

Bari, 18 settembre 2024

## **Strategie di produzione di CAR-T, Clinical Scale: approccio e risultati della ricerca del laboratorio GMP dell'IRCCS Oncologico**



**Dr. Attilio Guarini**  
**Dr. Sabino Ciavarella**  
Istituto Tumori - Bari



**Prof. Enrico Iaccino**  
Università «Magna Graecia» di Catanzaro



## Laboratory of Hematological Diagnostics and Cell Therapy



**Lymphoma SUBUNIT**

Mariella Anita  
Antonella Paolo  
Antonella

**Myeloma SUBUNIT**

Mariella Anita  
Grazia Paolo  
Paolo

**Leukemia SUBUNIT**

Giacomo Antonio  
Antonio

**Comput/Maths/Infrastructure Facility**

Gianmaria Grazia

**Main Laboratory Activities**

**Diagnostics**

**Routine cell sorting and flow cytometry characterization of diseases**

**Gene expression characterization of diseases**

**NANOSTRING**

**Targeted sequencing and molecular biology classification of diseases**

**NGS** **FISH**

**Translational research trajectories in Hematology**

**Tumor microenvironment-based prognostication in lymphoma and multiple myeloma**

**NANOSTRING**

**Big data analysis by computational and AI tools**

**GEO**  
Gene Expression Omnibus

**International Cancer Consortium**

**NIH THE CANCER GENOME ATLAS**  
National Cancer Institute  
National Human Genome Research Institute

**Single cell characterization of acute myeloid leukemias**

**3D-modeling of lymphoma and leukemia**

**Main instrumental equipment and spaces for research and diagnostics**

**Diagnostics and Cell Biology**



3 Flow cytometers



Real time PCR



NANOSTRING



mISEQ



**GMP Facility for cell manipulation**



**CliniMACS Prodigy® Instrument**



### **PIANO OPERATIVO SALUTE – OBIETTIVO SPECIFICO 3**

A3.9 - Generazione di nuovi prodotti CAR T/NK per indicazioni ad alto impatto clinico, come i tumori solidi nell'adulto

A3.10 - Realizzazione/potenziamento di un polo tecnologico per lo sviluppo di nuove piattaforme hightech per la caratterizzazione dei tumori non invasiva e terapie personalizzate basate su ATMP

Equipaggiamento tecnologico

Expertise e traiettorie di ricerca già esistenti su linfomi aggressivi

Potenziamento attività di ricerca cooperativa

Produzione di dati preliminari e «proof of concept»



**La rivoluzione che vediamo...**



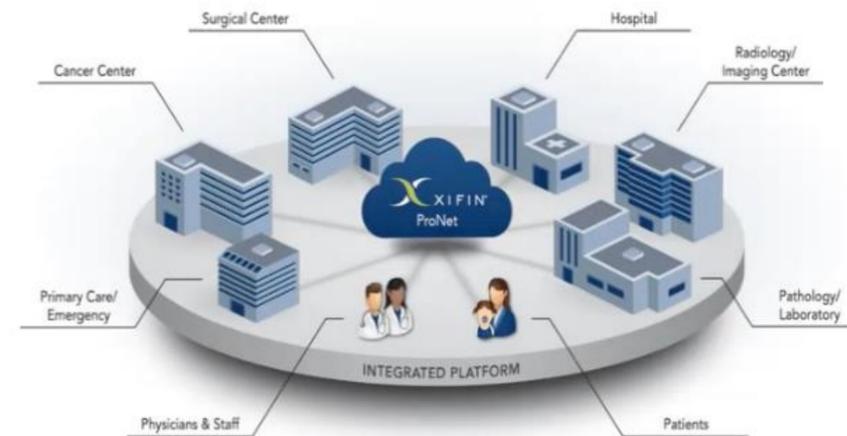


## ...quella a cui stiamo lavorando!

Expert voices for change: Bridging the silos—towards healthy and sustainable settings for the 21st century

