

# Препараты для генной терапии на основе рекомбинантных аденоассоциированных вирусов

Карабельский Александр Владимирович, к.б.н.  
Директор департамента перспективных исследований ЗАО “Биокад”

190418

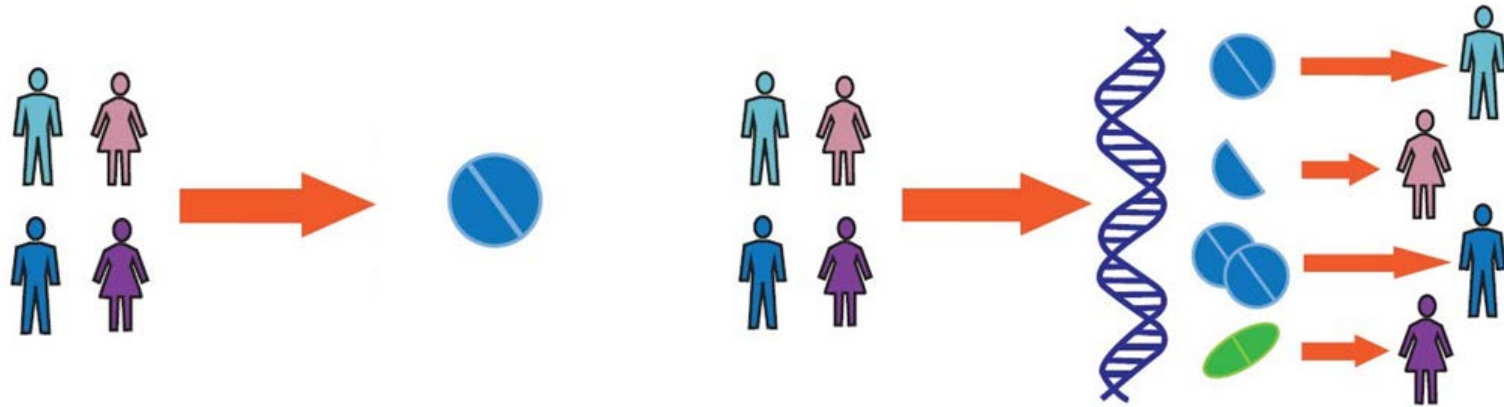


VI Всероссийская конференция  
«Актуальные вопросы доклинических и клинических исследований лекарственных  
средств, биомедицинских клеточных продуктов и клинических испытаний  
медицинских изделий»



**BIOCAD**  
Biotechnology Company

# Эволюция лекарственных средств - “персонализация”



- Эффективность
- Прогнозируемость
- “Наукоёмкость”
- Универсальность

*(лекарственный препарат для передовой терапии, eng. advanced therapy medicinal products, ATMP, (ЕС) №1394/2007)*

- это ... лекарственный препарат для медицинского применения, являющийся лекарственным препаратом для ...

- **генной терапии**
- **терапии соматическими клетками**
- **тканеинженерным препаратом**

