



1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Desarrollo de CAR-T de cuarta generación inducibles con mínimo leaking y máxima inducibilidad.

Descripción general (resumen y metodología):

Resumen

El proyecto formativo tiene como objetivo el desarrollo y evaluación de células CAR-T de cuarta generación capaces de secretar inmunomoduladores únicamente en presencia de células tumorales, minimizando la expresión basal (leaking) y maximizando la activación inducible. Este enfoque pretende mejorar la seguridad y eficacia de las terapias CAR-T mediante la incorporación de sistemas de regulación genética que permitan una respuesta altamente controlada, reduciendo efectos adversos y potenciando la actividad antitumoral.

Durante su estancia, el estudiante adquirirá conocimientos fundamentales en inmunoterapia celular-génica, diseño de vectores lentivirales, cultivo celular avanzado, citometría de flujo, análisis molecular y ensayos funcionales. Asimismo, participará activamente en el diseño experimental, ejecución de experimentos y análisis crítico de resultados, integrándose plenamente en la dinámica científica del laboratorio.

Metodología

El proyecto se desarrollará mediante una combinación de técnicas experimentales, análisis funcionales y evaluación comparativa de diferentes sistemas de regulación inducible en células CAR-T. La metodología se estructura en los siguientes bloques:

1. Diseño experimental y generación de CAR-T inducibles

Selección y comparación de distintos vectores lentivirales con elementos reguladores diseñados para minimizar el leaking y maximizar la inducibilidad.

Transducción de linfocitos T humanos con los vectores seleccionados.

Expansión y validación inicial de las células CAR-T generadas.

2. Cultivo celular y modelos experimentales

Mantenimiento y expansión de líneas tumorales modelo.

Aislamiento, activación y cultivo de linfocitos T primarios en condiciones controladas.

Co-cultivos CAR-T / tumor para evaluar activación dependiente de antígeno.

3. Evaluación de expresión génica y fenotipo

Cuantificación de la expresión de genes de interés mediante citometría de flujo y RT-PCR digital.

Análisis fenotípico de subpoblaciones T (activación, agotamiento, memoria).

Medición de secreción de inmunomoduladores mediante ELISA.

4. Ensayos funcionales

Ensayos de citotoxicidad in vitro frente a células tumorales.

Determinación del leaking basal en ausencia de estímulo tumoral.

Evaluación de la inducibilidad en presencia de células tumorales o señales específicas.

5. Análisis de datos y formación científica

Registro sistemático de resultados experimentales.

Interpretación crítica de datos y discusión en reuniones de laboratorio.

Tipología: Estudio de casos, teóricos o prácticos, relacionados con la temática del Grado.

Objetivos planteados:

Objetivo general

Desarrollar y comparar sistemas inducibles para generar células CAR-T de cuarta generación con mínimo leaking y máxima activación específica frente a células tumorales.

Objetivos específicos

- 1) Aprender los fundamentos del diseño y funcionamiento de CAR-T regulados.
- 2) Generar CAR-T mediante transducción lentiviral y evaluar su expresión génica.
- 3) Dominar técnicas básicas de cultivo celular, manejo de líneas tumorales y linfocitos T.
- 4) Cuantificar la expresión de genes de interés mediante citometría de flujo y RT-PCR digital.
- 5) Evaluar leaking basal e inducibilidad en condiciones tumor vs. no-tumor.
- 6) Analizar la función antitumoral mediante ensayos de citotoxicidad in vitro.

Interpretar resultados experimentales y desarrollar pensamiento científico-crítico

Bibliografía básica:

June, C.H., O'Connor, R.S., Kawalekar, O.U., et al. (2018). CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science*

Sterner, R.C., Sterner, R.M. (2021). CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer Journal*.

Morsut, L., Roybal, K.T., et al. (2016). Engineering customized cell sensing and response behaviors using synthetic Notch receptors. *Cell*

Tristán-Manzano M., Martín F., et al (2022). Inducible gene expression systems for advanced cell-based therapies: design, performance and translational considerations. **Molecular Therapy - Methods & Clinical Development**, 2022.

Tristán-Manzano M, Martin F. et al (2023). Lentiviral vectors for inducible, transactivator-free advanced therapy medicinal products: Application to CAR-T cells. **Mol Ther Nucleic Acids**

Tristán-Manzano M, Martin F. et al (2020). Externally-Controlled Systems for Immunotherapy: From Bench to Bedside. **Frontiers Immunology**

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

Haber cursado Curso de Inmunología básica y de inmunología clínica

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: FRANCISCO MARTÍN MOLINA

Ámbito de conocimiento/Departamento: INMUNOLOGÍA

Correo electrónico: franciscomm@ugr.es

3. COTUTOR/A DE LA UGR (en su caso):

Nombre y apellidos:

Ámbito de conocimiento/Departamento:

Correo electrónico:

4. COTUTOR/A EXTERNO/A (en su caso):

Nombre y apellidos: María Tristán-Manzano

Correo electrónico: maria.tristan@genyo.es

Nombre de la empresa o institución: FIBAO

Dirección postal: GENYO. Ada de la Ilustración 114

Puesto del tutor en la empresa o institución: FIBAO

Centro de convenio Externo: GENYO (FIBAO)

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos:

Correo electrónico: