

## Oportunidad de trabajo en grupo de investigación: Synthetic Biology and Smart Therapeutic Systems. (Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología; BIONAND. Málaga)

En los próximos días, la Consejería de Economía, Conocimiento, Empresas y Universidad de la Junta de Andalucía convocará 257 ayudas con una duración máxima de tres años para la contratación de investigadores postdoctorales demandantes de empleo o poseedores de la tarjeta de mejora de empleo, que hayan obtenido su doctorado hace menos de 5 años. El Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología (BIONAND; <https://www.bionand.es>) se encuentra entre los seleccionados para poder incorporar personal a través de esta ayuda, por lo que nuestro grupo (Synthetic Biology and Smart Therapeutic Systems; podría ser beneficiario de alguno de esos contratos. En el documento adjunto se describen algunos de nuestros proyectos de investigación en curso. Aquellas personas interesadas, que cumplan los requisitos de la convocatoria y que tengan publicaciones como primer autor y experiencia en áreas de conocimiento que pueda contribuir a la ejecución de estos proyectos (pares TA, biología sintética, biología del cáncer, inmunología/inmunooncología, terapia génica, muerte inmunogénica, etc) puede contactar conmigo escribiéndome un correo electrónico a [guillermodelacueva@icloud.com](mailto:guillermodelacueva@icloud.com).

### Biología sintética y sistemas terapéuticos inteligentes basados en pares toxina-antitoxina

Nuestro grupo emplea pares toxina-antitoxina bacterianos para construir sistemas capaces de distinguir células humanas que estén expuestas a insultos oncogénicos predeterminados o a estímulos ambientales específicos, e inducir su muerte de un modo altamente selectivo. Nuestro objetivo es utilizar estos sistemas en terapia oncogénica (Preston et al., 2016; Turnbull et al., 2019), para lo cual en la actualidad empleamos los siguientes abordajes.

El proyecto **AT-CAR-T** persigue la construcción de sistemas de suicidio celular controlado que induzcan la muerte de aquellas células CAR-T que, una vez infundidas en pacientes, estén directamente implicadas en la estimulación de un síndrome de liberación de citoquinas (SLC). Trabajos recientes demuestran que sólo una subpoblación del total de células CAR-T infundidas en pacientes es responsable de la inducción y agravamiento de este efecto adverso, sugiriendo que nuestros sistemas TA podrían emplearse para provocar su suicidio sin afectar al resto, evitando la aparición de efectos secundarios que comprometen la eficacia de estos tratamientos en la práctica clínica.

El proyecto **inm-ATe** persigue la construcción de sistemas dirigidos selectivamente contra células inmunosupresoras infiltradas en tumores, responsables de inhibir el reconocimiento y eliminación de éstos por parte de las células inmunes efectoras. Nuestro objetivo es administrar estos sistemas de forma local en tumores sólidos con objeto de impedir dicho bloqueo e, idealmente, estimular a las células inmunes efectoras residentes en dicho tumor a iniciar un ataque sistémico (esto es, a distancia) contra las células cancerosas en el paciente.

El proyecto **ablATe** persigue la construcción de sistemas dirigidos directamente contra células cancerosas independientemente de su origen y alteraciones genéticas. En este contexto, estamos investigando también distintas alternativas para la vectorización in vivo de dichos sistemas, poniendo particular énfasis en estrategias que puedan activar una respuesta antitumoral a nivel sistémico aun cuando nuestros sistemas se administren de forma local.

Nuestro grupo trabaja también en el desarrollo y optimización de tecnologías transversales (**ATmiRable** y **proTAgonist**) que han sido concebidas para facilitar y acelerar la personalización de nuestros sistemas a las necesidades de cada aplicación y paciente específicos

Turnbull A, Bermejo-Rodríguez C, Preston MA, Garrido-Barros M, Pimentel B, de la Cueva-Méndez G. (2019) Targeted Cancer Cell Killing by Highly Selective miRNA-Triggered Activation of a Prokaryotic Toxin-Antitoxin System. *ACS Synth Biol.*, 8:1730-1736.

Preston MA, Pimentel B, Bermejo-Rodríguez C, Dionne I, Turnbull A, de la Cueva-Méndez G. (2016) Repurposing a Prokaryotic Toxin-Antitoxin System for the Selective Killing of Oncogenically Stressed Human Cells. *ACS Synth Biol.*, 5:540-546.