**БМКП**



# ∞ ЛППТ : потенциал



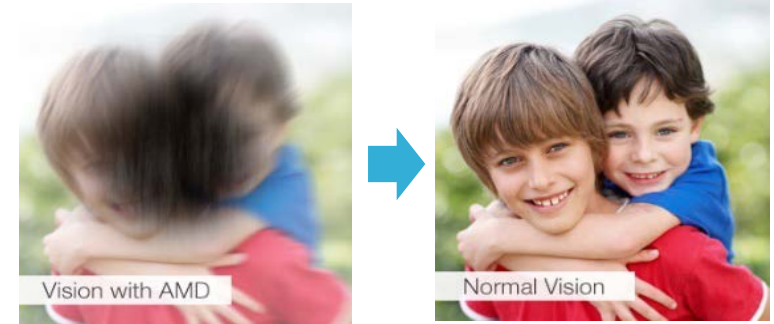
DMD



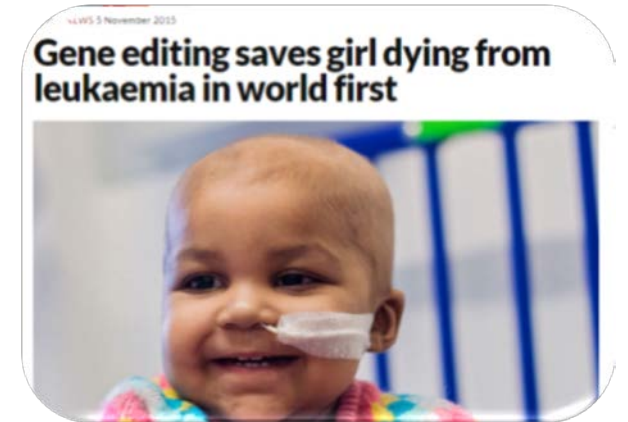
SMA I



ADA-SCID



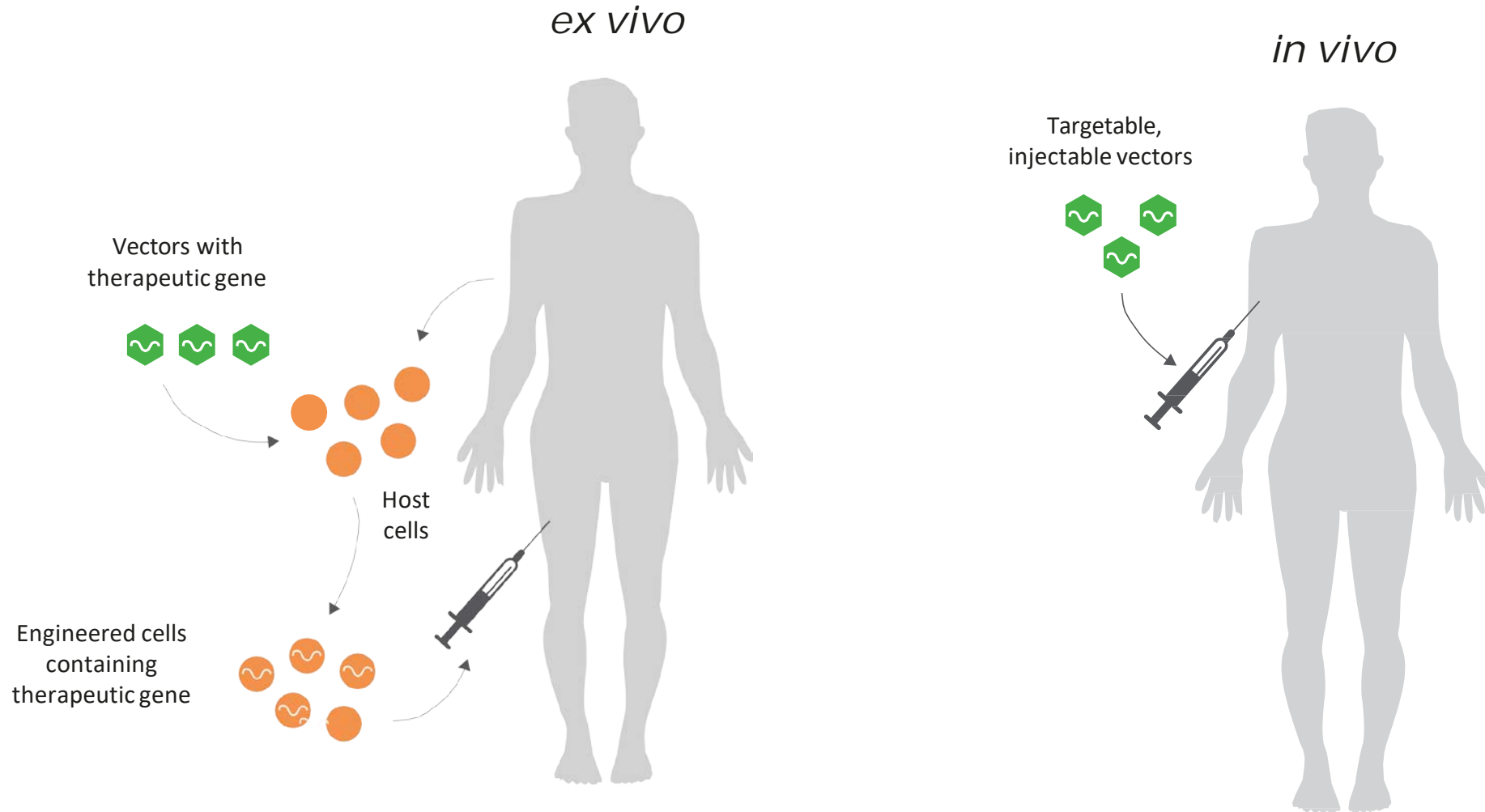
AMD



ALL



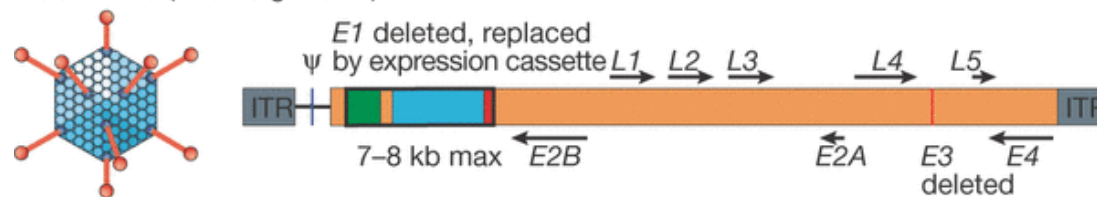
# Стратегии генной терапии



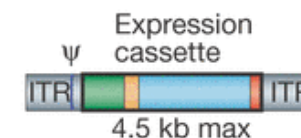


# Векторы для трансгенеза ?

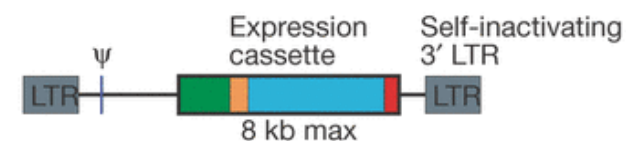
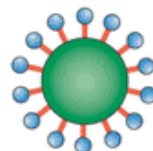
Adenovirus (~36 kb genome)



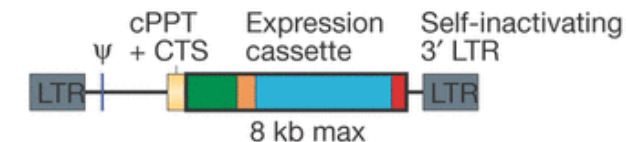
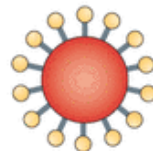
Adeno-associated virus (4.7 kb genome)



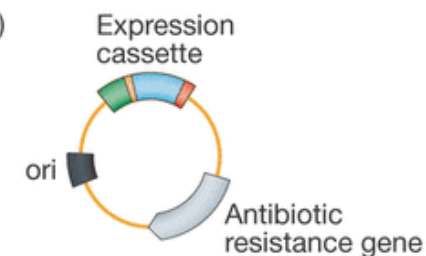
Retrovirus (7-10 kb genome)



Lentivirus (9-10 kb genome)

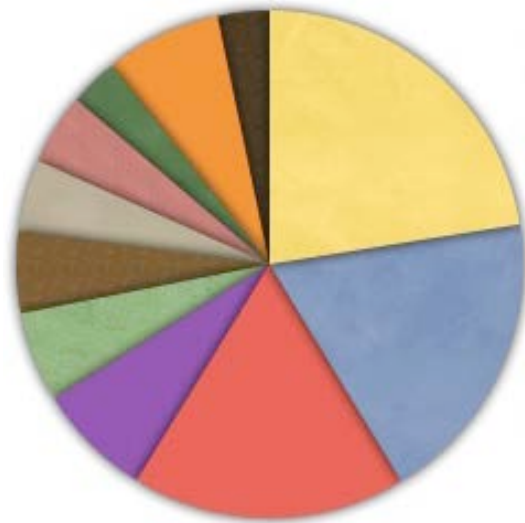


Liposome + plasmid (unlimited sized genome)



