



Разработка генотерапевтического препарата для лечения фенилкетонурии на основе синтетического вирусного вектора

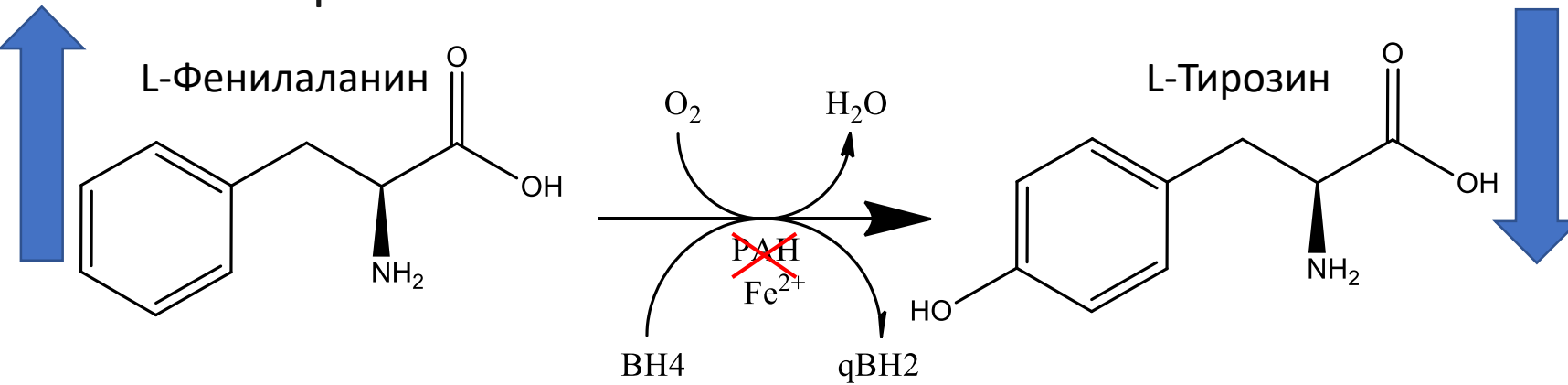
Боброва Наталия Александровна,
м.н.с. лаборатории ферментопатий в ФГБНУ «ФИЦ
оригинальных и перспективных биомедицинских и
фармацевтических технологий»

Руководитель: Волчков Павел Юрьевич, к.б.н. «ФИЦ
оригинальных и перспективных биомедицинских и
фармацевтических технологий»

Фенилкетонурия

Дефицит фермента фенилаланингидроксилазы (ПАН, ЕС 1.14.16.1)

Частота встречаемости в РФ 1:7500

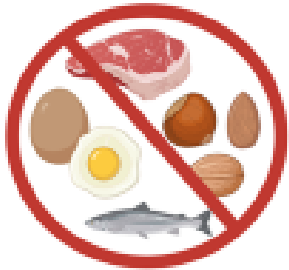


Most newborns with PKU do not show any symptoms, but signs of the condition emerge after a few months. Children with untreated PKU can have:

- Impaired brain development
- Intellectual disability
- Behavior problems
- Microcephaly
- Epilepsy



Современные методы лечения



Dieratry restrictions

Dose: depending on phenylalanine tolerance

Age: from birth



Sapropterin dihydrochloride

Dose: 5 - 20 mg/kg bodyweight daily

Age: from 1 month



Pegvaliase

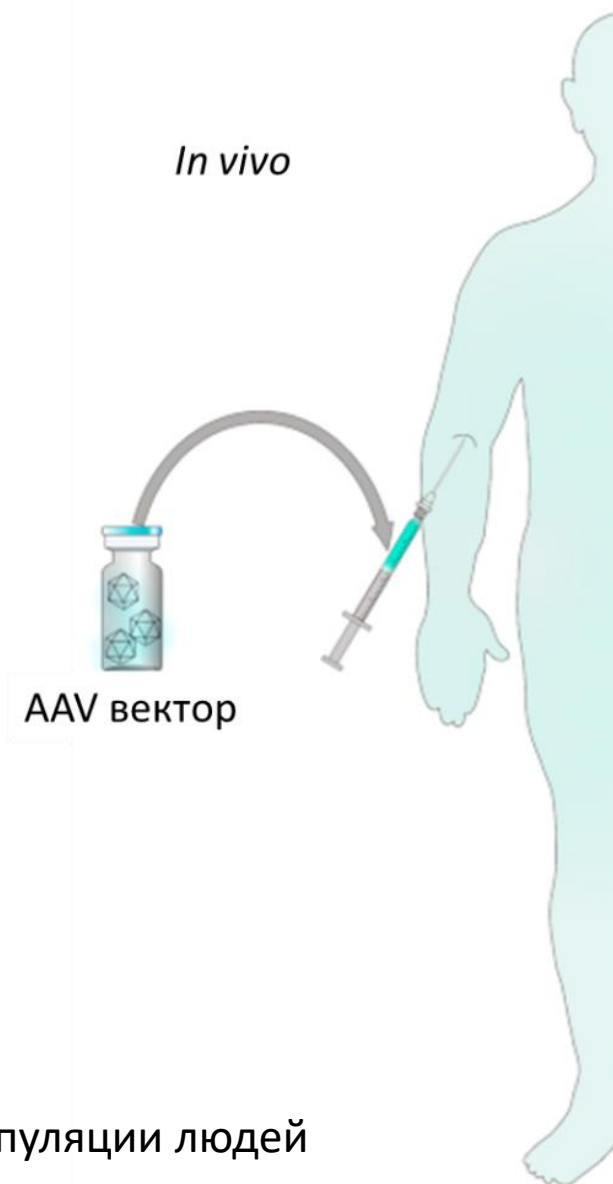
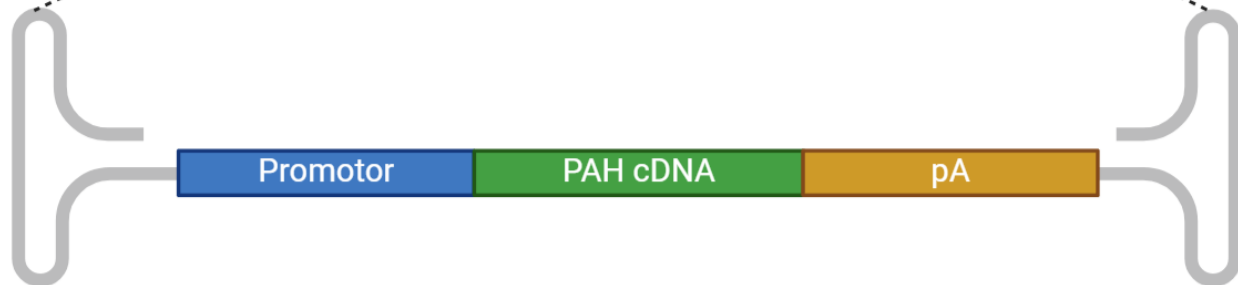
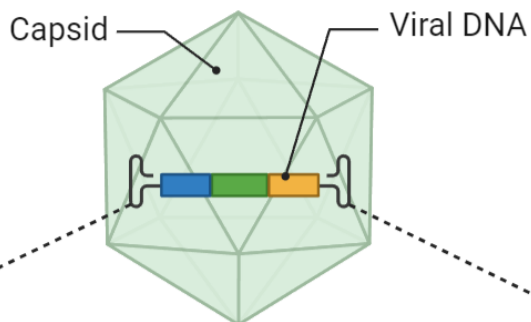
Dose: 20 - 60 mg daily

