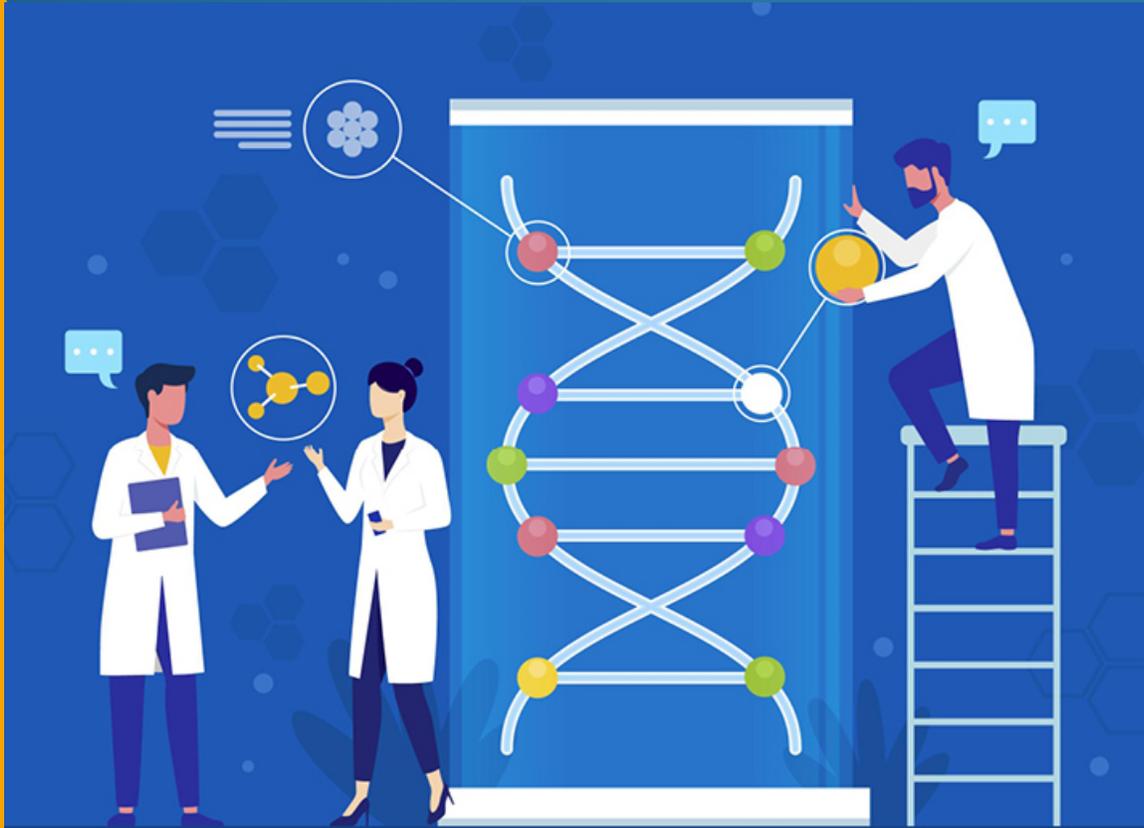




AFC
Associazione Italiana
Fibrosi Cistica



I WEBINAR DEL MARTEDÌ

Nuovi approcci terapeutici per
mutazioni “non sense” o rare

31 MAGGIO h. 17.00

PARTECIPA → [zoom](#)



Nuovi approcci terapeutici per mutazioni non sense o rare

- Medicina di precisione  medicina personalizzata
- Nella FC ad ogni mutazione  la sua terapia



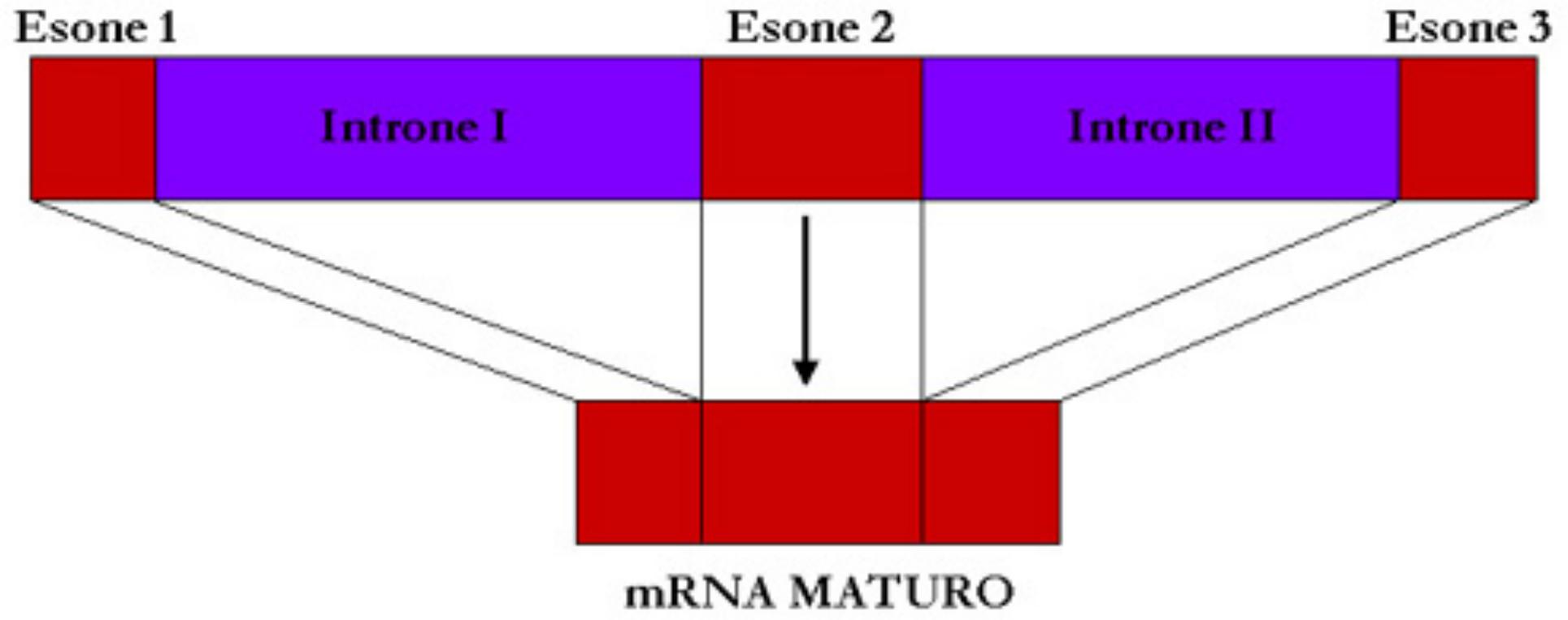
- Come saggiare l'attività dei nuovi farmaci su cellule o tessuti di pz FC?
 - Colture di cellule bronchiali
 - Organoidi intestinali
 - Cellule epiteliali nasali da brushing