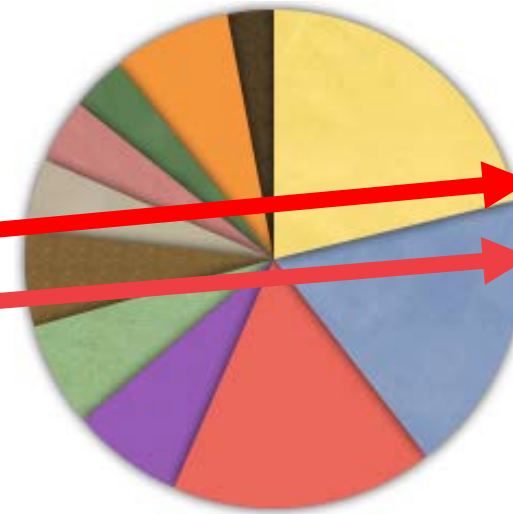


# Векторы для трансгенеза



2015

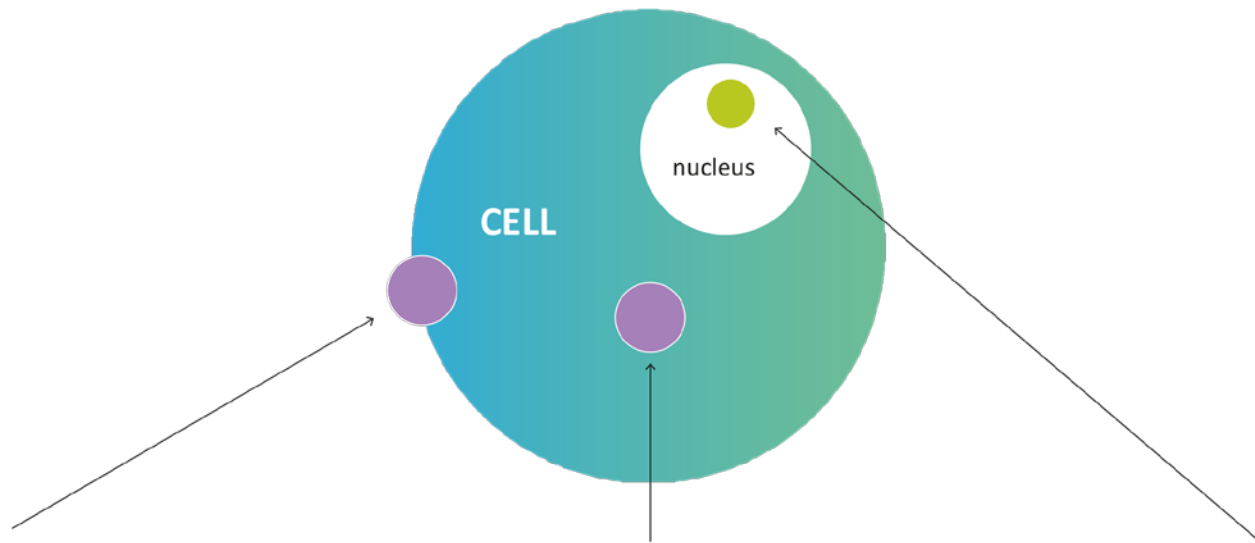
- Adenovirus 22.5% (n=496)
- Retrovirus 18.8% (n=415)
- Naked/Plasmid DNA 17.5% (n=386)
- Vaccinia virus 7.3% (n=162)
- Adeno-associated virus 5.8% (n=127)
- Lipofection 5.2% (n=115)
- Lentivirus 4.6% (n=101)
- Poxvirus 4.5% (n=100)
- Herpes simplex virus 3.1% (n=68)
- Other vectors 7.4% (n=163)
- Unknown 3.3% (n=73)



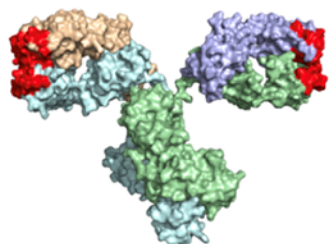
2017

- Adenovirus 21.2% (n=535)
- Retrovirus 18.3% (n=462)
- Naked/Plasmid DNA 17.1% (n=431)
- Adeno-associated virus 7.3% (n=183)
- Vaccinia virus 6.8% (n=172)
- Lentivirus 6.3% (n=158)
- Lipofection 4.6% (n=116)
- Poxvirus 4.2% (n=106)
- Herpes simplex virus 3.6% (n=90)
- Other vectors 7.7% (n=195)
- Unknown 3% (n=76)

