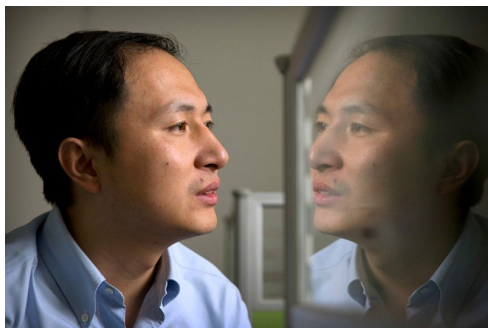


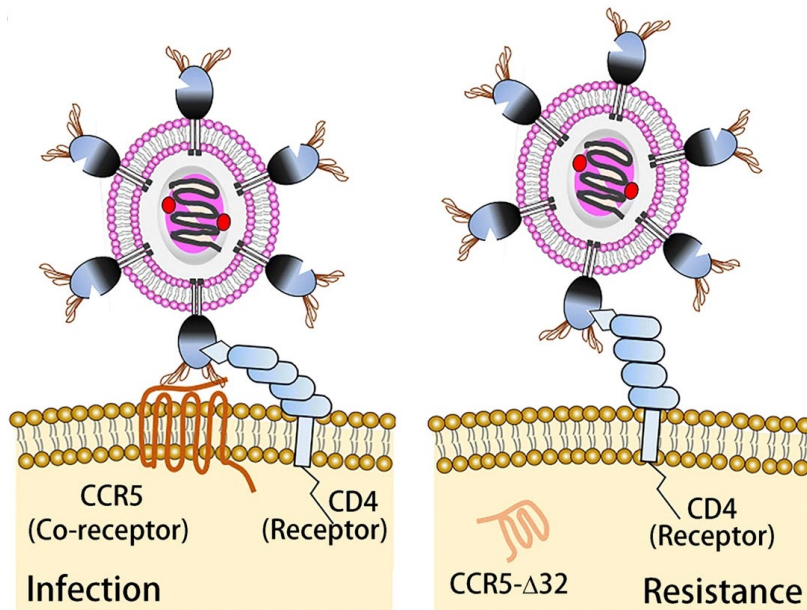
# Терапии на основе редактирования генома

Павел Волчков  
к.б.н., заведующий лабораторией геномного редактирования  
Директор Центра живых систем, МФТИ

# Будущее сегодня: 'CRISPR-baby'



He Jiankui stunned the world when he declared that he'd created the first gene-edited babies.



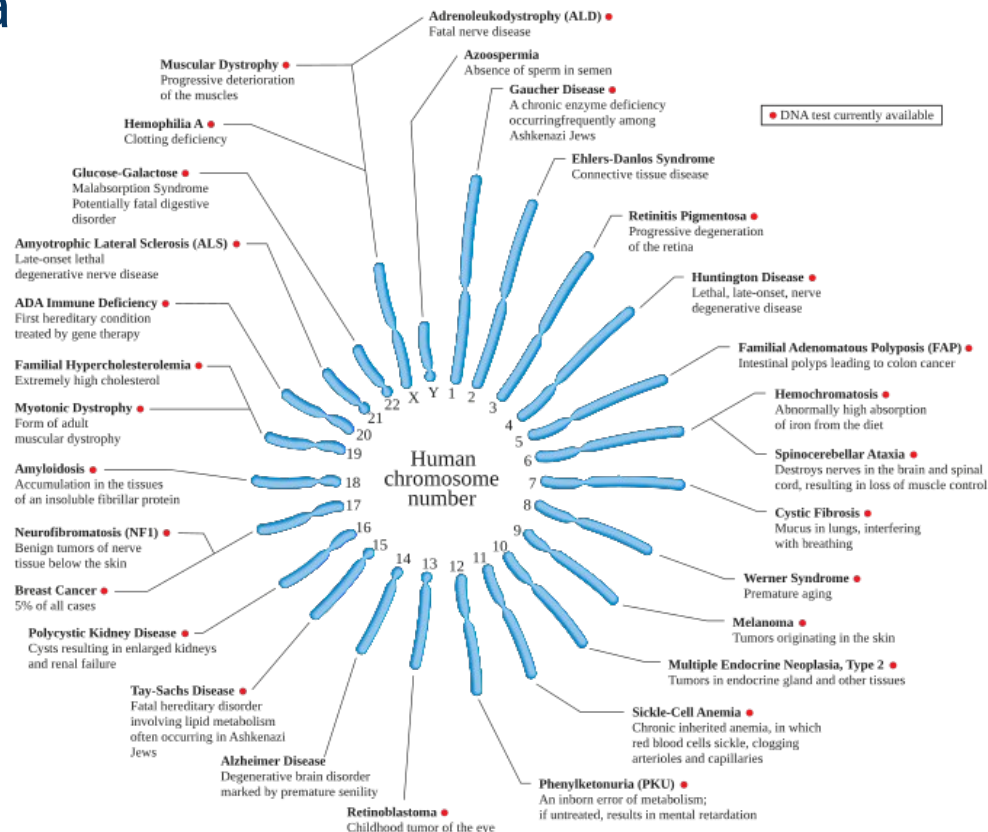
Число ЭКО в  
России в 2022  
году - 89,5 тыс

# Известно около 6000 наследственных заболеваний человека

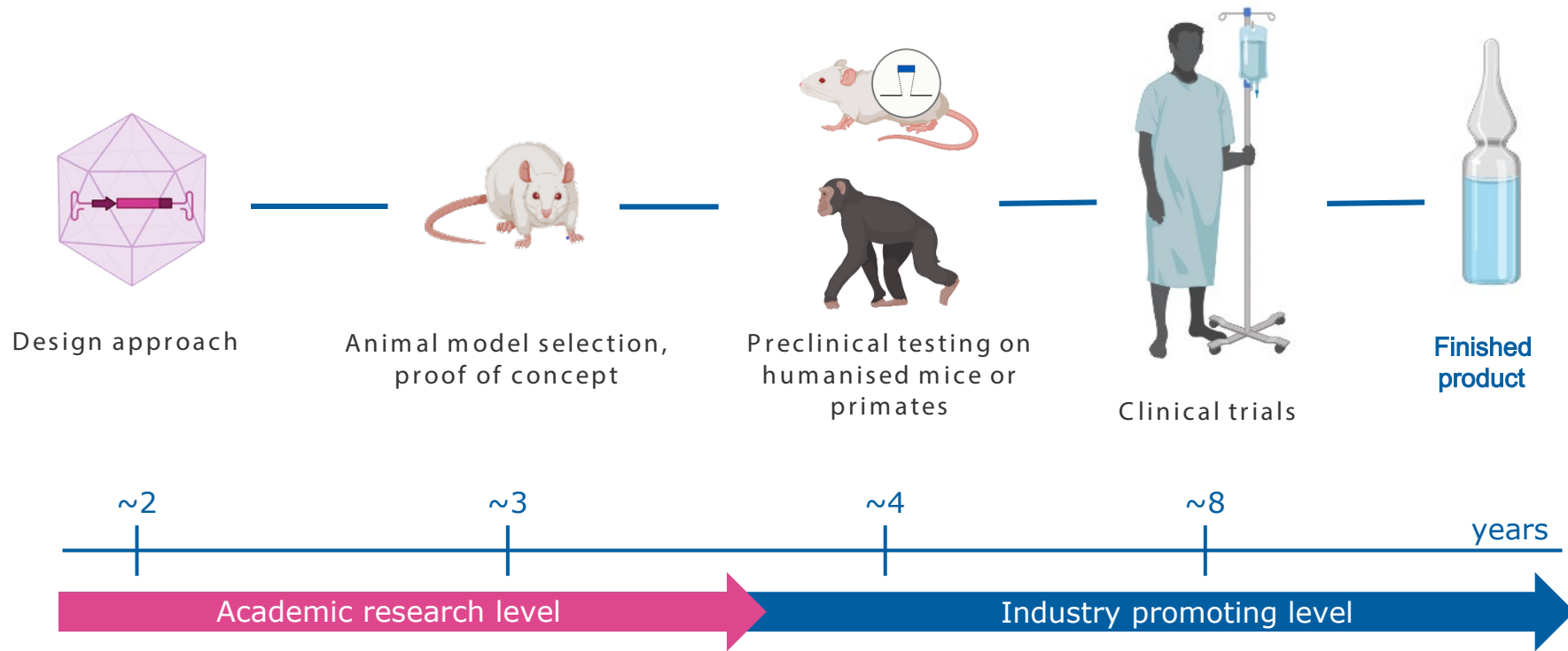
В человеческой популяции множество генетических нарушений, рынок генотерапевтических препаратов растет по мере развития новых инструментов геномного редактирования