Mark Dooris\*

*Healthy Settings Unit, School of Health, University of Central Lancashire, UK*



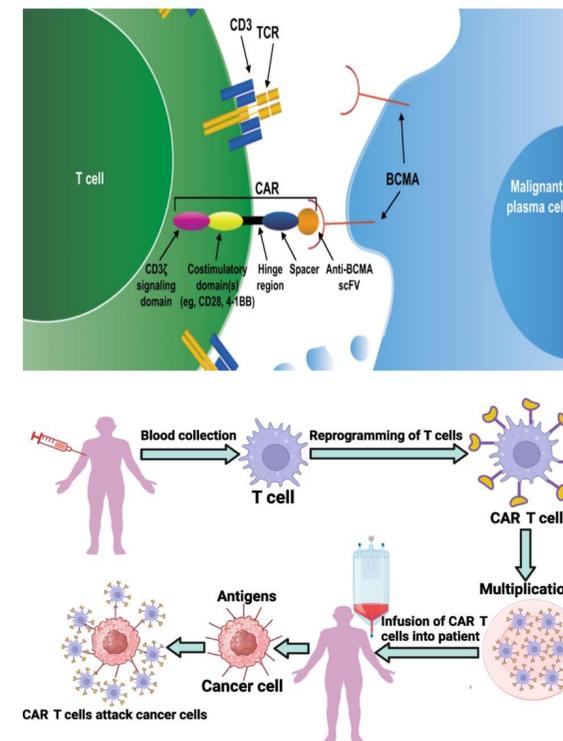
What means «actionable» ?



Medicina di precisione e personalizzata

## Chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy

- T cells are genetically modified to express CAR to redirect T cell towards target cells
- CAR constructs consist of:
  - TAA-targeted scFvs (typically murine or human) connected to the CD3 $\zeta$  intracellular signaling domain
  - Costimulatory domain(s) (e.g., CD28, OX40, 4-1BB) by an extracellular spacer and transmembrane domain
- CAR T cells can expand after a single infusion leading to persistent immunity against cancer cells
- **Applications:**
  - CAR T cell therapy has proved successful to treat hematologic malignancies especially in relapsed/refractory (R/R) B-cell acute lymphocytic leukemia (B-ALL), non-Hodgkin lymphoma (NHL), and multiple myeloma (MM)
  - The most common target antigens are CD19 and B cell maturation antigen (BCMA)
  - BCMA-targeted CAR T-cell therapies have demonstrated efficacy in early-phase clinical trials



## LIMITATIONS



Prolonged manufacture time



Associated toxicities with CAR T cells include CRS neurologic toxicity, cytopenia, and hypogammaglobulinemia

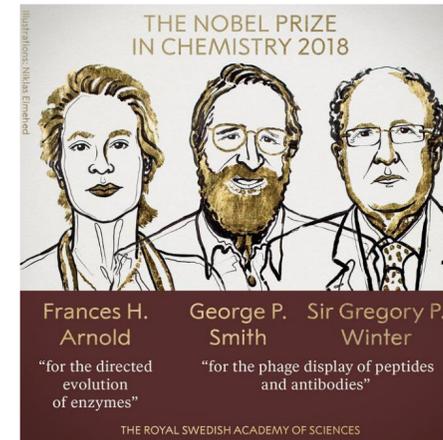
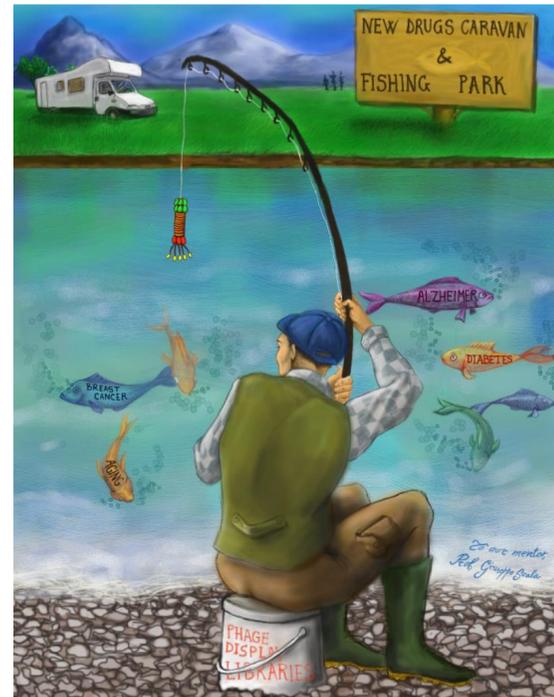


Require use of preconditioning lymphodepletion regimens that may have implication for salvage therapy after failure of therapy.