Struttura di un gene



TRASCritto PRIMARIO DI RNA



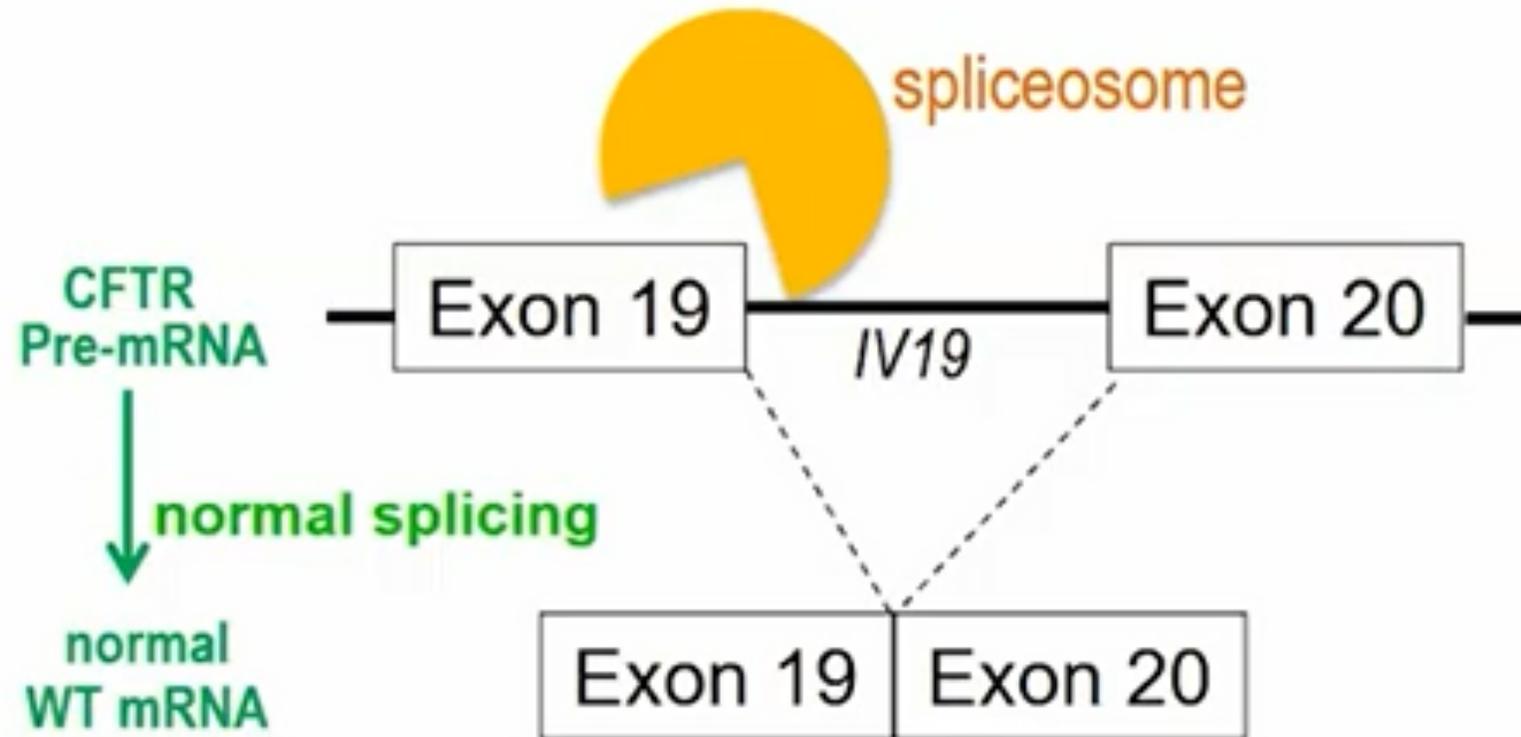


Quali sono le mutazioni nella FC*

- **Mutazioni nonsense**: includono in un certo punto della sequenza DNA (variabile a seconda della mutazione) una tripletta di basi (codone) che impartisce il segnale di interruzione della sintesi di proteina CFTR: si chiamano anche mutazioni “stop”. La proteina che ne risulta è troncata e **viene rimossa**
- **Mutazioni missense**: mutazioni per cui si ha uno scambio di tripletta di basi nella sequenza del DNA: ciò comporta che in un certo punto della catena proteica un aminoacido è sostituito da un altro. Questa sostituzione non fa rimuovere la proteina ma può determinare una più o meno **grave alterazione funzionale**, in dipendenza dal punto della catena e dal tipo di aminoacido che è stato sostituito. In Italia sono complessivamente circa il 7% di tutte le mutazioni: la più frequente (circa 5%) è la **N1303K**.
- **Mutazioni frameshift**: molto rare (e spesso difficili da riconoscere con le tecniche correnti) e determinano una profonda alterazione della sequenza del gene attraverso la **inserzione** (aggiunta) oppure la **delezione** (amputazione) di larghi tratti di DNA, che sostanzialmente impediscono la sintesi della proteina CFTR. In Italia sono complessivamente meno dello 0.5%: ne sono esempio la 541delC o la 3667ins4 (“del” o “ins” stanno per delezione o inserzione).
- **Mutazioni splicing**: lo “splicing” è il meccanismo per cui l’informazione genetica contenuta nei tratti di DNA “codificanti” del gene (detti “esoni”) viene trasferita al RNA messaggero, che presiede alla sintesi della proteina. Il meccanismo di splicing è regolato da porzioni “non codificanti” del gene (dette “introni”). Le mutazioni **splicing**, a differenza di tutte le altre, sono localizzate negli **introni** e **non** negli **esoni**. Tali mutazioni disordinano la trasmissione del codice impedendo in misura maggiore o minore, a seconda del tipo di mutazione, la sintesi di una proteina CFTR normale: in sostanza con queste mutazioni si avrà in proporzioni diverse una quota di CFTR normale ed una quota di CFTR alterata o assente. La situazione clinica di chi ha queste mutazioni dipende da quanta CFTR normale viene conservata nella sintesi



Normal CFTR splicing





Frequenza mutazioni CFTR in Italia da Report RIFC 2020

• F508del*	62%
• Non sense (stop)	20,6%
• Gating*	3,4%
• Altre	14%

*mutazioni corrette da modulatori CFTR



Fondazione Italiana
Fibrosi Cistica

Restore CFTR Function [Learn more >](#)

Pre-clinical	Phase One	Phase Two	Phase Three	To Patients
Ellexacaftor + tezacaftor + ivacaftor (Trikafta®) >				✓
Ivacaftor (Kalydeco®) >				✓
Lumacaftor + ivacaftor (Orkambi®) >				✓
Tezacaftor + ivacaftor (Symdeko®) >				✓
VX-121 + tezacaftor + VX-561 >				
ABBV-2222 (formerly GLPG2222) >				
ABBV-3067 >				
ELX-02 >				
VX-561 (formerly CTP-656) >				
ABBV-191 >				
MRT5005 >				

Fase preclinica

>	Arcturus Therapeutics >
>	Icagen, Inc. >
>	Pioneering Medicines >
>	Reata Pharmaceuticals >
>	ReCode Therapeutics >
>	SalioGen Therapeutics >
>	Southern Research Institutes >
>	Spirovant Sciences >
>	SpliSense >



La via verso la cura

Path to a Cure, è un programma di ricerca della CFF per accelerare lo sviluppo di farmaci per la causa della malattia e, infine, per fornire una cura. Questi approcci includono lo sviluppo di trattamenti che annullano le mutazioni di arresto prematuro, nonché terapie che riparano o sostituiscono l'acido ribonucleico messaggero codificato CFTR (mRNA) o l'acido desossiribonucleico (DNA) che viene utilizzato come modello per creare la proteina CFTR.



NextGen Gene Therapeutics to Treat All People with CF

I modulatori possono dare beneficio ad una alta percentuale di pazienti FC

ma

L'obiettivo futuro è quello di una terapia efficace per tutti i pazienti specialmente per i "non responders" ai modulatori.

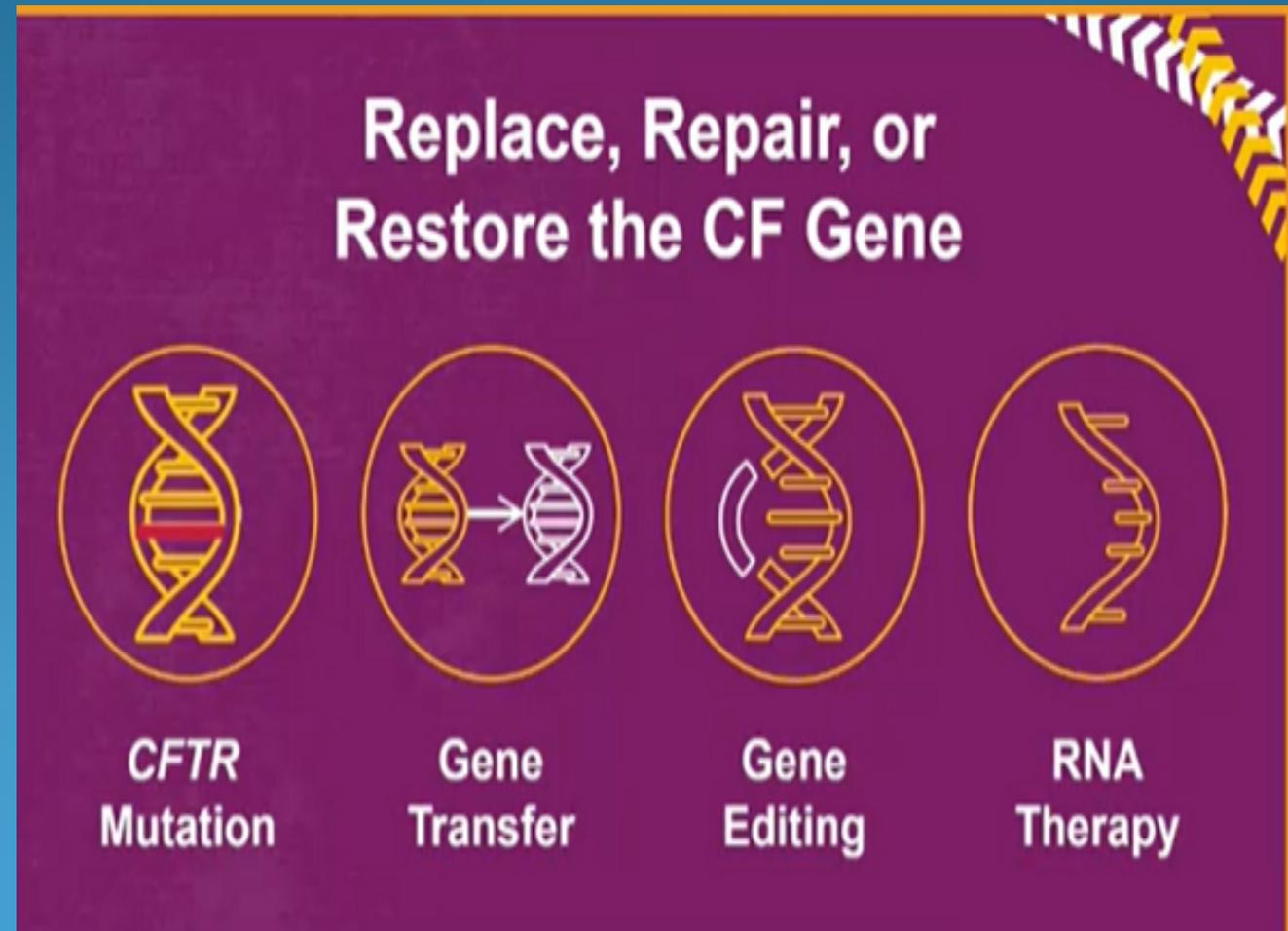


Nuovi approcci terapeutici per mutazioni non sense o rare

- Circa il 15 - 20% delle persone con FC ha due mutazioni rare (tra cui mutazioni non sense e missense, difetti di splicing, frameshift, inserzioni e delezioni). Si prevede che circa il **3%** di questi individui abbia mutazioni che possono rispondere ai modulatori CFTR.
- Attraverso un processo chiamato "**theratyping**", si stanno effettuando test di laboratorio per identificare le mutazioni che rispondono ai modulatori CFTR attualmente approvati.
- Se il test in vitro mostrerà risultati positivi, occorrerà ottenere la prescrivibilità del farmaco e la rimborsabilità

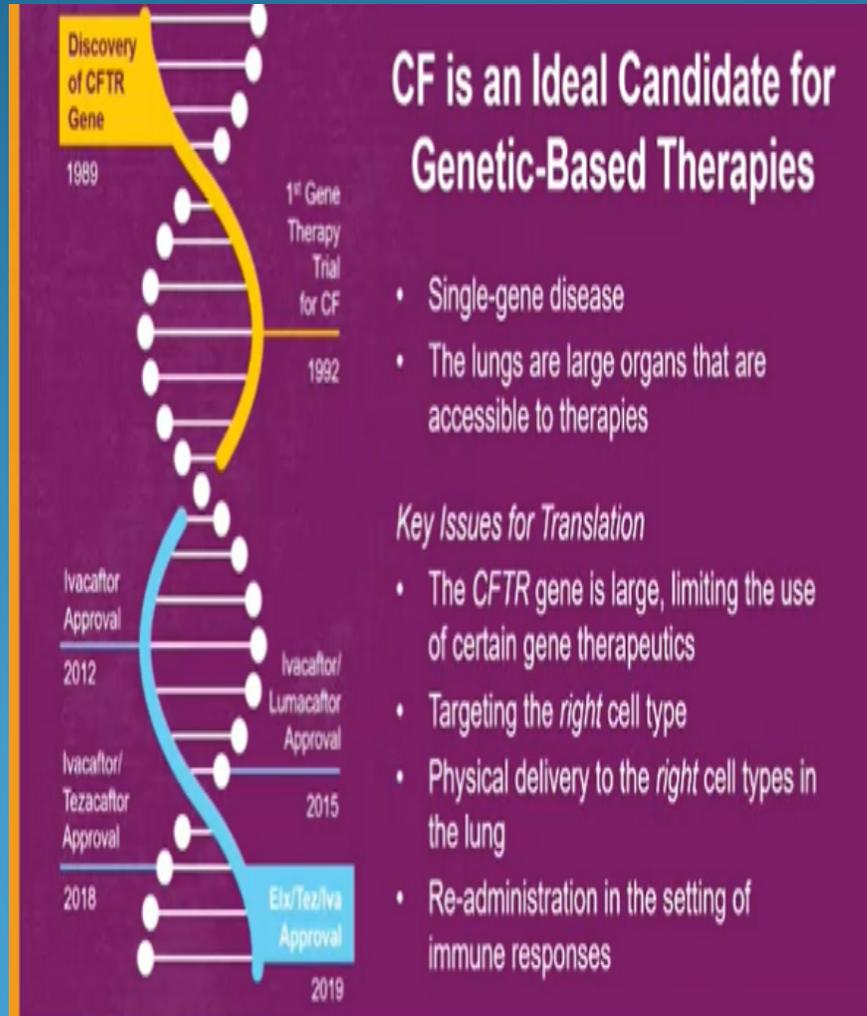


Obiettivi della ricerca nella FC





NextGen Gene Therapeutics to Treat All People with CF



La FC è una candidata ideale per le terapie genetiche
E' una malattia monogenica
I polmoni sono organi accessibili alle terapie.

Problemi chiave:

Il gene *CFTR* è grande e quindi limita l'uso di terapie genetiche sicure.

Colpire i target cellulari corretti
Ripetere la somministrazione nel contesto della risposta immunitaria.



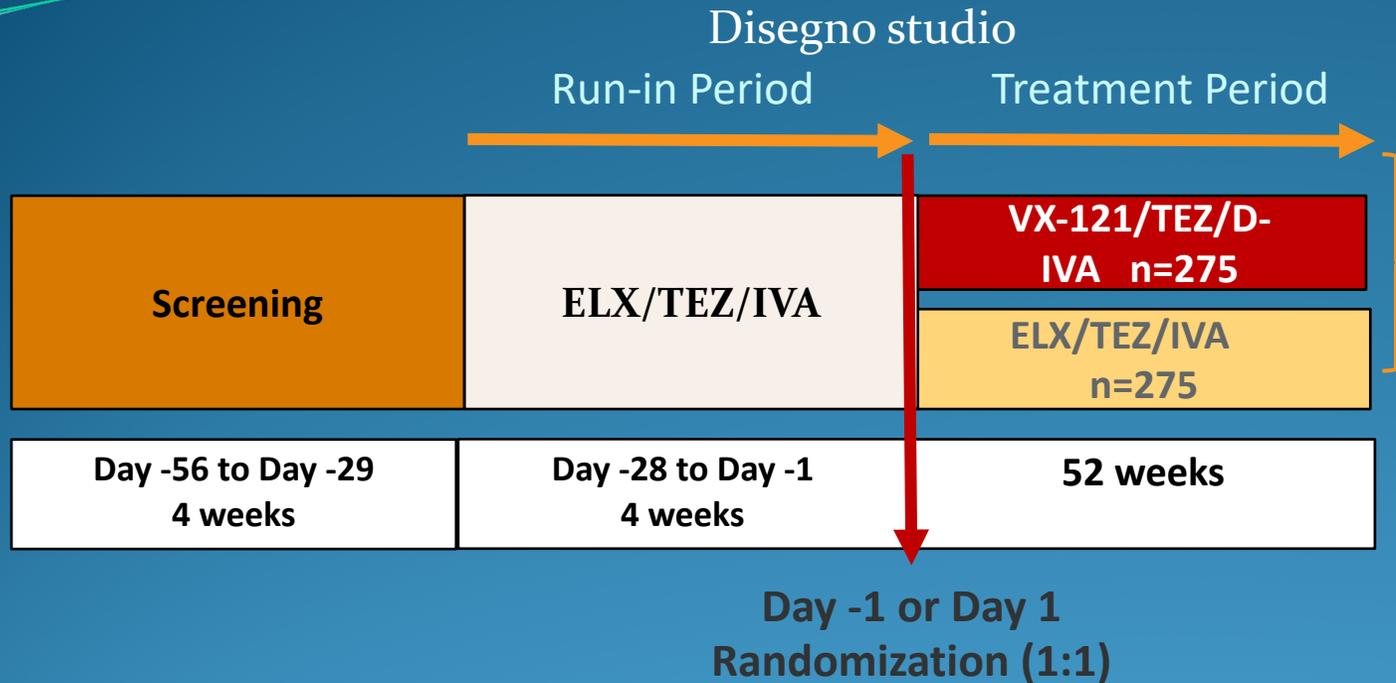
FIGC
Federazione Italiana
Calcio

PROGETTI VERTEX

STUDIO: VX20-121-102/103

STUDIO: VX21-445-124

VX20-121-102/103: studio in doppio cieco con nuovo farmaco (VX121/TEZ/D_IVA) vs KAFTRIO, che interesserà: F/F, F/MF, F/G, F/RF, nonF



Questo studio verificherà la possibilità di una dose singola giornaliera di farmaco utilizzando un comparatore attivo. Ciò significa che alcuni partecipanti riceveranno il farmaco in studio o un placebo al mattino, mentre altri riceveranno Trikafta® (elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor) o un placebo al mattino e ivacaftor o un placebo la sera. Verranno usati come outcome: i cambiamenti nella funzione polmonare (ppFEV1%), e la misura del cloro nel sudore.



VX20-121-102/103

Genotipi da includere

III. Exhaustive list of qualifying mutations:

1) Homozygous for F508del

Mutation 1	Mutation 2
F508del	F508del

2) Heterozygous for F508del and a Gating (F/G) or Residual Function (F/RF) Mutation

Mutation 1	Mutation 2
F508del	Gating Mutations*

* These mutations are characterized as "gating" for the purpose of this trial based on precedent set in prior studies

Qualifying Gating Mutations			
G1069R	G178R	R1070Q	S1255P
G1244E	G551D	R117H	S549N
G1349D	G551S	S1251N	S549R

Mutation 1	Mutation 2
F508del	Residual Function Mutations

Qualifying Residual Function Mutations			
2789+5G>A	D110H	F1052V	R347H
3272-26A>G	D1152H	F1074L	R352Q
3849+10kbC>T	D1270N	K1060T	R74W
711+3A>G	D579G	L206W	S945L
A1067T	E193K	P67L	S977F
A455E	E56K	R1070W	
D110E	E831X	R117C	

Mut1: F508del
Mut 2: Minimal Function

3) Have At Least 1 Other Triple Combination Responsive CFTR Mutation and No F508del Mutation

Mutation 1	Mutation 2
Any, <u>except for F508del</u>	ELX/TEZ/IVA Responsive Mutations

Qualifying ELX/TEZ/IVA Responsive Mutations			F1099L	M1101K	T1053I
3141del9	G1069R	R117H	G27R	P5L	V201M
546insCTA	G1244E	R117L	G85E	P67L	V232D
A46D	G1249R	R117P	G126D	P205S	V456A
			G178E	P574H	V456F
A234D	H139R	R258G	G178R	Q88R	V562I
A349V	H199Y	R334L	G194R	Q237E	V754M
A455E	H939R	R334Q	G194V	Q237H	V1153E
A54E	H1054D	R347H	G314E	Q359R	V1240G
A1006E	H1085P	R347L	G463V	Q1291R	V1293G
A1067T	H1085R	R347P	G480C	R31L	W361R
D110E	H1375P	R352Q	G551D	R74Q	W1098C
D110H	I148T	R352W	G551S	R74W	W1282R
D192G	I175V	R553Q	G576A	R74W;D1270N [†]	Y109N
D443Y	I336K	R668C	G576A;R668C [†]	R74W;V201M [†]	Y161D
D443Y;G576A;R668C [†]	I502T	R751L	G622D	R74W;V201M;D1270N [†]	Y161S
D579G	I601F	R792G	G628R	R75Q	Y563N
D614G	I618T	R933G	G970D	R117C	Y1014C
D836Y	I807M	R1066H	G1061R	R117G	Y1032C
D924N	I980K	R1070Q			
D979V	I1027T	R1070W			
D1152H	I1139V	R1162L			
D1270N	I1269N	R1283M			
E56K	I1366N	R1283S			
E60K	K1060T	S13F			
E92K	L15P	S341P			
E116K	L165S	S364P			
E193K	L206W	S492F			
E403D	L320V	S549N			
E474K	L346P	S549R			
E588V	L453S	S589N			
E822K	L967S	S737F			
F191V	L997F	S912L			
F311del	L1077P	S945L			
F311L	L1324P	S977F			
F508C	L1335P	S1159F			
F508C;S1251N [†]	L1480P	S1159P			
F575Y	M152V	S1251N			
F1016S	M265R	S1255P			
F1052V	M952I	T338I			
F1074L	M952T	T1036N			

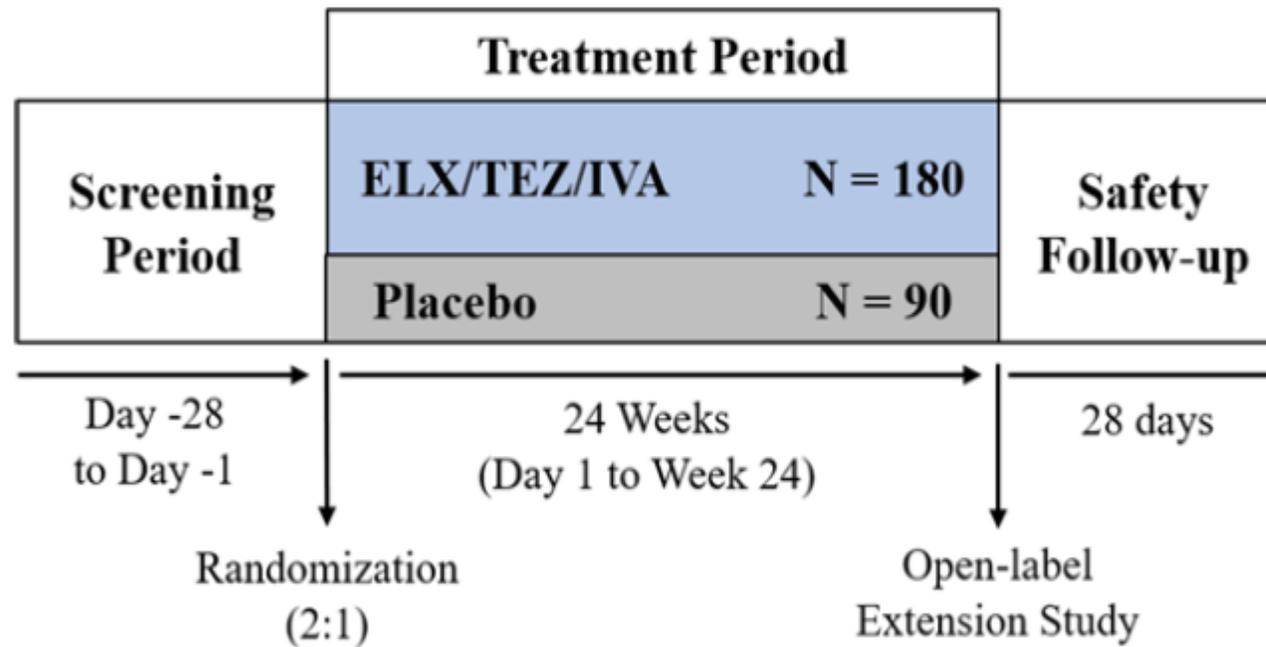
[†] Complex/compound mutations where a single allele of the CFTR gene has multiple mutations; these exist independent of the presence of mutations on the other allele.



VX21-445-124

Studio di fase 3, doppio cieco, randomizzato **KAFTRIO VS PLACEBO**, che interesserà **pazienti non-F, non Gating**, che abbiano almeno 1 delle 8 mutazioni della tabella RF-like o MF-like

Figure 2-1 Study VX21-445-124 Design





GENOTIPI CFTR ELEGGIBILI

Per essere eleggibili all'arruolamento i soggetti devono rispettare ambedue i seguenti criteri:

- Avere **almeno 1 mutazione responsiva a ELX/TEZ/IVA** elencata nella tabella 15-1.
- Non avere alcuna mutazione di esclusione** elencata nella tabella 15-2. Infatti i soggetti con queste mutazioni sono eleggibili per il trattamento con ELX/TEZ/IVA (Kaftrio) e i soggetti con le mutazioni rimanenti sono eleggibili per il trattamento con IVA (Kalydeco).

Il soggetto con 1 mutazione eleggibile e 1 mutazione di esclusione non sarà eleggibile

Table 15-1 Eligible ELX/TEZ/IVA-responsive CFTR mutations

RF-like mutations		MF-like mutations	
2789+5G>A	3849+10kbC>T	L206W	G85E
3272-26A>G	A455E	D1152H	R347P

Nota: il soggetto deve avere almeno 1 delle mutazioni elencate sopra per essere eleggibile per lo studio

Table 15-2 Exclusionary CFTR mutations

F508del	G1244E	G551S	S549N
R117H	G1349D	S1251N	S549R
G551D	G178R	S1255P	

Nota: se il soggetto ha una delle mutazioni elencate sopra non sarà eleggibile per lo studio



Mutazioni di classe I “non sense” o stop

Le mutazioni non sense (note anche come mutazioni "x" o "stop") causano l'arresto prematuro della produzione della proteina CFTR. Ciò porta a una proteina ridotta e non funzionale che la cellula riconosce come difettosa e distrugge. Sono in corso ricerche per individuare i composti che potrebbero consentire al meccanismo di produzione delle proteine della cellula di ignorare i segnali di arresto prematuro in modo da poter produrre una proteina a lunghezza intera. Questi composti sarebbero conosciuti come agenti readthrough perché potrebbero "leggere" i segnali di arresto prematuro.

ma

Le mutazioni non sense riducono anche **la quantità di tempo** in cui l'mRNA che codifica per la proteina CFTR rimane nella cellula, diminuendo così la quantità di proteina che può essere prodotta. Pertanto, si sta anche studiando il modo per stabilizzare selettivamente l'mRNA in modo che non si degradi così velocemente.



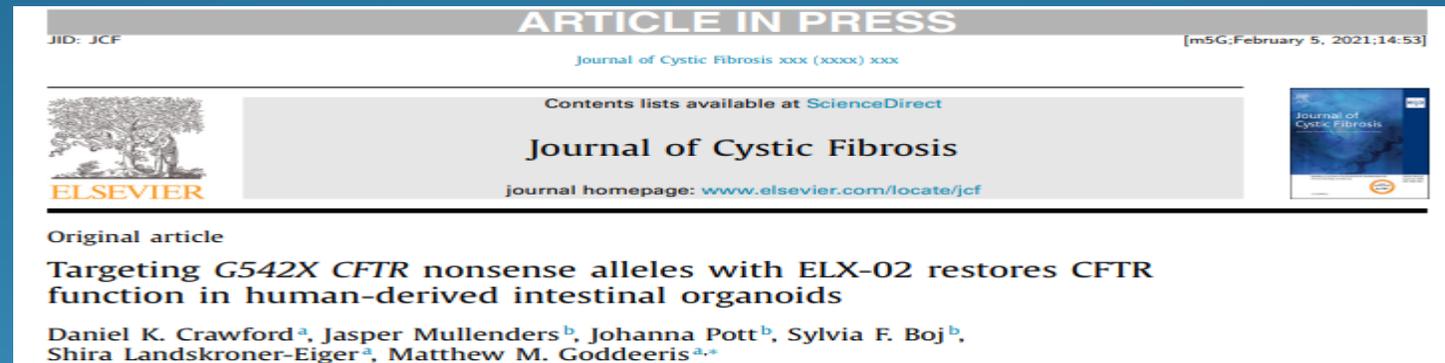
AFC
Associazione Italiana
Fibrosi Cistica

ELX-02

Mutazioni di classe I “non sense”



CLASS 1 CYSTIC FIBROSIS (CF) WITH NONSENSE MUTATIONS



Background: la produzione di proteina CFTR a lunghezza intera è fondamentale per le persone con alleli non sense della fibrosi cistica (FC). ELX-02 promuove la lettura completa delle trascrizioni di mRNA recanti mutazioni non senso, incluso l'allele CF G542X, in diversi modelli preclinici, comprese le cellule epiteliali bronchiali umane. Nel lavoro viene valutato il read-through mediato da ELX-02 utilizzando il test FIS (rigonfiamento indotto da forskolina) dipendente da CFTR su una selezione di organoidi (PDO) derivati dal paziente con genotipo G542X.



ELX-02

CLASS 1 CYSTIC FIBROSIS (CF) WITH NONSENSE MUTATIONS

Metodi:

- il ripristino funzionale CFTR è stato valutato in organoidi (PDO) di pz omozigoti ed eterozigoti G542X trattati con ELX-02 nel test FIS CFTR-dipendente.

Risultati:

- I PDO omozigoti o eterozigoti per G542X con un secondo allele MF avevano un'attività CFTR significativamente aumentata con ELX-02 in modo dose-dipendente con diverse concentrazioni di induzione della forskolina.
- Gli incrementi funzionali sono simili a quelli ottenuti con tezacaftor/ivacaftor nelle PDO omozigoti F508del.

Inoltre, il trattamento ELX-02 di un PDO G542X/G542X ha comportato la normalizzazione dell'mRNA CFTR

Conclusioni: I dati con ELX-02 nei PDO sono coerenti con le precedenti valutazioni del modello G542X.

- I risultati ottenuti con ELX-02 su PDO devono essere supportati anche da trials clinici nei pazienti FC



Study of ELX-02 in adults with cystic fibrosis who have at least one G542X mutation (Eloxx EL-012)

Studio di fase 2 in aperto, con dosi in aumento per valutare la sicurezza, la tollerabilità, la farmacocinetica e la farmacodinamica di livelli multipli di dose di ELX-02 somministrato per via sottocutanea con e senza Ivacaftor in pazienti G542X

- **Obiettivo primario:**
- la sicurezza, la tollerabilità, la farmacocinetica e la farmacodinamica di ELX-02
- **Obiettivi secondari:**
- Verrà valutata la funzione polmonare (ppFEV1, ppFVC (ppFEF25-75) e il cloro sudorale
- **Materiale e metodo:**
- Pazienti adulti FC con almeno una mutazione G542X
- Dosi multiple crescenti di ELX-02 SC con e senza IVACAFTOR saranno testate in adulti FC che hanno almeno una mutazione G542X.



Criteri di inclusione:

- M e F ≥ 18 anni, diagnosi certa di FC , omozigoti o eterozigoti composti con G542X. Per gli eterozigoti una mutazione deve essere G542X o in alternativa un'altra mutazione di classe 1 e una seconda mutazione non di 1 o 2 classe.
- Test sudore ≥ 60 .
- FEV1 $\geq 40\%$ del predetto,
- BMI : 19-30 kg/m²

Criteri di esclusione:

- Partecipazione a uno studio con farmaco o dispositivo negli ultimi 30 giorni
- Storia di qualsiasi trapianto d'organo
- Intervento chirurgico maggiore entro 180 giorni (6 mesi) dallo screening
- Pazienti senza una precedente esposizione agli aminoglicosidi documentata che hanno una mutazione mitocondriale che ha dimostrato di aumentare la sensibilità agli aminoglicosidi
- Allergia nota a qualsiasi aminoglicoside
- Pazienti con qualsiasi anomalia allo screening ORL, che indica la presenza di una tossicità vestibolare associata a una precedente esposizione agli aminoglicosidi
- Pazienti trattati con modulatori CFTR entro 2 mesi dal trattamento in studio.



In totale, saranno arruolati nello studio fino a 16 pazienti; fino a 4 pazienti saranno omozigoti per G542X e i restanti pazienti saranno eterozigoti composti con un G542X o un allele non senso fenotipicamente simile e qualsiasi mutazione di Classe 1 o Classe 2. Ogni paziente riceverà fino a 5 dosi crescenti come segue:

ELX-02 0,3 mg/kg al giorno SC,

ELX-02 0,75 mg/kg al giorno SC,

ELX-02 1,5 mg/kg al giorno SC

Una dose individualizzata di ELX-02, fino a 3,0 mg/kg al giorno SC, in base alla sicurezza e tollerabilità osservate dai pazienti, alla farmacocinetica alle dosi precedenti e ai risultati dei test di laboratorio.

ELX-02 1,5 mg/kg al giorno SC più 150 mg di ivacaftor ogni 12ore x os.



AFC
Associazione Italiana
Fibrosi Cistica

RNA Therapy



RNA Therapy

- La terapia con acido ribonucleico (RNA) è un potenziale trattamento per pazienti con mutazioni “non sense” e rare che potrebbe anche **giovare a tutti i pazienti FC, *indipendentemente dalla loro mutazione.***
- **Il primo approccio** consiste nel fornire il normale mRNA CFTR alle cellule che devono produrre la proteina CFTR.
- **Il secondo approccio** prevede il trasferimento dell'RNA (tRNA), un componente chiave nella capacità della cellula di tradurre il DNA in una proteina.
- E' in studio un tRNA soppressore che consentirebbe alla cellula di leggere i segnali di arresto prematuro per produrre proteine CFTR a lunghezza intera.



Trials clinici su mRNA in FC

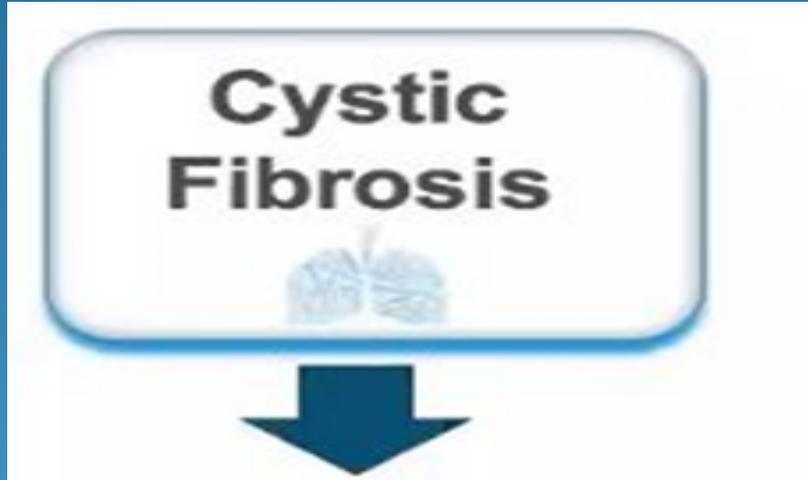
Approccio: mRNA inalato è contenuto in un sistema di rilascio spesso costituito da nanoparticelle

- Numeri molto piccoli
 - 4 bracci (placebo, 3 dosi differenti di mRNA)
 - FEV1 migliore nei 2 bracci con dosi maggiori di trattamento
- Numeri piccoli
 - Dosi multiple somministrate settimanalmente
 - Dosaggi più alti
 - Necessario chiarire i parametri di dosaggio



ReCode

THERAPEUTICS



- 1) mRNA permette la costruzione di CFTR normale indipendentemente dalla mutazione presente
 - 2) tRNA per le mutazioni nonsense legge i codoni di stop come segnali per l'arginina per produrre una CFTR di lunghezza e funzione normale.
- Formulato in nanoparticelle lipidiche

- Bersaglio: le cellule bronchiali umane FC
- Recupero della funzione CFTR nelle cellule bronchiali umane
- Erogazione x aerosol nei polmoni murini
- Generalmente ben tollerato nelle cellule bronchiali umane e nel topo



CONCLUSIONI

tRNA per mutazioni nonsense

- Recupero funzionale su cellule bronchiali umane
- sia con somministrazione singola che con dosi ripetute
- Formulazione ben tollerata in colture di cellule bronchiali da pz FC

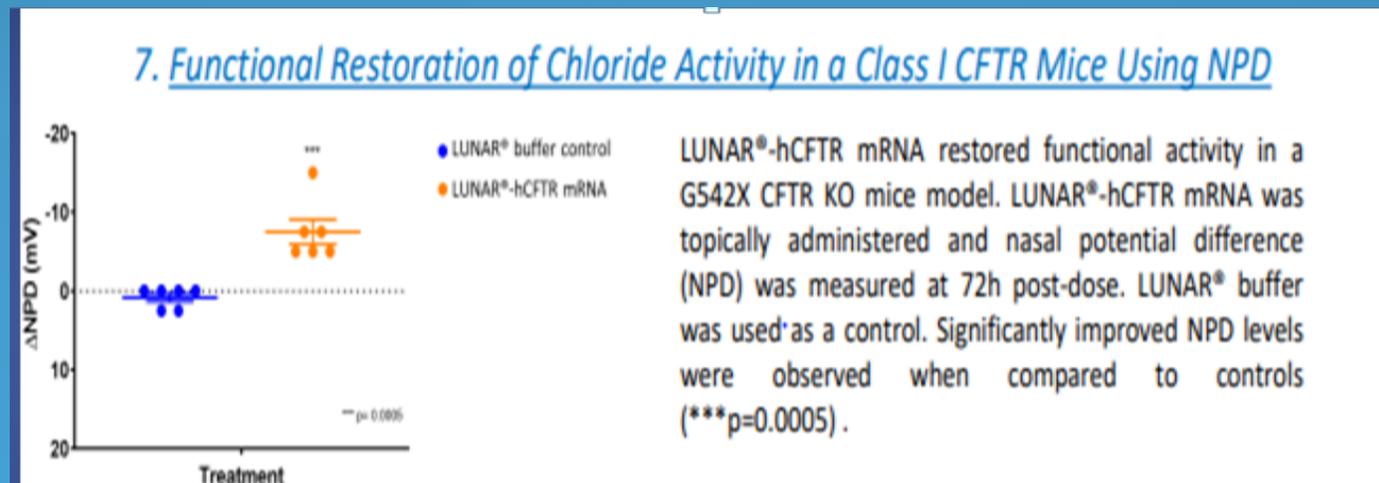
Sostituzione dell'mRNA

- Recupero funzionale su cellule bronchiali umane derivate da pz FC
- Risposta durevole
- mRNA rilasciato nelle cellule FC target con produzione di proteina
- Formulazione ben tollerata