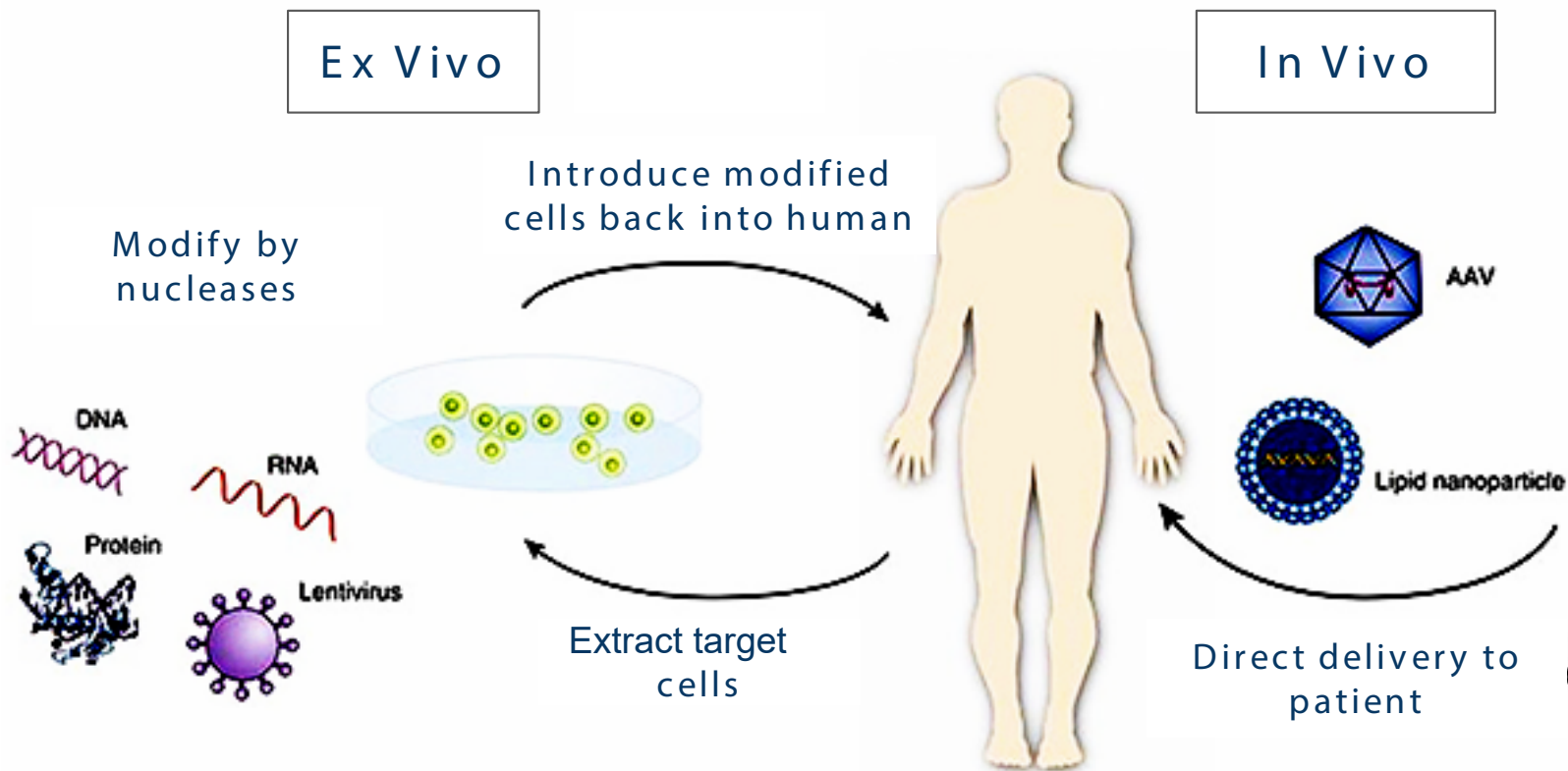
35%  
CAGR (2019-2027)