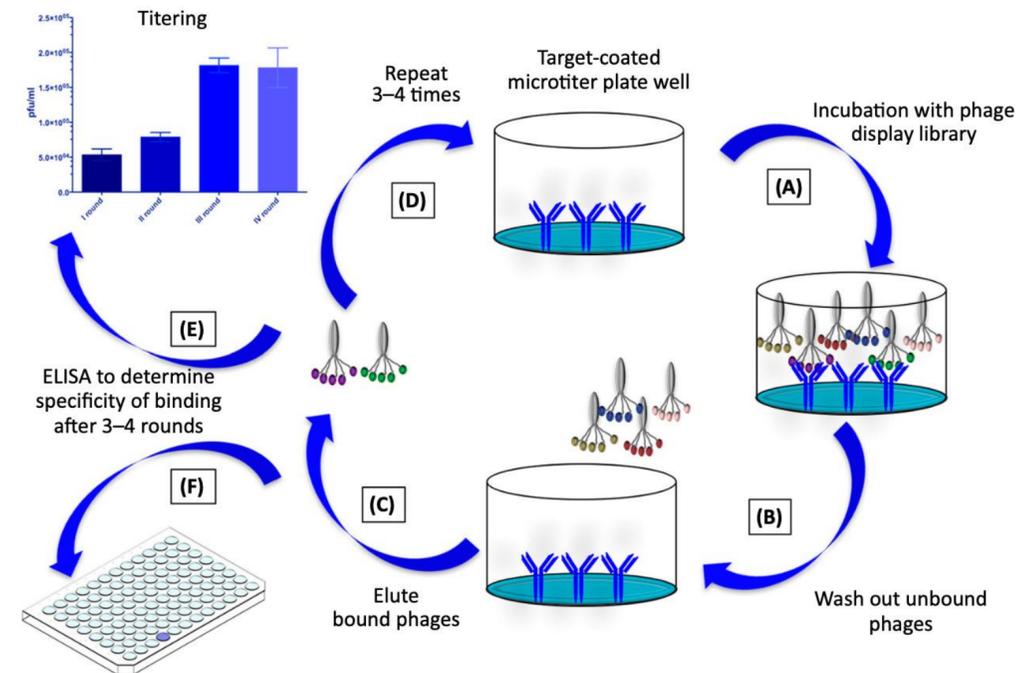


sBCMA can bind to and interfere with anti-BCMA antibodies thereby alters the efficacy of anti-BCMA therapies.

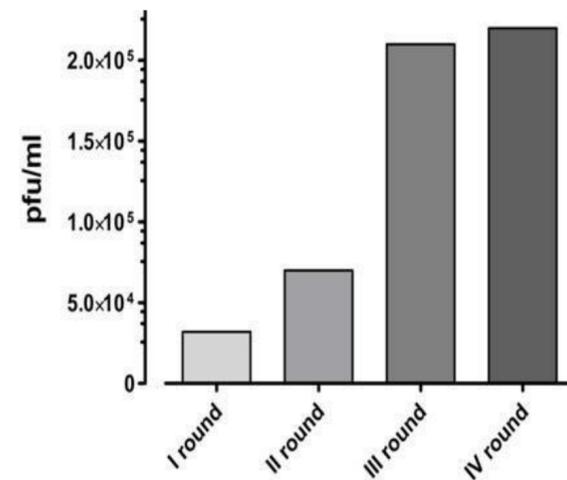
## IDENTIFICAZIONE DEI PEPTIDI MEDIANTE PHAGE DISPLAY



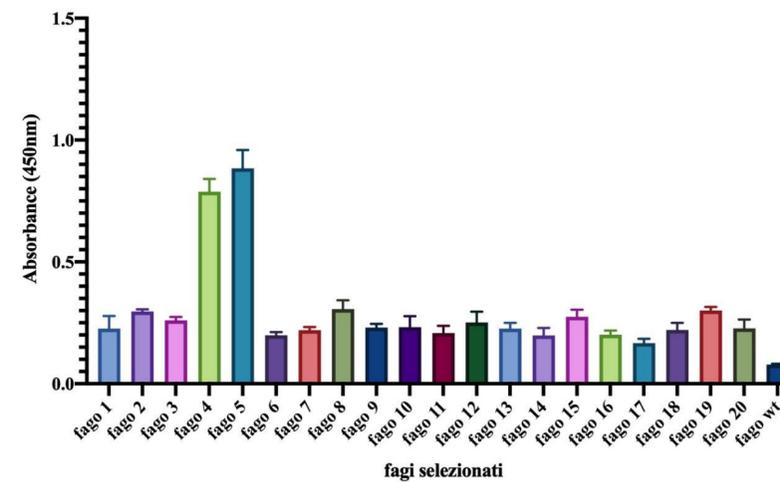
## IDENTIFICAZIONE DEI PEPTIDI MEDIANTE PHAGE DISPLAY



