, proprietà e, almeno in parte, l'analisi dei dati raccolti. Lo studio ha l'obiettivo di valutare farmacocinetica di una formulazione galenica composta dall'eccipiente costituito da vescicole extracellulari del paziente e la capacità delle stesse di veicolare un colorante fluorescente al tumore; lo studio si configura come monocentrico di fase 1/2.

Track D – Sviluppo di servizi innovativi collegati alle tecnologie di interesse del CN RNA & Gene Therapy e dello Spoke (RI e SS)

Ambito n. 1 - *Sviluppo, validazione e implementazione di una metodica di ricerca di interesse scientifico - regolatorio con modelli Delphi e SWOT Analysis*

Le proposte progettuali in questo ambito hanno l'obiettivo di promuovere l'innovazione regolatoria per accelerare lo sviluppo di terapie innovative, con una particolare enfasi sulle nanotecnologie e le ATMP. Questo obiettivo comporta anche la definizione di linee guida armonizzate in materia di classificazione e controllo qualità, ovvero la creazione di modelli predittivi farmaco-economici e di farmacoutilizzazione per facilitare la decisione sulla loro inclusione nella pratica clinica. A tal fine, il programma di ricerca dovrà prevedere fasi di ricerca bibliografica e raccolta dati, ovvero l'individuazione di esperti di fama nazionale ed internazionale nell'ambito della R&D, produzione, distribuzione, e dispensazione di medicinali a base di nanotecnologie, di prodotti caricati con RNA/DNA, ovvero di ATMP. I documenti di consensus dovranno essere predisposti a seguito del coinvolgimento dei suddetti esperti attraverso l'impiego di metodologia DELPHI. In parallelo, dovrà essere condotta un'analisi SWOT in collaborazione con i principali stakeholder per identificare i punti di forza e le debolezze interni, nonché le opportunità e le minacce esterne nel contesto regolatorio delle ATMP. Il progetto deve prevedere il coinvolgimento di stakeholder politici e sanitari per garantire una valutazione completa dei fattori influenti. I risultati di questa analisi SWOT saranno utilizzati per sviluppare un algoritmo predittivo condivisibile per le ATMP e per validare ed implementare modelli regolatori di rimborso basati sulla ricerca sugli esiti, con l'obiettivo finale di promuovere l'adozione e l'accessibilità delle ATMP nei sistemi sanitari.



Ambito 2 - Ricerca e messa a punto di un processo produttivo di nanoparticelle autologhe (vescicole extracellulari) che sia in conformità con gli standard richiesti dalle agenzie regolatorie

Il bando si rivolge a enti che siano già autorizzati alla produzione per tipologia affine, o che prevedano di riceverla entro tre mesi, e che siano in grado di garantire la produzione in GMP seguendo il protocollo messo a punto in un contesto non GMP che prevede l'isolamento delle vescicole extracellulari (per ultracentrifugazione) e il caricamento delle stesse con il verde indocianina (per diffusione passiva). La ricerca dell'ente assegnatario del bando sarà finalizzata a traslare il protocollo in un contesto certificato GMP e adattare la produzione fuori dal contesto ospedaliero. La produzione dovrà prevedere i controlli di qualità necessari per le EVs inclusa la quantificazione del verde indocianina incorporato, le attività di QA sulla procedura di isolamento e caricamento delle vescicole, il trasferimento del plasma dal luogo dei trial clinici alla officina di preparazione, il trasferimento tempestivo (entro 48 ore dall'arrivo del plasma in officina) dei lotti di EVs isolate e caricate con indocianina verde presso la Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano dove verranno utilizzati nella sperimentazione clinica e i costi di conservazione del prodotto finito per il tempo necessario al trial clinico. Il servizio innovativo richiesto dal bando dovrà essere applicato per l'intera sperimentazione clinica prevista su 60 pazienti.