# Пайплайн разработки генотерапевтического препарата



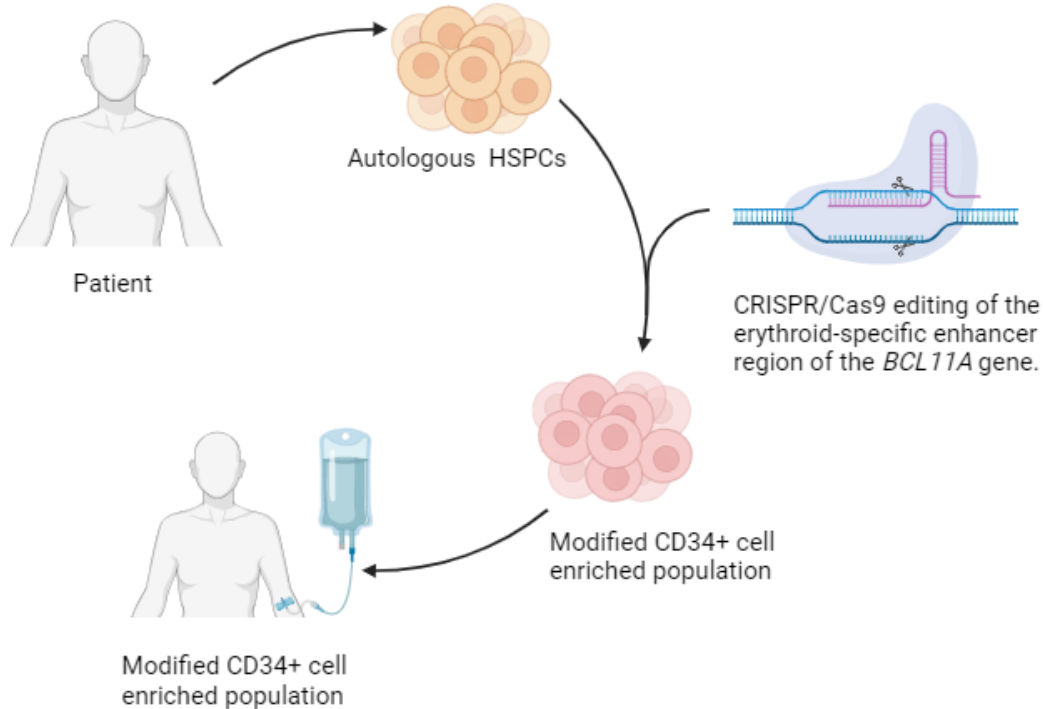
# Стратегии терапии: ex vivo, in vivo



# Терапии Ex Vivo

Conditions Targeted	Targets Knocked out via CRISPR	Targets Knocked in (via Lentivirus or CRISPR)	Clinical Trial ID
Advanced hepatocellular carcinoma	PD1		NCT04417764 [43]
Advanced esophageal squamous cell carcinoma	PD1		NCT03081715 [44]
Metastatic gastrointestinal cancers	CISH		NCT04426669 [60]
Metastatic non-small cell lung cancer			NCT05566223 [59]
Metastatic non-small cell lung cancer	PD1		NCT02793856 [45]
EBV+ malignancies	PD1		NCT03044743 [46]
CD5+ relapsed/refractory T cell malignancies	CD5	CD5-CAR (via lentivirus)	NCT04767308 [61]
Acute lymphocytic leukemia	HPK-1	CD19-CAR (via lentivirus)	NCT04037566 [62]
Multiple solid tumors	PD1 and TRAC	Mesothelin-CAR (via lentivirus)	NCT03545815 [47]
Mesothelin-positive multiple solid tumors			NCT03747965 [48]
Advanced EGFR-positive solid tumors	TGF- $\beta$ receptor II	EGFR-CAR (via lentivirus)	NCT04976218 [63]
Multiple myeloma	PD1, TRAC and TRBC	NY-ESO-1-TCR (via lentivirus)	NCT03399448 [49]
Acute myeloid leukemia	TRBC and TRAC	Wilms Tumor 1-TCR (via CRISPR)	NCT05066165

# CASGEVY - first approved CRISPR-based therapy



estimates suggest that it could cost roughly US\$2 million per patient

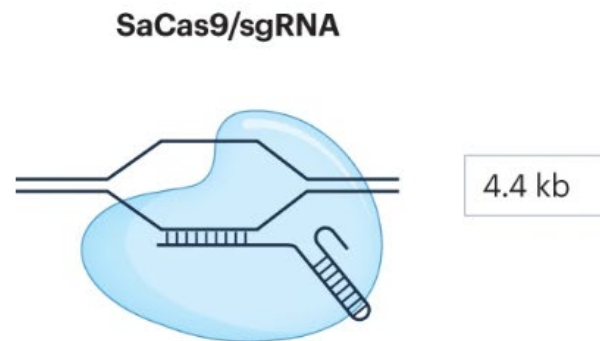
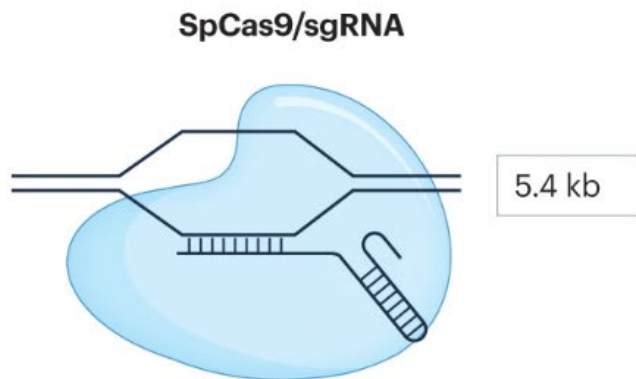
<https://crisprtx.com/about-us/press-releases-and-presentations/vertex-and-crispr-therapeutics-announce-authorization-of-the-first-crispr-cas9-gene-edited-therapy-casgev-egagamlogene-autotemcel-by-the-united-kingdom-mhra-for-the-treatment-of-sickle-cell-disease-and-transfusi>

# Терапии In Vivo

Disease indication	Therapeutic approach	Delivery vehicle	Phase	Clinical trial
Leber congenital amaurosis 10	SaCas9 with guide RNAs targeting the <i>CEP290</i> mutation	AAV5	I/II	NCT03872479
Wet age-related macular degeneration	Aflibercept and an anti-VEGFC RNAi	Engineered AAV 4D-150	I/II	NCT05197270
HIV	SaCas9 with guide RNAs targeting the HIV genome	AAV9	I	NCT05144386
Hereditary angioedema	SpCas9 with guide RNA targeting the gene encoding kallikrein B1	LNP	I/II	NCT05120830
Transthyretin amyloidosis	SpCas9 with guide RNA targeting the gene encoding transthyretin	LNP	I	NCT04601051
Heterozygous familial hypercholesterolaemia	Adenine base editor with guide RNA targeting the gene encoding PCSK9	LNP	I	NCT05398029