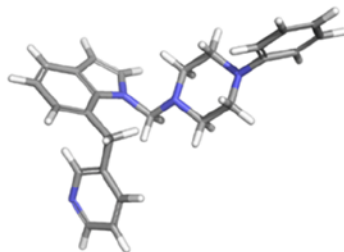
# Таргетные препараты



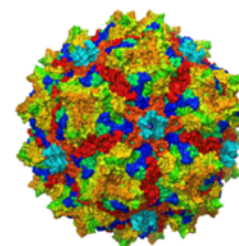
2011 MOBNEXT



2015 CHEMNEXT



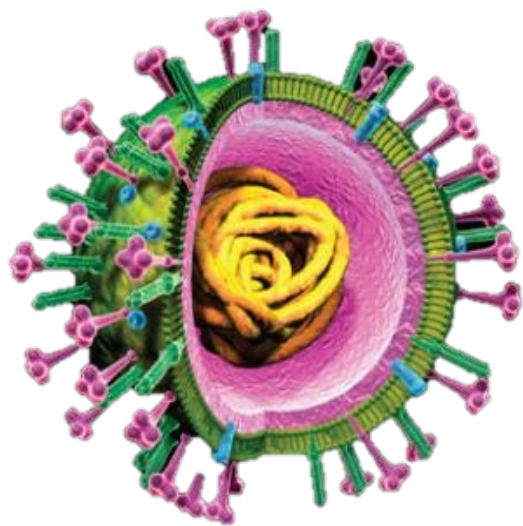
2016 GENENEXT



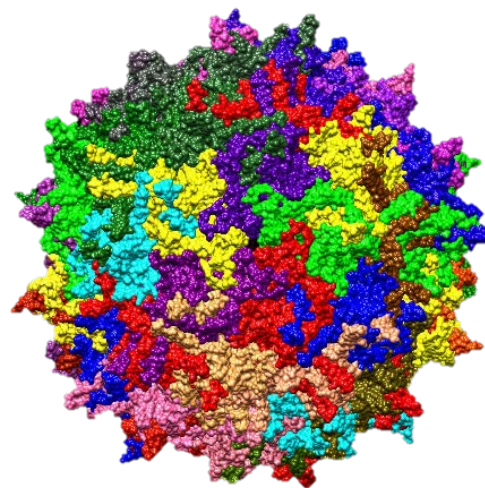




GENENEXT

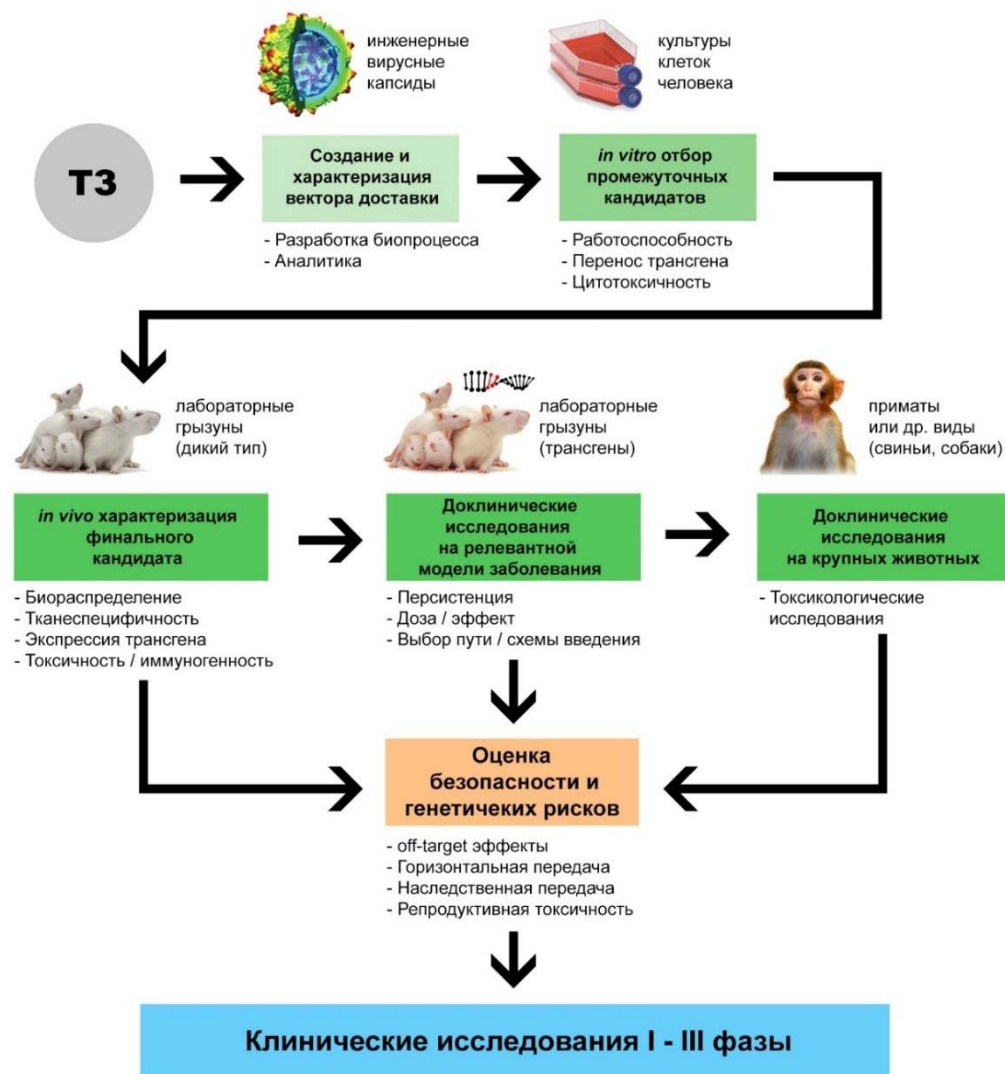


**LV технологии**



**AAV технологии**

# Разработка AAV-векторов



## ОСНОВНЫЕ КРИТЕРИИ:

### ПРЕПАРАТ: БЛИЗОСТЬ К КОНЕЧНОМУ ПРОДУКТУ

- идентичный вектор доставки
- стандартизованный биопроцесс и схема очистки
- максимально близкая формуляция

### МОДЕЛЬНЫЕ ЖИВОТНЫЕ: ГРЫЗУНЫ + КРУПНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

- использование релевантной модели заболевания (e.g. трансгенные мыши)
- грызуны: минимум 5 особей каждого пола в группе на 1 временную точку
- крупные животные: минимум 3-5 особей каждого пола в группе на 1 временную точку

### ПУТЬ И СХЕМА ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА: СООТВЕТСТВИЕ ПЛАНУ КИ

- идентичный путь введения препарата
- максимально близкая схема введения (к планируемой в КИ)

### ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ: ОБОСНОВАННЫЙ ВЫБОР ВРЕМЕННЫХ ТОЧЕК

- короткие временные точки: биораспределение и фармакодинамика
- длительные временные точки: персистенция и оценка безопасности

## КЛЮЧЕВЫЕ ОСОБЕННОСТИ:

### РЕЛЕВАНТНОСТЬ МОДЕЛИ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

- применение технологий трансгенеза для создания животных моделей наследственных заболеваний

### БЕЗОПАСНОСТЬ: ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ПРИРОДОЙ ВЕКТОРА И МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА

#### Векторы вирусной природы:

- минимальные off-target эффекты (при использовании систем редатирования)
- отсутствие инсерционного онкогенеза / мутагенеза
- отсутствие репликативной активности вектора
- низкая иммуногенность
- тканеспецифичность



## Особые типы исследований в рамках ДКИ AAV-препаратов

### Integration studies and replicative incompetence

Depending on the proposed clinical use (e.g., non-life threatening disease or paediatric use), integration studies might be requested for any GTMP. **For GTMPs that are based on a molecular design not expected to be capable of integration, data from *in vivo* or *in vitro* studies that detect integration are required.** The likelihood and the possible consequences of vector integration should be evaluated and measures to control potential associated risks should be described and justified.