LUNAR[®]-CF, un nuovo approccio terapeutico con mRNA per correggere la malattia polmonare della fibrosi cistica

- LUNAR[®]-CF è una terapia sostitutiva dell'mRNA, per aerosol per il trattamento della malattia polmonare nella fibrosi cistica ed è ***indipendente*** dal genotipo.
- Un mRNA CFTR umano incapsulato in LUNAR[®], **una nanoparticella lipidica**, è stato sviluppato per fornire l'mRNA nell'epitelio delle vie aeree. Le proprietà fisico-chimiche di LUNAR[®] erano stabili dopo l'aerosol. Le formulazioni LUNAR[®] che trasportano un mRNA sono state utilizzate per mostrare il coinvolgimento del bersaglio nell'epitelio delle vie aeree nei modelli animali di roditori (topo e ratto) e non roditori (furetto, primate non umano [NHP])





Benefici delle terapie con mRNA

- Trattamento indipendente dalla mutazione
- Recupero della funzione del CFTR senza alterazione del genoma.
- Terapie con mRNA sono già presenti nella sperimentazione clinica



Barriere alle terapie con Acidi Nucleici

- FC è una malattia multiorgano
- Via di somministrazione: sistemica vs aerosolica
quando somministrato x aerosol si muove nel muco
denso e vischioso
- Target cellulare specifico : cellule progenitrici
- Dosaggio ripetuto e risposta immunitaria



LIFC
Lega Italiana
Fibrosi Cistica

OLIGONUCLEOTIDI ANTISENSE



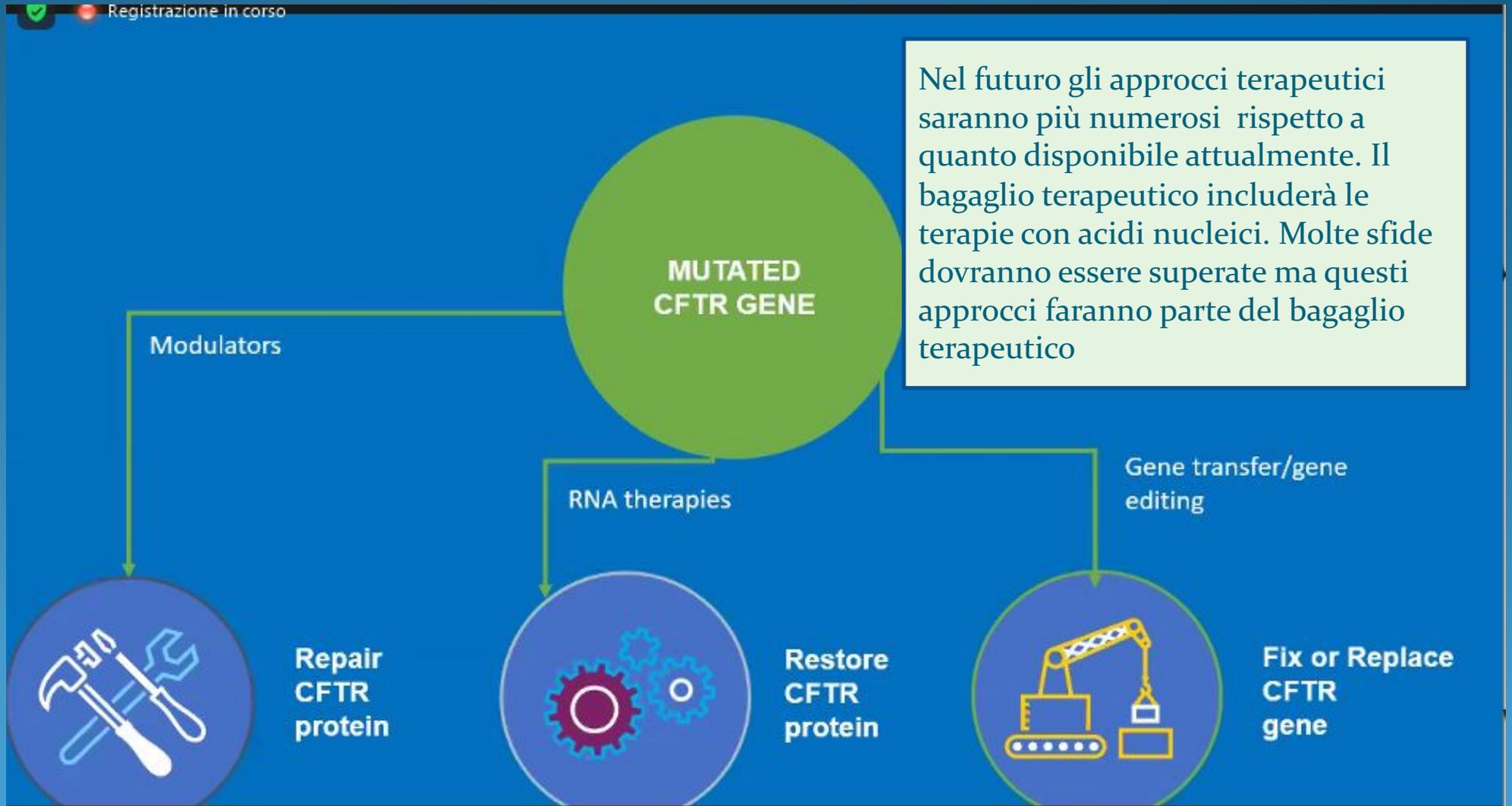
Antisense Oligonucleotide Therapy

- La terapia con oligonucleotidi antisenso (ASO) ha l'obiettivo di correggere gli effetti di mutazioni rare, come le mutazioni di **splicing**, che interrompono la produzione di RNA messaggero (mRNA).
- Poiché l'mRNA è necessario per produrre proteine CFTR, le mutazioni di splicing bloccano la sintesi delle normali proteine CFTR.
- Una mutazione di splicing si verifica quando c'è un'alterazione nella sequenza del DNA che cambia le istruzioni necessarie per generare correttamente l'mRNA.
- Gli ASO sono piccoli pezzi di DNA o RNA che si legano alla molecola di RNA e correggono queste istruzioni in modo da poter produrre una proteina CFTR a lunghezza intera.
- Gli oligonucleotidi, compresi gli ASO, forniscono un potenziale approccio terapeutico per diversi tipi di mutazioni CFTR e sono già utilizzati nel trattamento dell'atrofia muscolare spinale, alcune forme di distrofia muscolare e altre malattie genetiche.



Problema di rilascio degli oligonucleotidi

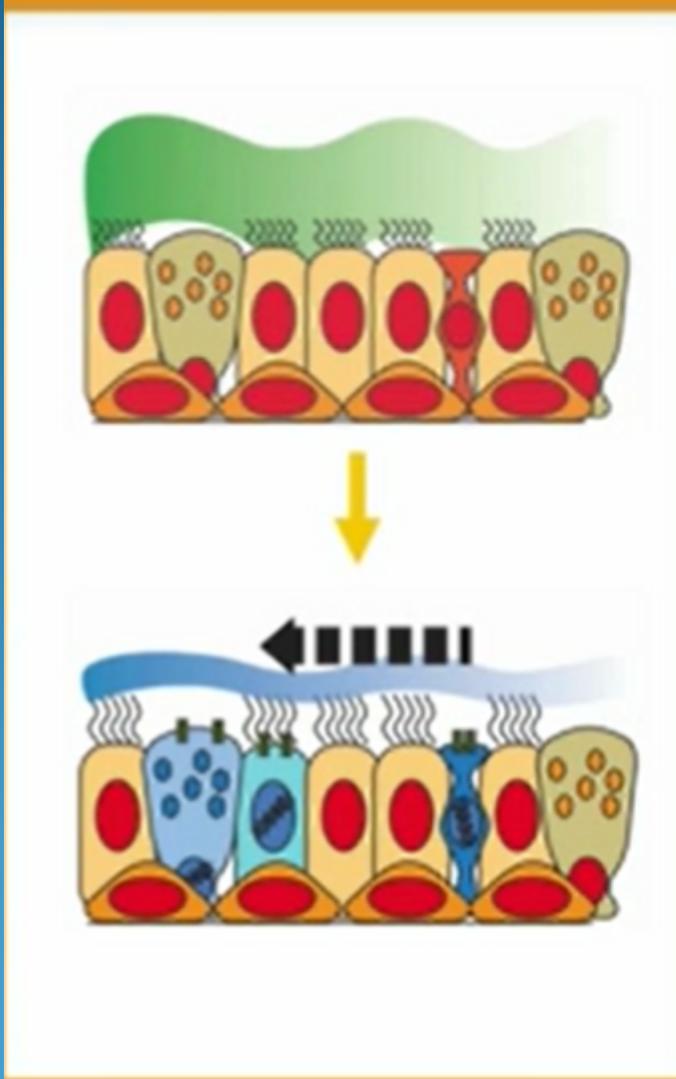
- Un inefficiente erogazione ai bersagli intracellulari costituisce il problema maggiore per le terapie basate sugli oligonucleotidi :
 1. Ottenere abbastanza oligonucleotidi nei tessuti interessati .
 2. superare l'intrappolamento non produttivo degli oligonucleotidi negli endosomi.
 3. Ottenere una erogazione ottimale senza aumento della tossicità