# Проблемы: размер инструмента

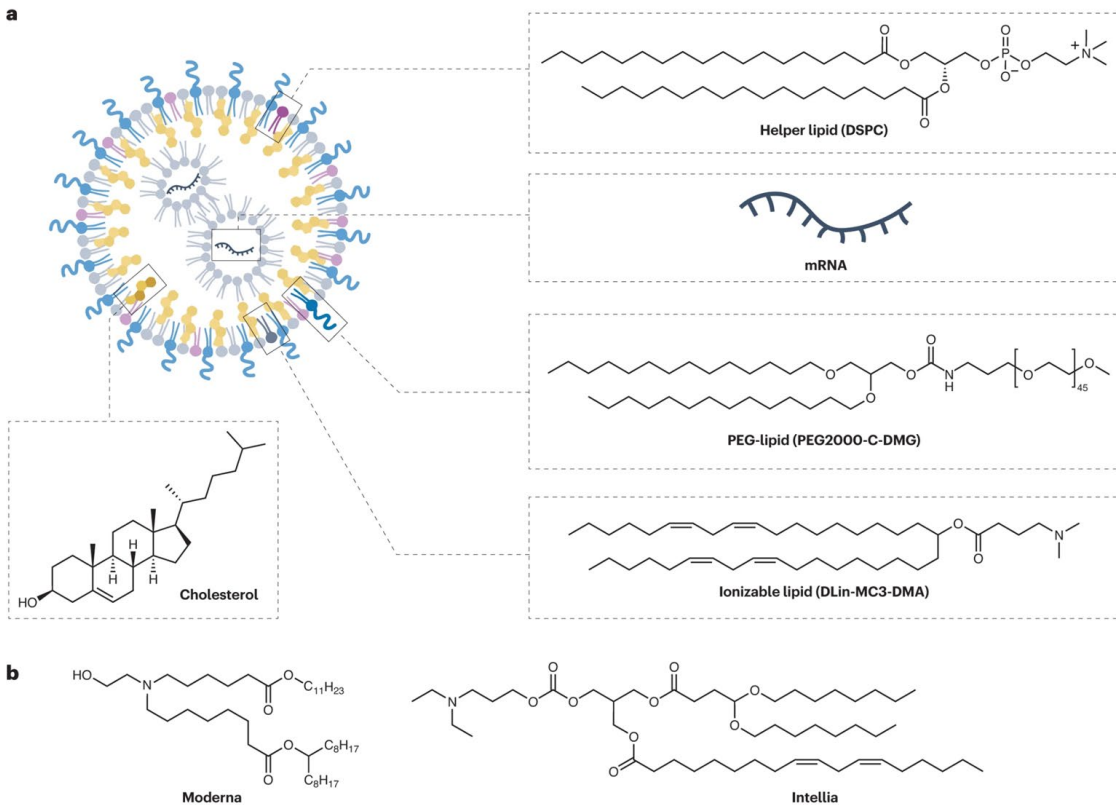


Cas12f, Cas12j 1,2 Kb - 2,1 Kb

- + модификации (суммарно до 9 Kb)
- + матрица для интеграции (дополнительно до 6 Kb)

# Lipid nanoparticle (LNP)

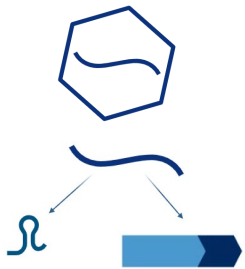
- низкая иммуногенность
- высокая ёмкость
- в клинике только для печени



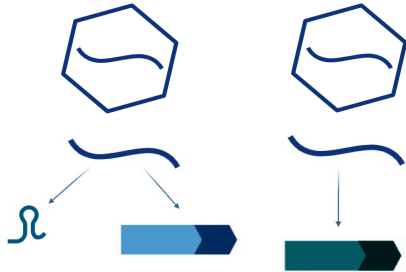
# Adenoassociated viral vectors (AAV)

- маленькая ёмкость
- широкая тропность
- низкая иммуногенность капсида
- широко используется в клинике