**For viral vectors designed to be replication-incompetent, the possibility of inadvertent replication after complementation by wild-type viruses might have to be investigated.**

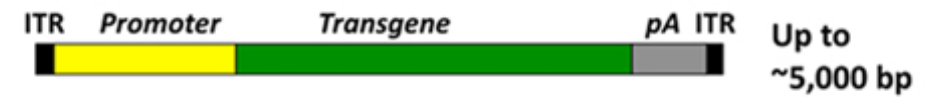
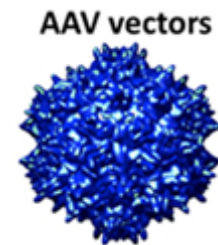
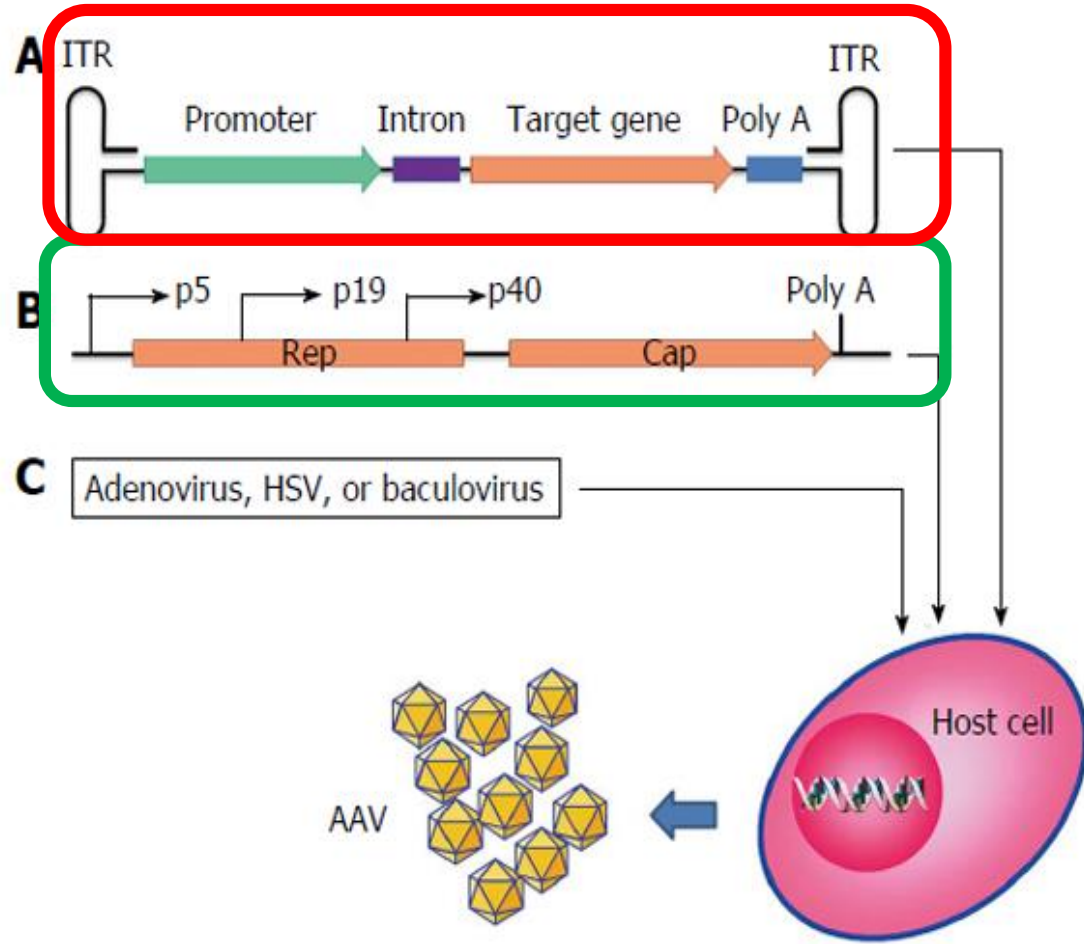
### Germline transmission (наследственная передача)

Studies should be carried out as outlined in the Note for Guidance CPMP/BWP/3088/99, annex on non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors (EMA/273974/2005). **If no positive signal in gonads detected during biodistribution study no need for further non-clinical germline transmission studies.**

### Shedding (горизонтальная передача инфекционных составляющих)

Shedding is defined as the insemination of the virus / vector through secretions and/or excreta of the patient. Virus / vector shedding should not be confused with biodistribution, e.g., spread within the patient's body from the site of administration.

# Создание вектора AAV

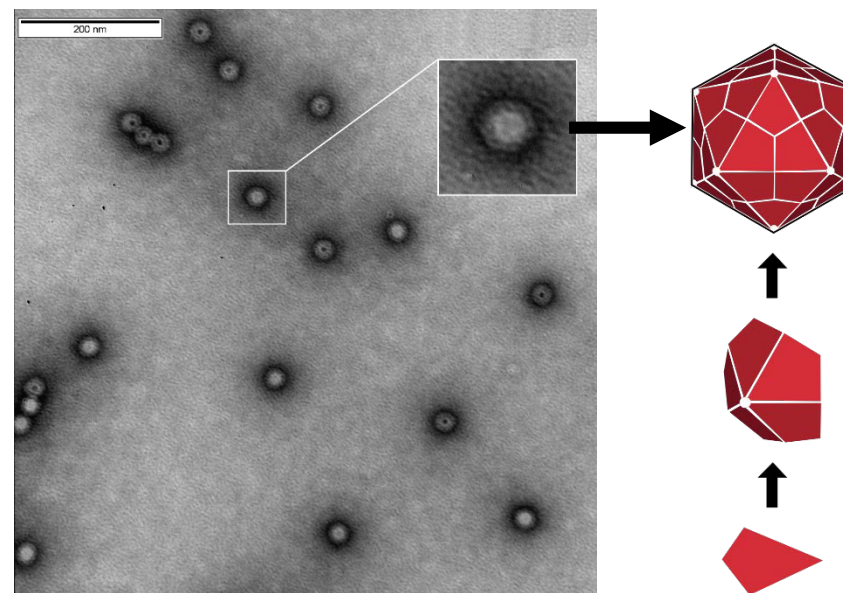




# Создание вектора AAV – биопроцесс и сборка



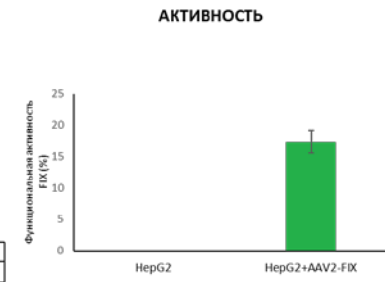
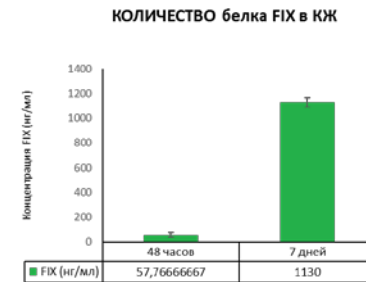
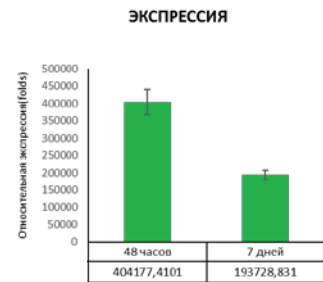
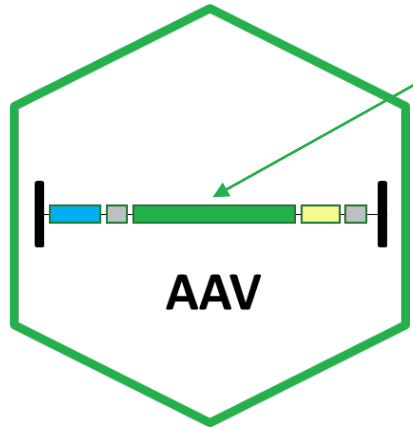
**HEK293**