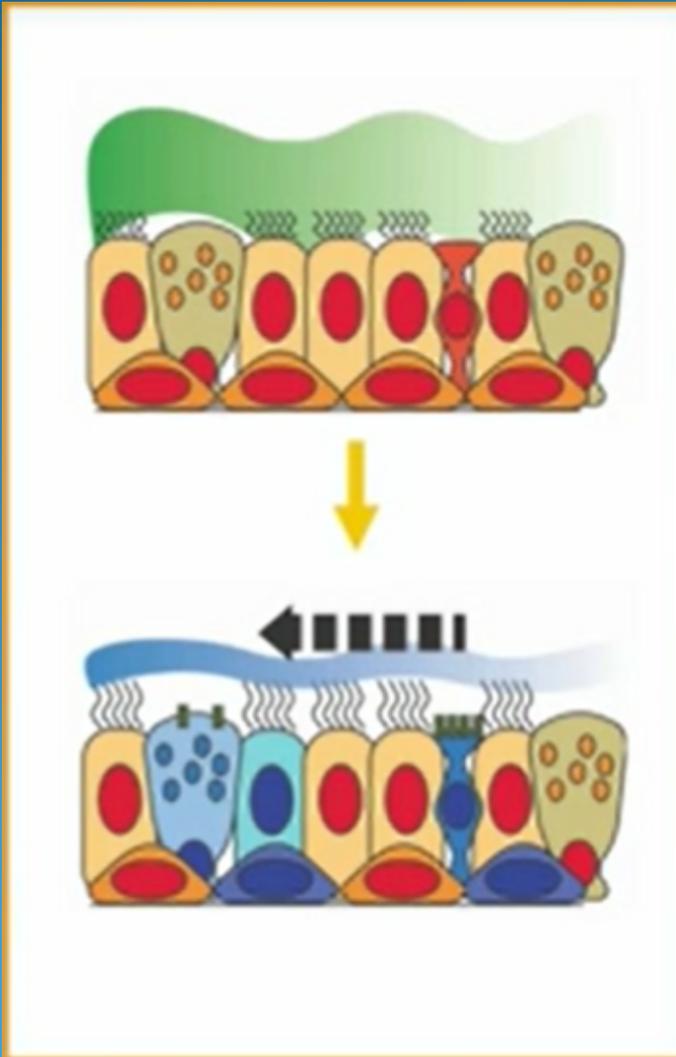
Gene Therapy and Gene Editing

- 2 strategie in studio per mutazioni non sense o rare ma utili anche per tutti i pz indipendentemente dalla mutazione
- Gene Adding → Sostituzione DNA
- Gene Editing → Riparazione DNA



Gene delivery

- Recupero della proteina CFTR indipendentemente dalla mutazione
- **Vettori virali** (AAV, lentivirus) con integrazione nel DNA cromosomiale ma non ancora totalmente sicuri
- **Vettori non virali**: nanoparticelle lipidiche, nanoparticelle di polimeri, innocui ma meno efficienti dei vettori virali
- Per un beneficio duraturo, il bersaglio devono essere le cellule basali



Gene editing

La correzione delle cellule basali determina una correzione a lungo termine delle cellule basali e della loro progenie

la modifica delle cellule basali può essere possibile tramite il targeting di proteine di superficie specifiche delle cellule basali

la correzione della cellula basale può richiedere un esaurimento transitorio delle cellule secretorie/ciliate



SIPCC
Società Italiana
Pneumologia e
Cura Critica

SPIROVANT



Spirovant

Ha l'obiettivo di migliorare il rilascio del gene CFTR ai polmoni da parte del virus adeno-associato per via inalatoria (AAV). Ciò consentirebbe alle cellule polmonari di creare una proteina CFTR normalmente funzionante, indipendentemente dalla specifica mutazione del gene CFTR di un individuo.



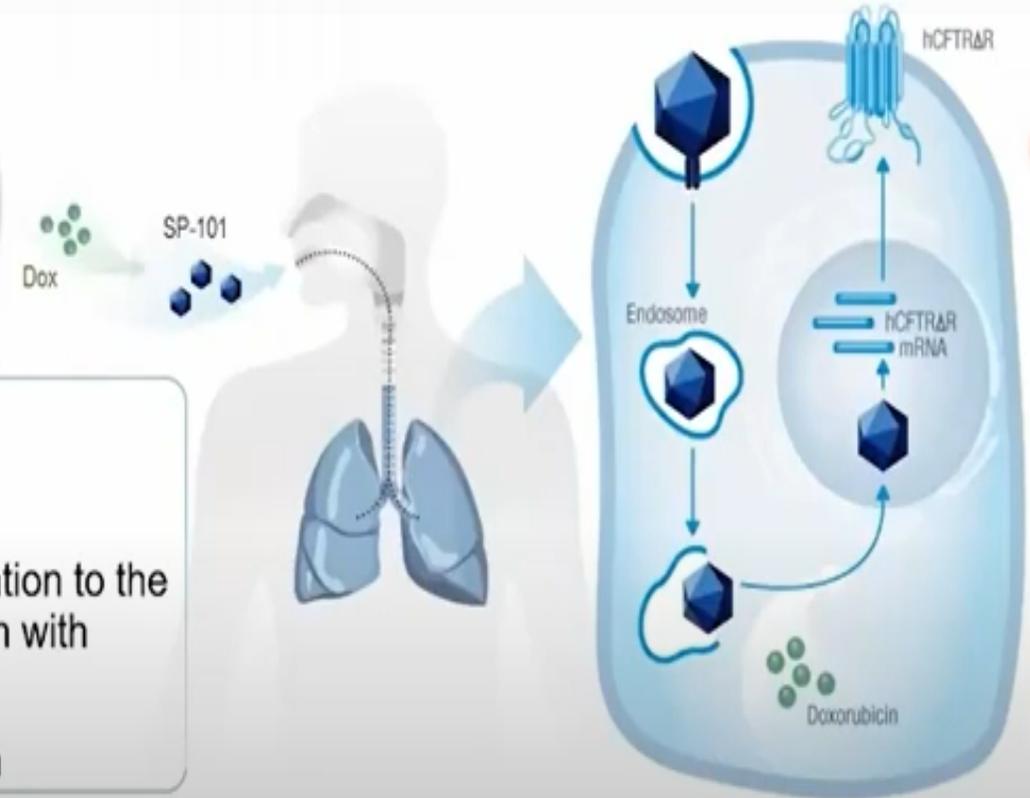
DESIGN FEATURES



- AAV capsid selected for tropism to the apical surface of human airway epithelia (HAE)¹
- hCFTR Δ R minigene with regulatory elements^{2,3}

MECHANISM OF ACTION

- Efficient apical entry
- Enhanced SP-101 translocation to the nucleus by co-administration with doxorubicin (Dox)^{4,5}
- Increased CFTR expression

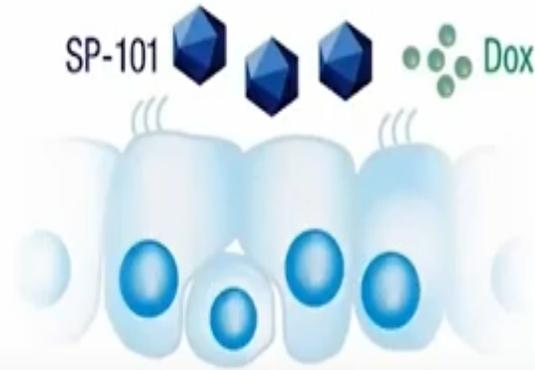




NACFC 2021 | W05: Approaches for Delivery of Nucleotide Based Therapeutics

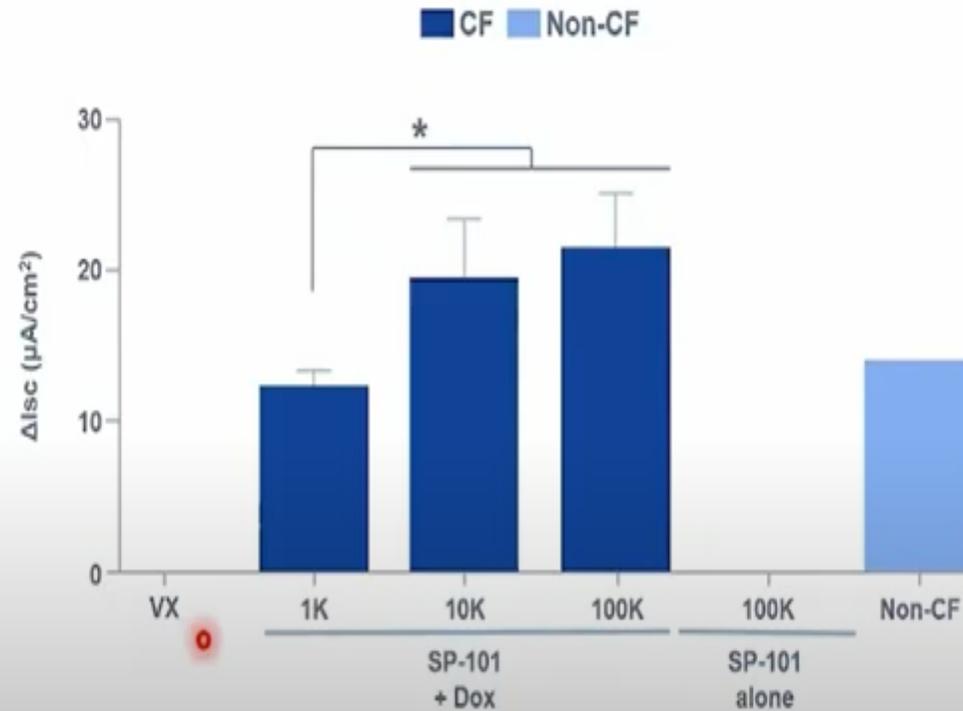


Polarized primary human CF airway epithelia with class I mutations (W1282X/R1162X, N=3)