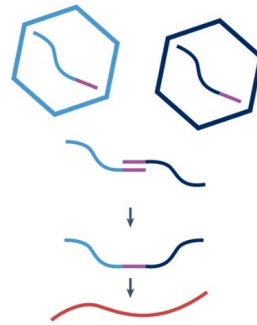
Single particle



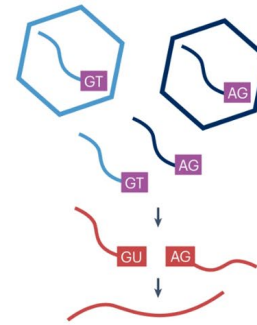
Double AAV particles



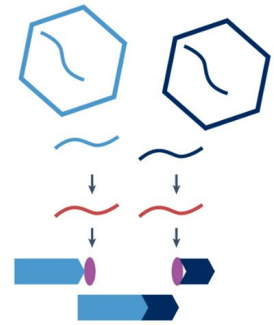
Overlapping



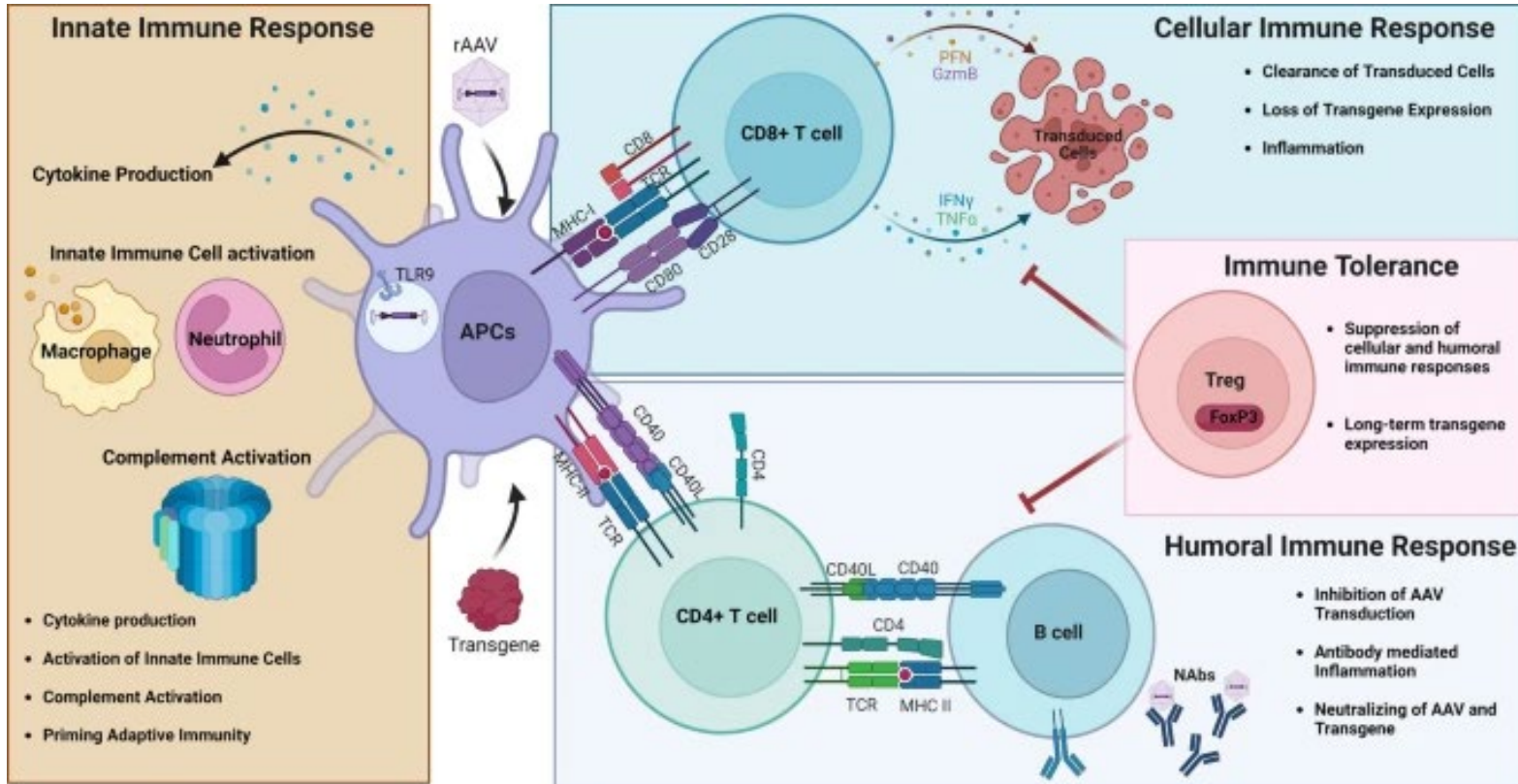
*Trans* - splicing



Split intein



# Иммунный ответ на капсид и трансген



# Факторы иммуногенности

## Enhanced Transgene Immunogenicity

## Reduced Transgene Immunogenicity

### Host - Specific Factors

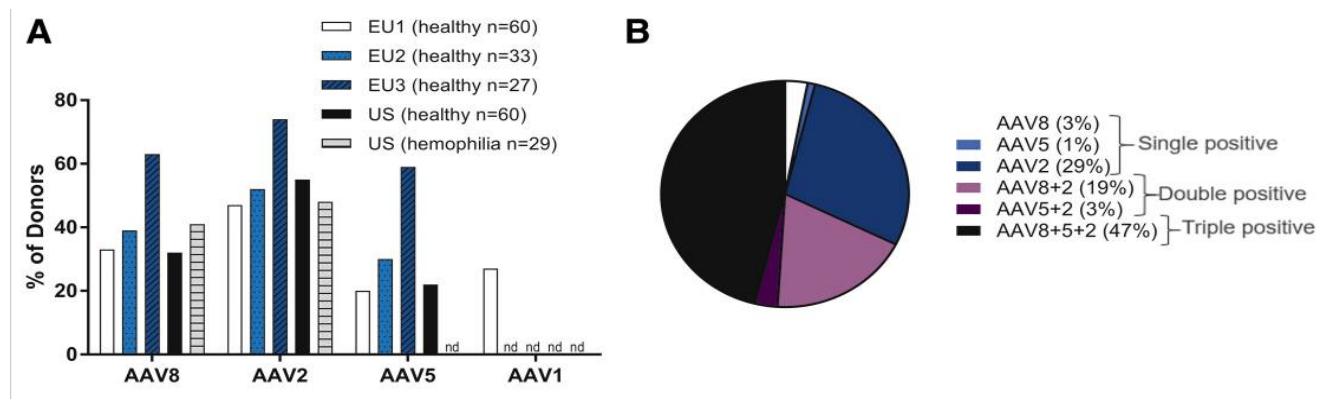
Underlying mutation	null mutations (CRIM-negative)	missense mutations (CRIM-positive)
Disease-specific changes in target tissue	presence of inflammation, immunity against self-protein, immune system alterations	healthy
Previous exposure to recombinant protein	naive patients or patients with inhibitors against recombinant protein	selection of patients with no inhibitors against recombinant protein

### Vector - Specific Factors

Route of administration	intramuscular	systemic, immunoprivileged organ
Promoter	strong, constitutive, muscle specific	liver-specific
Vector genome	self-complementary, CpG rich, dsRNA	single stranded, CpG low, disruption of ITR promoter activity
Transgene	intracellular, highly glycosylated, large	secretable, native glycosylation pattern, small
Vector dose	low hepatocellular expression	high hepatocellular expression