**ЭМ**



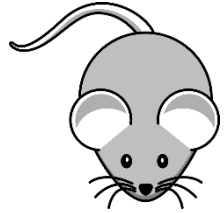
## Transgene FIX



# Активность *in vivo*



Инъекция AAV препарата  
в хвостовую вену

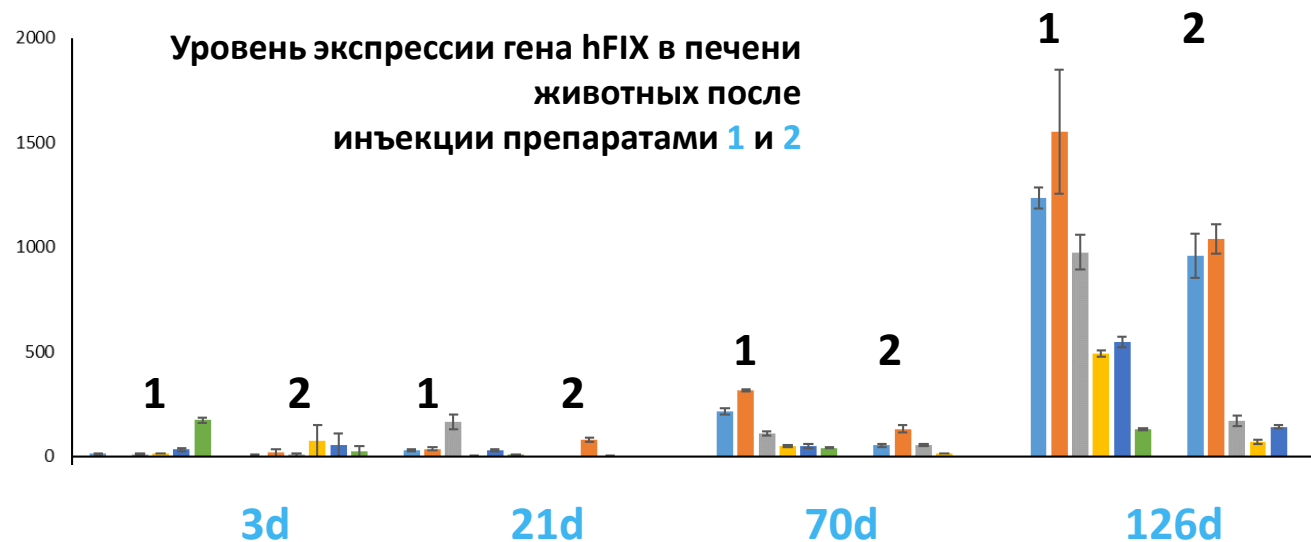


Биораспределение вирусной ДНК в образцах тканей после инъекции препаратами **1** и **2** ( $8 \cdot 10^9$  VG)

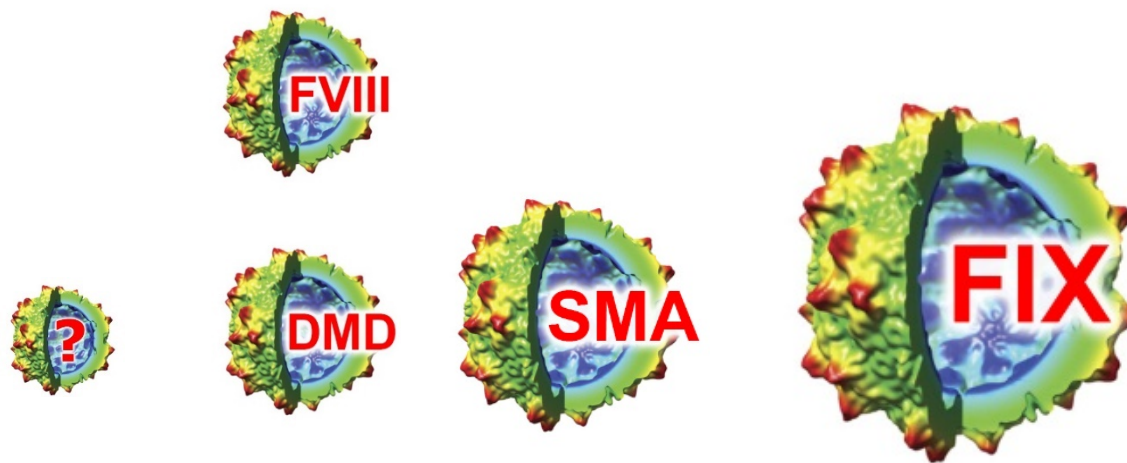
Время после инъекции	Легкие	Головной мозг	Печень	Сердце	Сем. пузырьки/ Яичники	Мышцы	Селезенка	Яичко/ Влагалище	Придаток (только самцы)	Почки
3 дня	++	-	+++	++	+	-	++	+	-	+
21 день	+	-	++	+	-	-	++	-	-	+
70 дней	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+
126 дней	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+

Градиентная шкала (копий/100нг ДНК)