## RISULTATI

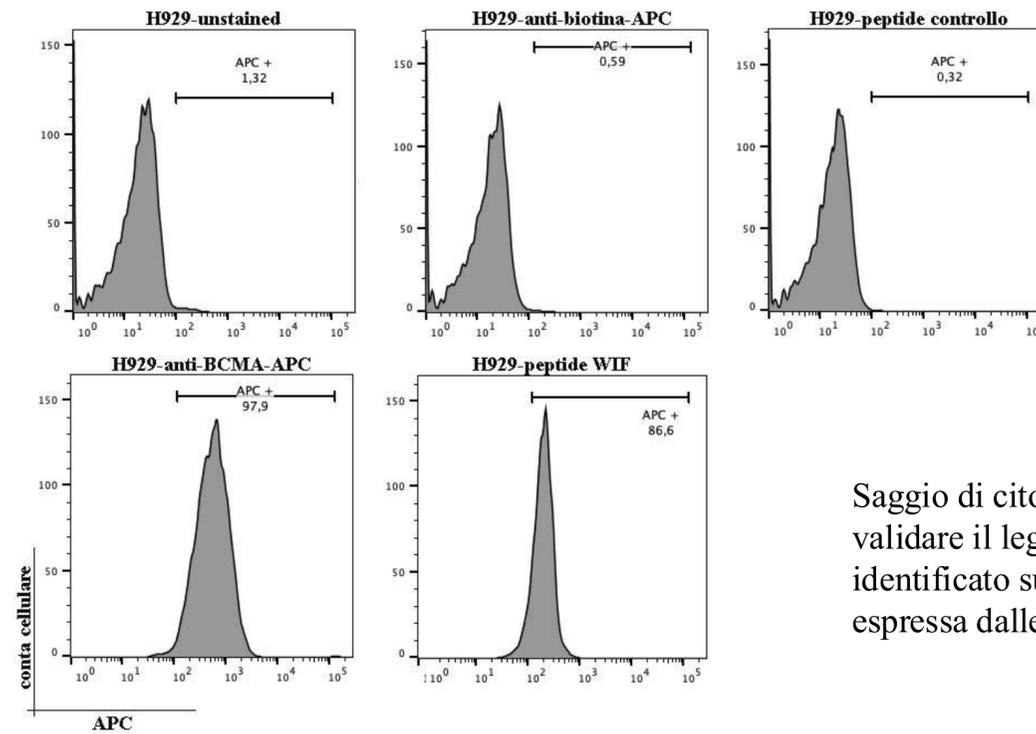


Titolazione dei cloni fagici specifici ottenuti alla fine di ogni ciclo di panning (affinità).