# Ограничения в применении генотерапий на основе AAV

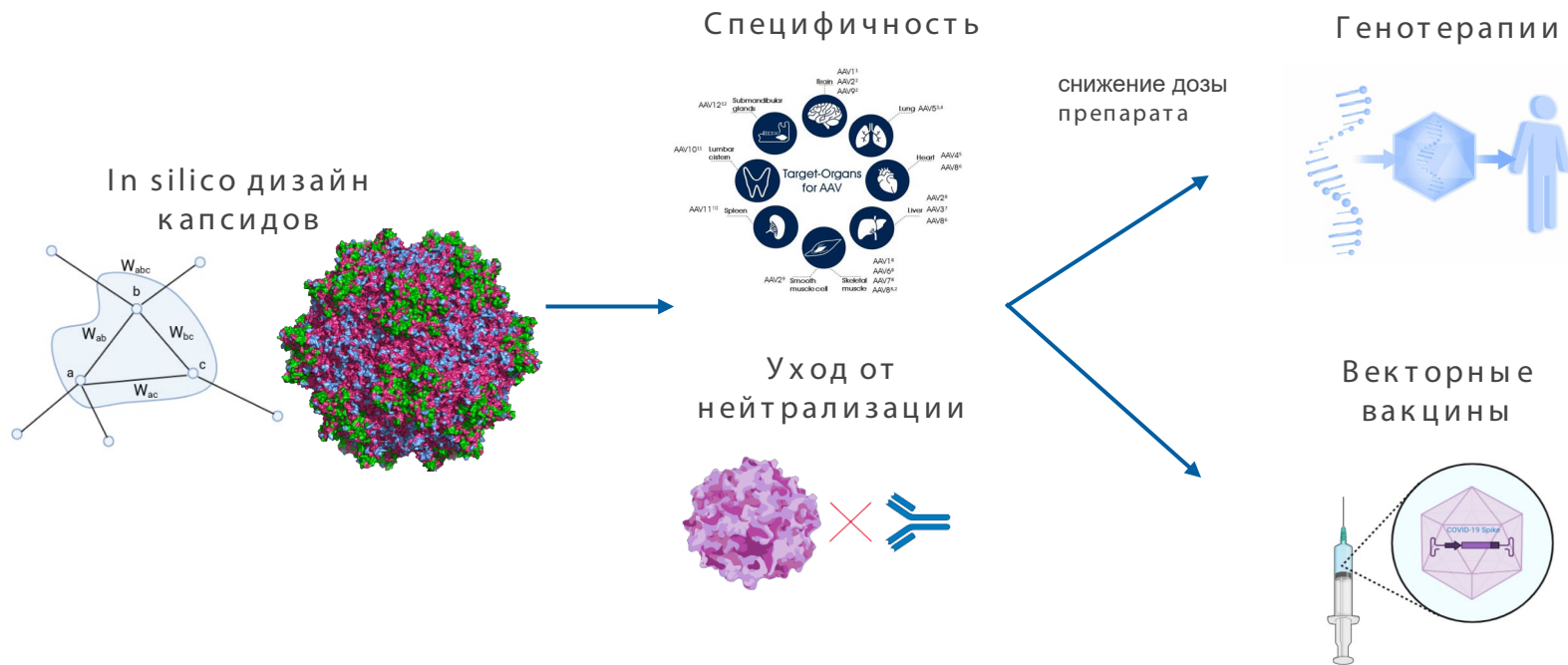
Предсуществующий иммунитет к природным серотипам AAV среди когорт здоровых доноров и больных гемофилией



12 августа 2022 · Бизнес

**Два ребенка со СМА умерли в России и Казахстане при лечении препаратом «Золгенсма»**

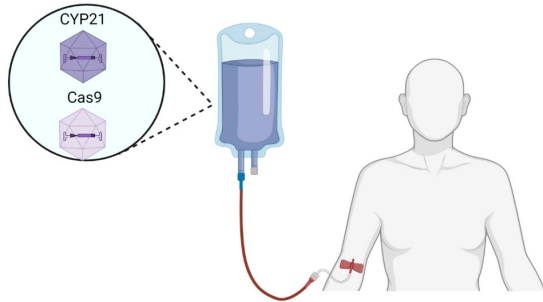
# Синтетические аденоассоциированные вирусные векторы



# Врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН)

Дефицит 21-гидроксилазы: более 90% пациентов с ВДКН

Частота встречаемости в России: 1:9 500 новорожденных

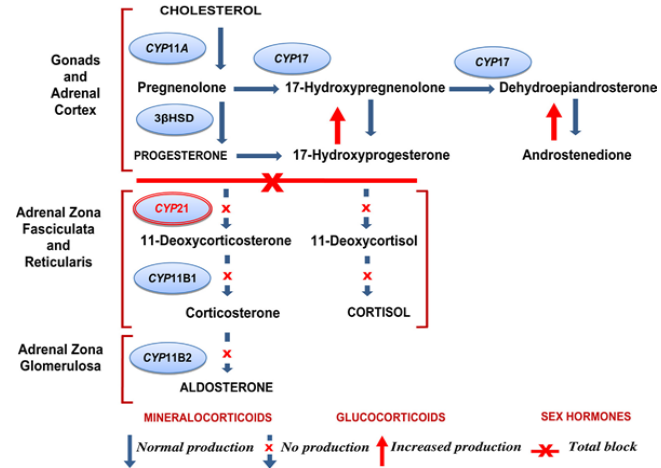
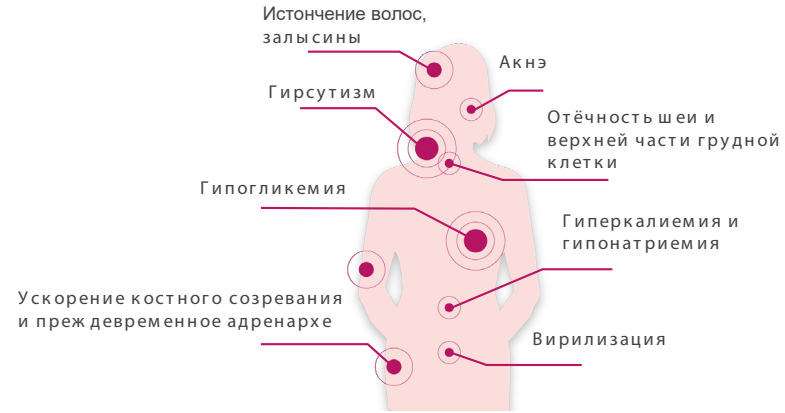