-	0
+	0.5
++	1000
+++	77695



# Продукты на основе AAV GENENEXT



экспертиза

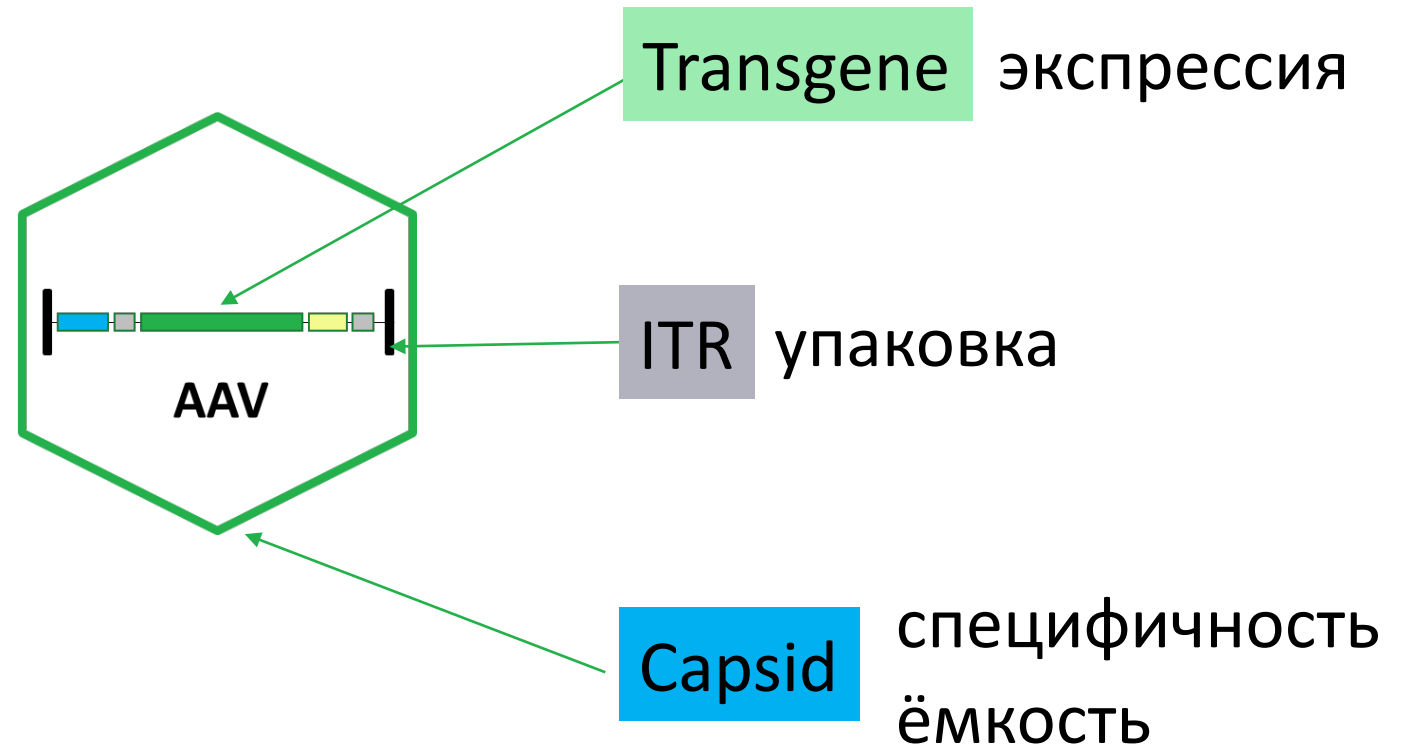
Поиск кандидатов

Доклинические исследования

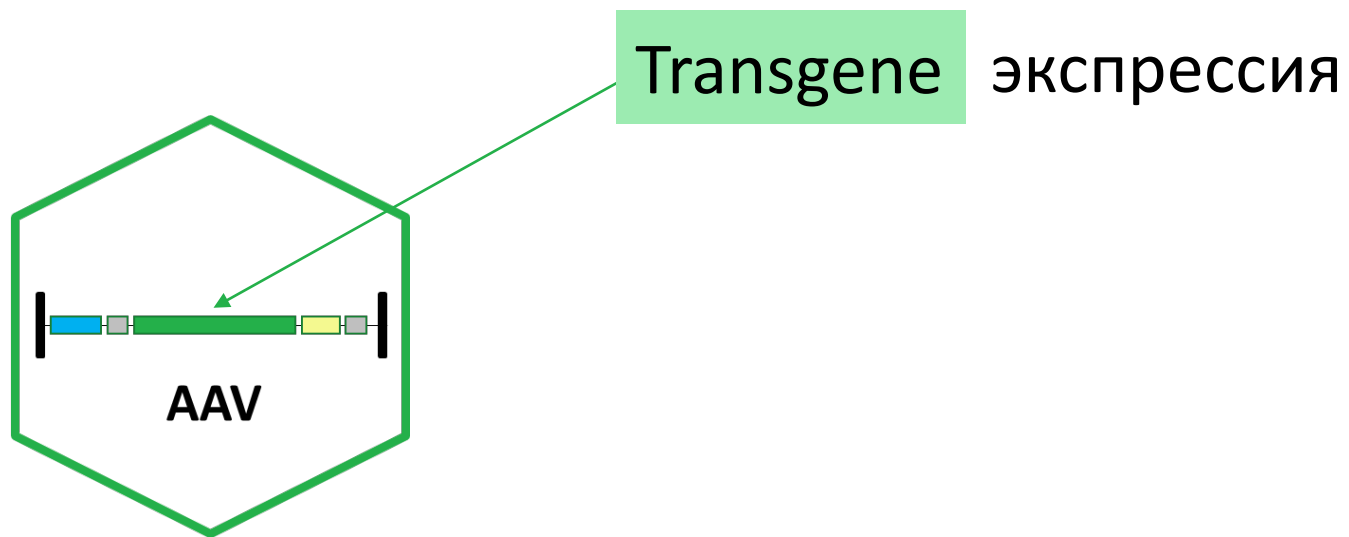
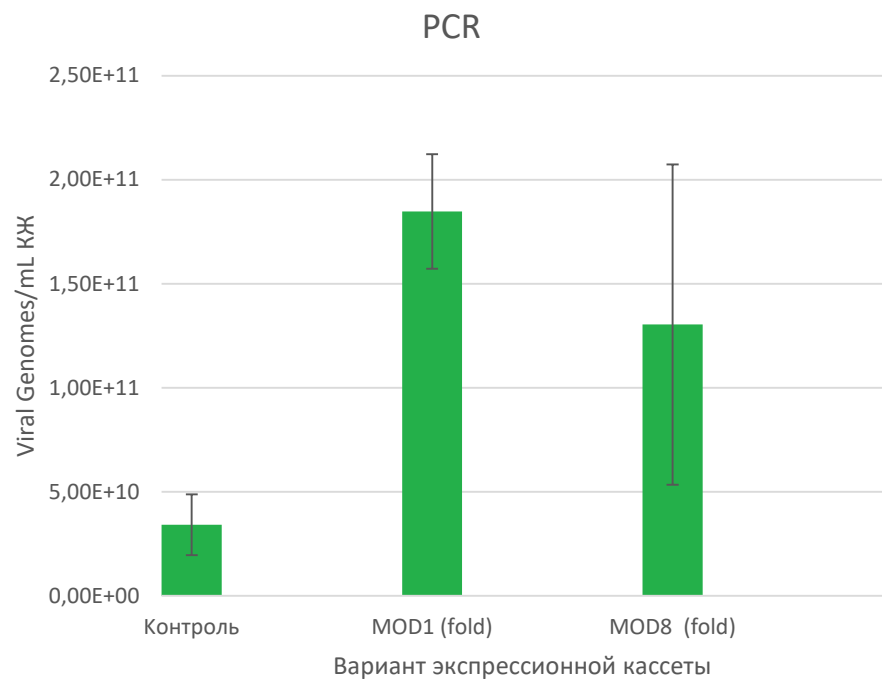
КИ