CFTR Function (Ussing)

/Dox 16 h incubation, analysis at D7



*p < 0.05

VX - CFTR triple modulators VX-770/661/445



AFC
Associazione Italiana
Fibrosi Cistica

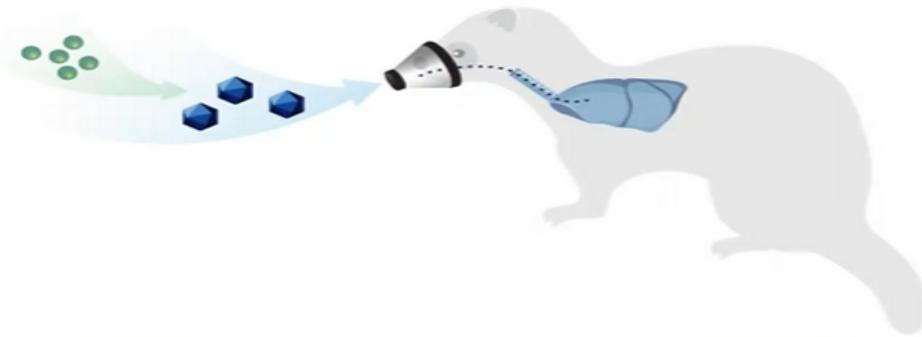


L'erogazione di SP-101 recupera la funzione CFTR delle colture delle cellule epiteliali delle vie aeree e guida l'espressione di hCFTR Δ R (minigene con elementi regolatori) nelle vie aeree del furetto

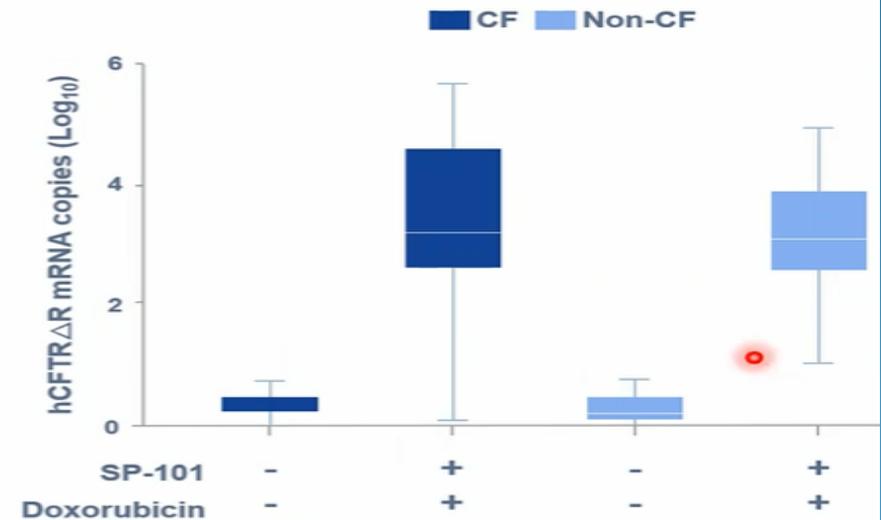
hCFTR Δ R mRNA expression is similar in CF and non-CF ferrets



CF and Non-CF Ferrets



hCFTR Δ R mRNA expression
2 weeks





SPIROVANT

SP-101 costituisce una grande promessa per i pazienti FC

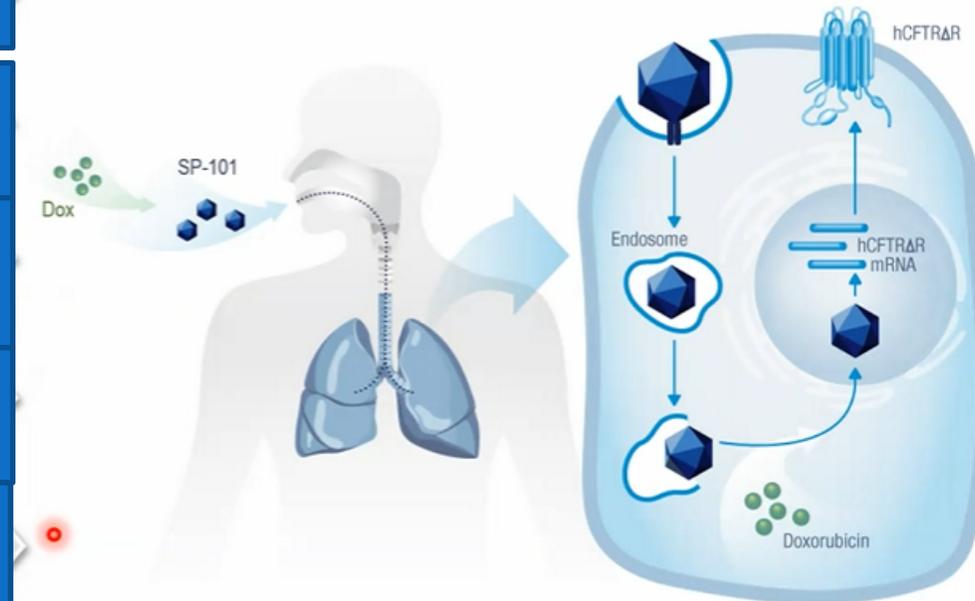
SP-101 corregge la funzione delle cellule umane bronchiali

Doxorubicina ↑ correzione facilitando l'ingresso di AAV nel nucleo cellulare

SP-101 è specifico verso molte cellule epiteliali umane

L'espressione di hCFTR Δ R e la correzione di FC sono dose dipendenti e durevoli

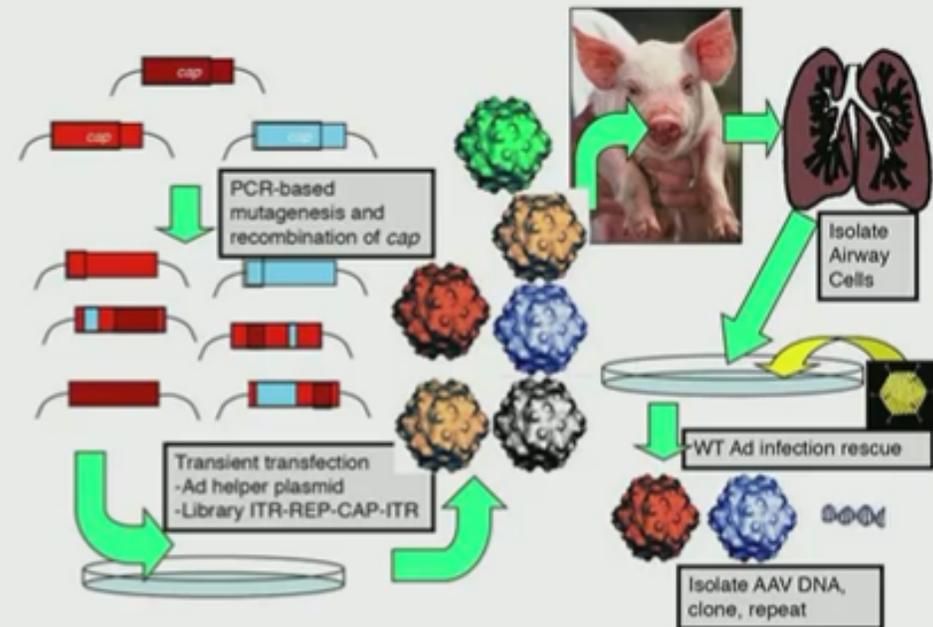
L'espressione del mRNA è simile nel furetto FC e nel furetto sano suggerendo che le vie aeree FC non sono una barriera a SP-101





Gene Therapy for CF: Delivery

- AAV vectors
 - Safety profile is excellent
 - Designer viral capsids based on evolutionary biology
- Lentivirus vectors
 - Integration
 - Designer lentiviral envelopes
- Nonviral vectors
 - Polymer-based nanoparticles
 - Lipid-based nanoparticles





Gene editing

- sistema composto da acidi nucleici (CRISPR) ed enzimi del tipo nucleasi, detto CRISPR/Cas9
- la nucleasi Cas9 è un enzima capace di tagliare il DNA del genoma in una maniera sequenza-specifica definita da un RNA guida, che è complementare (lo riconosce e vi si appaia) al segmento di DNA da tagliare
- la nucleasi Cas9 agisce come una forbice e l'RNA guida come l'elemento che dirige la forbice sul tratto di DNA da tagliare.