Injection of therapeutic AAV particles



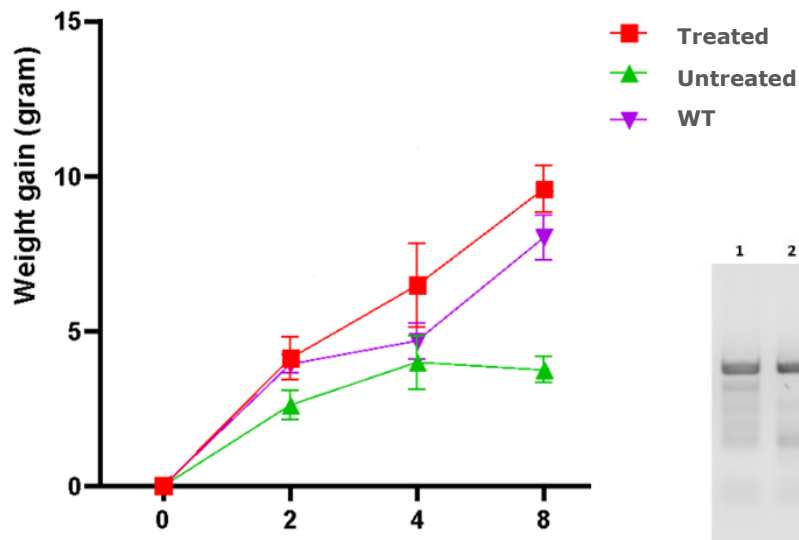
novel sequence insertion

restoration of normal steroidogenesis

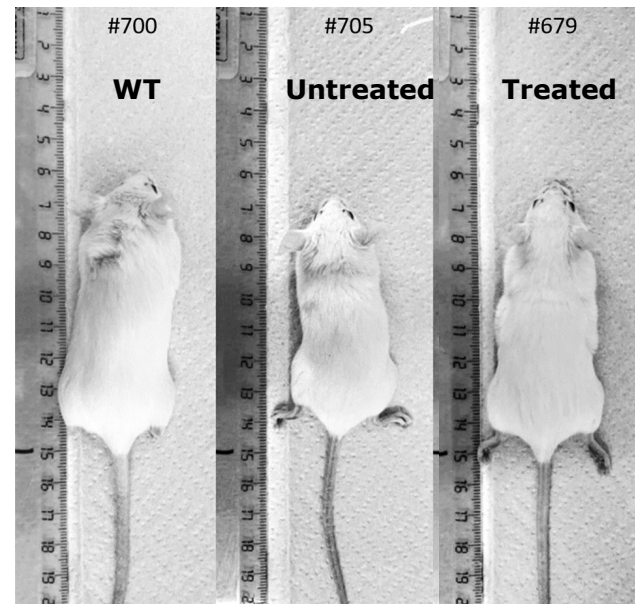
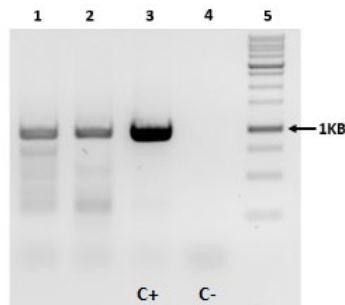




# Текущие результаты



Прирост веса, недели



8 недель после инъекции

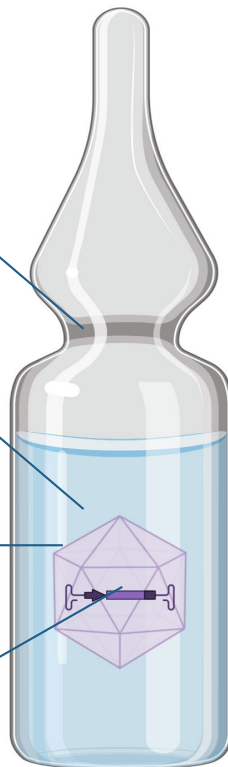
# Разработка генотерапевтического препарата - создание множества продуктов и технологий

Лекарственная форма

Применение конкретного вектора для генотерапии

Конструкция со всеми регуляторными элементами и оптимизациями

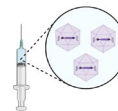
Комбинация вектор + конструкция



Дополнительно:



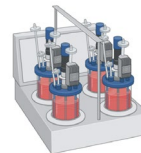
Мышиная модель, использованная при разработке



Способ введения препарата



Линии и штаммы - производители



Технологии производства

# Центр живых систем МФТИ