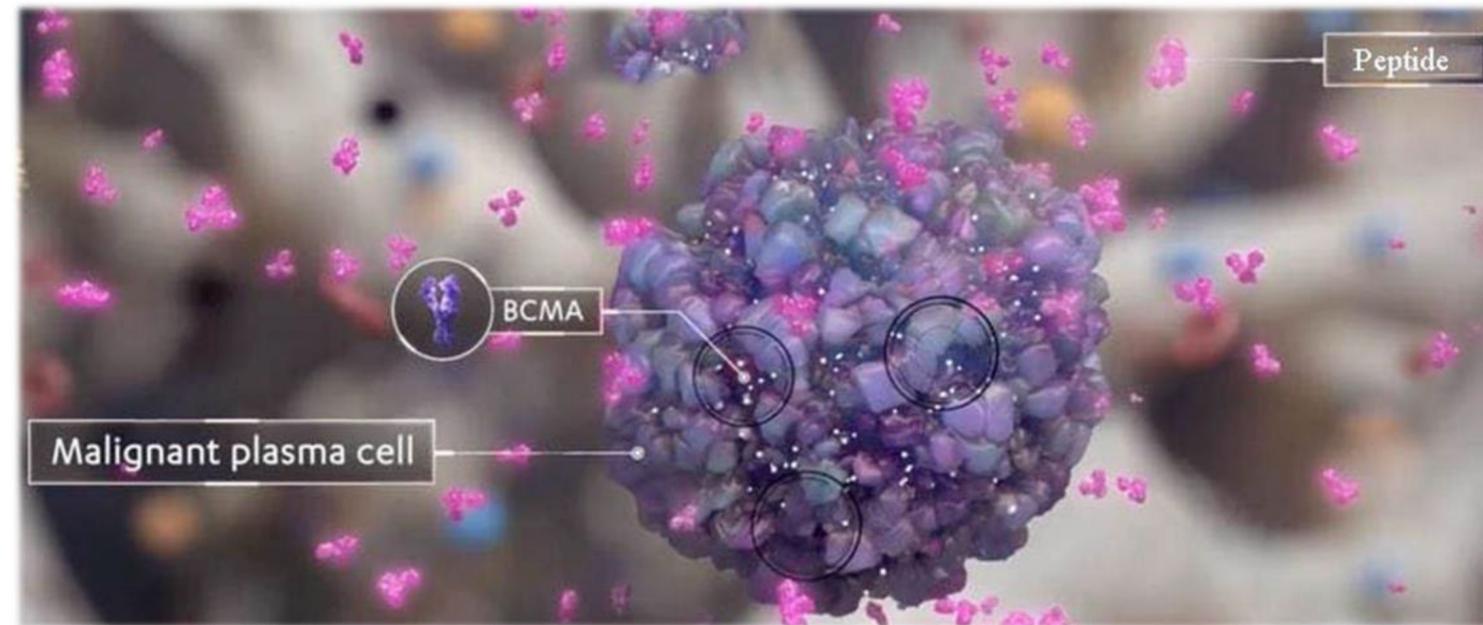


Valutazione dell'affinità di legame dei fagi utilizzati mediante saggio ELISA.

### VALIDAZIONE DEL PEPTIDE MEDIANTE CITOFLUOROMETRIA A FLUSSO



Saggio di citofluorimetria per validare il legame del peptide identificato sulla proteina BCMA espressa dalle cellule H929.





**Enrico Iaccino**  
**Aldo Quattrone**  
**Andrea Quattrone**  
**Anna Maria Zimbo**  
**Khushboo Fatima**  
Valentina Crapella  
Salvatore Valia



**Anna Maria Tolomeo**



**Francesco Bertoni**



**Sabino Ciavarella**



### **Delitti in materia di violazione del diritto d'autore (Art. 25-novies, D.Lgs. n. 231/2001) [articolo aggiunto dalla L. n. 99/2009]**

- Messa a disposizione del pubblico, in un sistema di reti telematiche, mediante connessioni di qualsiasi genere, di un'opera dell'ingegno protetta, o di parte di essa (art. 171, legge n.633/1941 comma 1 lett. a) bis)
- Reati di cui al punto precedente commessi su opere altrui non destinate alla pubblicazione qualora ne risulti offeso l'onore o la reputazione (art. 171, legge n.633/1941 comma 3)
- Abusiva duplicazione, per trarne profitto, di programmi per elaboratore; importazione, distribuzione, vendita o detenzione a scopo commerciale o imprenditoriale o concessione in locazione di programmi contenuti in supporti non contrassegnati dalla SIAE; predisposizione di mezzi per rimuovere o eludere i dispositivi di protezione di programmi per elaboratori (art. 171-bis legge n.633/1941 comma 1)
- Riproduzione, trasferimento su altro supporto, distribuzione, comunicazione, presentazione o dimostrazione in pubblico, del contenuto di una banca dati; estrazione o reimpiego della banca dati; distribuzione, vendita o concessione in locazione di banche di dati (art. 171-bis legge n.633/1941 comma 2)
- Abusiva duplicazione, riproduzione, trasmissione o diffusione in pubblico con qualsiasi procedimento, in tutto o in parte, di opere dell'ingegno destinate al circuito televisivo, cinematografico, della vendita o del noleggio di dischi, nastri o supporti analoghi o ogni altro supporto contenente fonogrammi o videogrammi di opere musicali, cinematografiche o audiovisive assimilate o sequenze di immagini in movimento; opere letterarie, drammatiche, scientifiche o didattiche, musicali o drammatico musicali, multimediali, anche se inserite in opere collettive o composite o banche dati; riproduzione, duplicazione, trasmissione o diffusione abusiva, vendita o commercio, cessione a qualsiasi titolo o importazione abusiva di oltre cinquanta copie o esemplari di opere tutelate dal diritto d'autore e da diritti connessi; immissione in un sistema di reti telematiche, mediante connessioni di qualsiasi genere, di un'opera dell'ingegno protetta dal diritto d'autore, o parte di essa (art. 171-ter legge n.633/1941)
- Mancata comunicazione alla SIAE dei dati di identificazione dei supporti non soggetti al contrassegno o falsa dichiarazione (art. 171-septies legge n.633/1941)
- Fraudolenta produzione, vendita, importazione, promozione, installazione, modifica, utilizzo per uso pubblico e privato di apparati o parti di apparati atti alla decodificazione di trasmissioni audiovisive ad accesso condizionato effettuate via etere, via satellite, via cavo, in forma sia analogica sia digitale (art. 171-octies legge n.633/1941).

**[Torna all'inizio](#)**