## Repurposing a Prokaryotic Toxin-Antitoxin System for the Selective Killing of Oncogenically Stressed Human Cells

Mark A. Preston,<sup>†,§</sup> Belén Pimentel,<sup>†,§</sup> Camino Bermejo-Rodríguez,<sup>†</sup> Isabelle Dionne,<sup>†</sup> Alice Turnbull,<sup>†</sup> and Guillermo de la Cueva-Méndez<sup>\*,†,‡</sup>

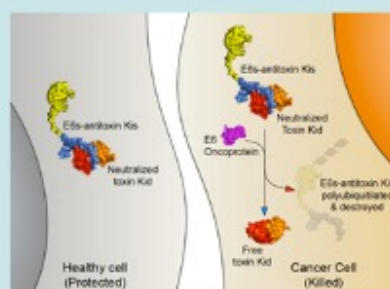
<sup>†</sup>MRC Cancer Cell Unit, Hutchison/MRC Research Centre, Hills Road, Cambridge CB2 0XZ, U.K.

<sup>‡</sup>Andalusian Centre for Nanomedicine and Biotechnology (BIONAND), Parque Tecnológico de Andalucía, C/Severo Ochoa 35, 29590 Campanillas, Málaga, Spain

### Supporting Information

**ABSTRACT:** Prokaryotes express intracellular toxins that pass unnoticed to carrying cells until coexpressed antitoxin partners are degraded in response to stress. Although not evolved to function in eukaryotes, one of these toxins, Kid, induces apoptosis in mammalian cells, an effect that is neutralized by its cognate antitoxin, Kis. Here we engineered this toxin-antitoxin pair to create a synthetic system that becomes active in human cells suffering a specific oncogenic stress. Inspired by the way Kid becomes active in bacterial cells, we produced a Kis variant that is selectively degraded in human cells expressing oncoprotein E6. The resulting toxin-antitoxin system functions autonomously in human cells, distinguishing those that suffer the oncogenic insult, which are killed by Kid, from those that do not, which remain protected by Kis. Our results provide a framework for developing personalized anticancer strategies avoiding off-target effects, a challenge that has been hardly tractable by other means thus far.

**KEYWORDS:** cancer cell killing, gene therapy, protein therapy, smart therapeutic system, toxin-antitoxin system, Kid-Kis, HPV



## Targeted Cancer Cell Killing by Highly Selective miRNA-Triggered Activation of a Prokaryotic Toxin–Antitoxin System

Alice Turnbull,<sup>†</sup> Camino Bermejo-Rodríguez,<sup>†</sup> Mark A. Preston,<sup>†</sup> María Garrido-Barros,<sup>‡,§</sup> Belén Pimentel,<sup>\*,†,‡,§</sup> and Guillermo de la Cueva-Méndez<sup>\*,†,‡,§</sup>

<sup>†</sup>MRC Cancer Cell Unit, Hutchison/MRC Research Centre, Hills Road, Cambridge CB2 0XZ, U.K.

<sup>‡</sup>Synthetic Biology and Smart Therapeutic Nanosystems Laboratory, Andalusian Centre for Nanomedicine and Biotechnology–BIONAND, 29590 Málaga, Spain

<sup>§</sup>Nanobioengineering of Smart Therapeutic and Diagnostic Systems Laboratory, Area of Oncology and Oncohematology, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga–IBIMA, 29010 Málaga, Spain

**ABSTRACT:** Although not evolved to function in eukaryotes, prokaryotic toxin Kid induces apoptosis in human cells, and this is avoided by coexpression of its neutralizing antitoxin, Kis. Inspired by the way Kid becomes active in bacterial cells we had previously engineered a synthetic toxin–antitoxin system bearing a Kis protein variant that is selectively degraded in cells expressing viral oncoprotein E6, thus achieving highly selective killing of cancer cells transformed by human papillomavirus. Here we aimed to broaden the type of oncogenic insults, and therefore of cancer cells, that can be targeted using this approach. We show that appropriate linkage of the *kis* gene to a single, fully complementary, target site for an oncogenic human microRNA enables the construction of a synthetic toxin–antitoxin pair that selectively kills cancer cells overexpressing that particular microRNA. Importantly, the resulting system spares nontargeted cells from collateral damage, even when they overexpress highly homologous, though nontargeted, microRNAs.

**KEYWORDS:** cancer cell killing, gene therapy, toxin–antitoxin, Kid-Kis, onco-miRNA, miR373