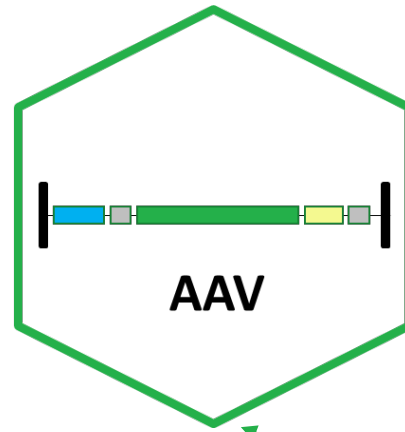
*in vitro* эволюция  
*in silico* моделирование



# AAV инженерия



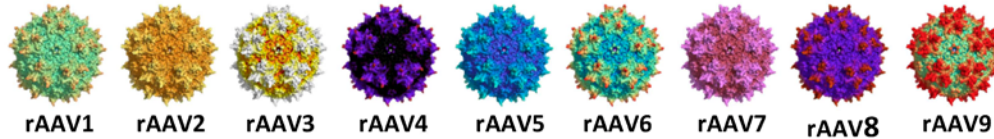
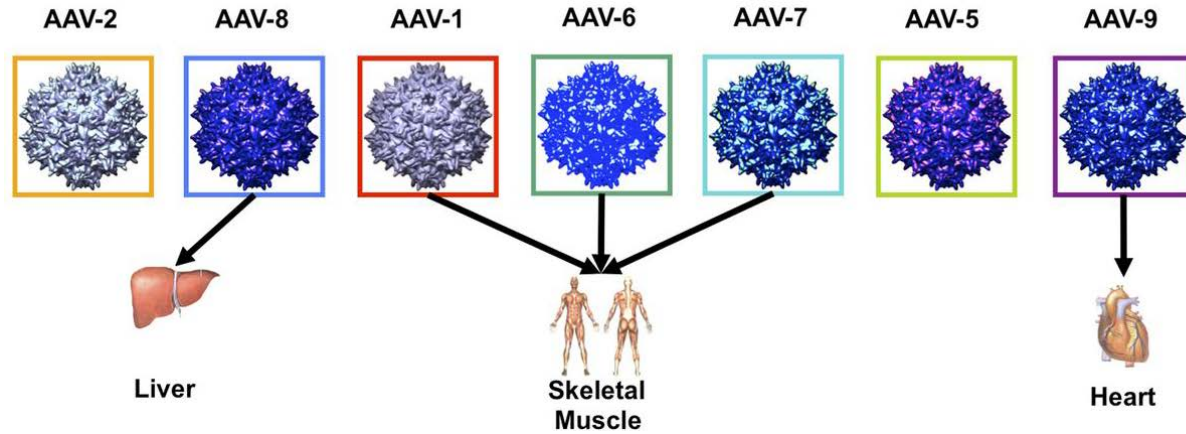
# AAV инженерия



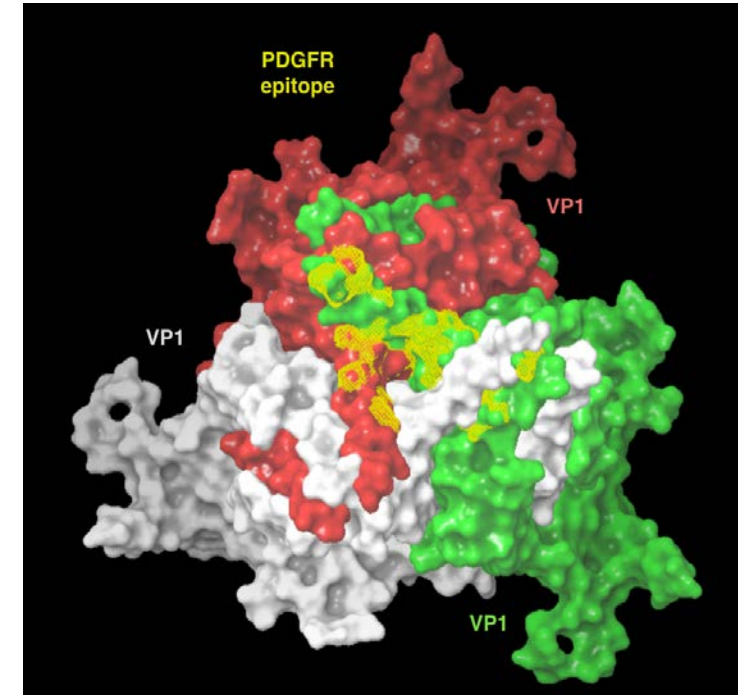
Capsid

специфичность

# AAV инженерия



Primary receptor	N-linked sialic acid	HSPG	HSPG	O-linked sialic acid	N-linked sialic acid	N-linked sialic acid; HSPG	unknown	unknown	N-linked galactose
Secondary receptor	unknown	FGFR1, HGFR, integrins, CD9, LamR	FGFR1, HGFR, LamR	unknown	PDGFR	EGFR	unknown	LamR	LamR



*in silico* моделирование?

# CC Необходимость интеграции в разработку AAV-препаратов

- NGS
- iPSC
- GEMMs
- 