Age: ≥ 16 years

Those treated late or never treated are at risk of developing severe behavioral or psychiatric challenges such as anxiety, depression and phobias in their 20s and 30s.

Классическая генотерапия (доставка здоровой копии гена)

Адено-ассоциированные вирусы



Плюсы

- Сниженная иммуногенность
- Не патогенен
- Не встраивается в геном
- Широкий тропизм

Минус

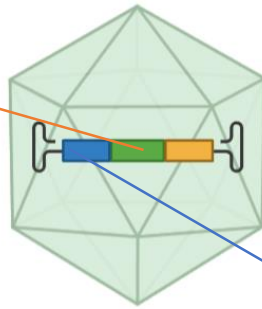
- Маленькая емкость (до 4500 п.н.)
- Иммунитет к природным AAV в популяции людей
- Широкий тропизм

Дизайн препарата

AAV

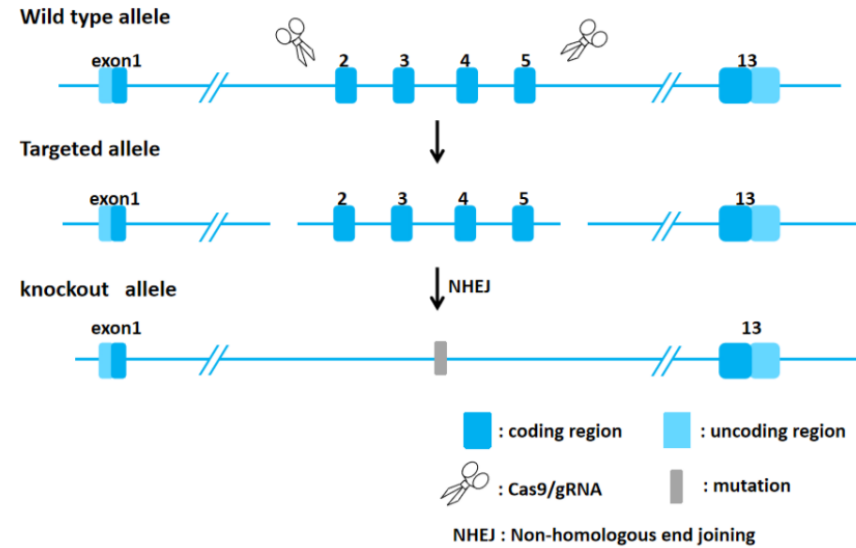
Синтетический капсид sAAV

Трансген CO-PAH



Печеночный промотор LP1

Мышиная модель РАН-КО



Уровень Phe у мышей

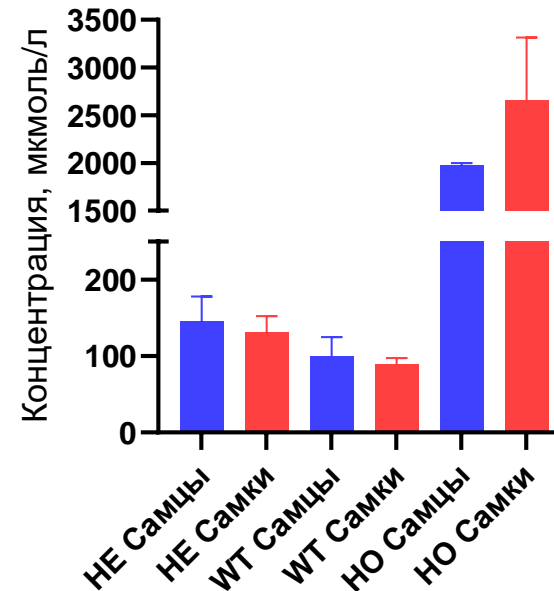
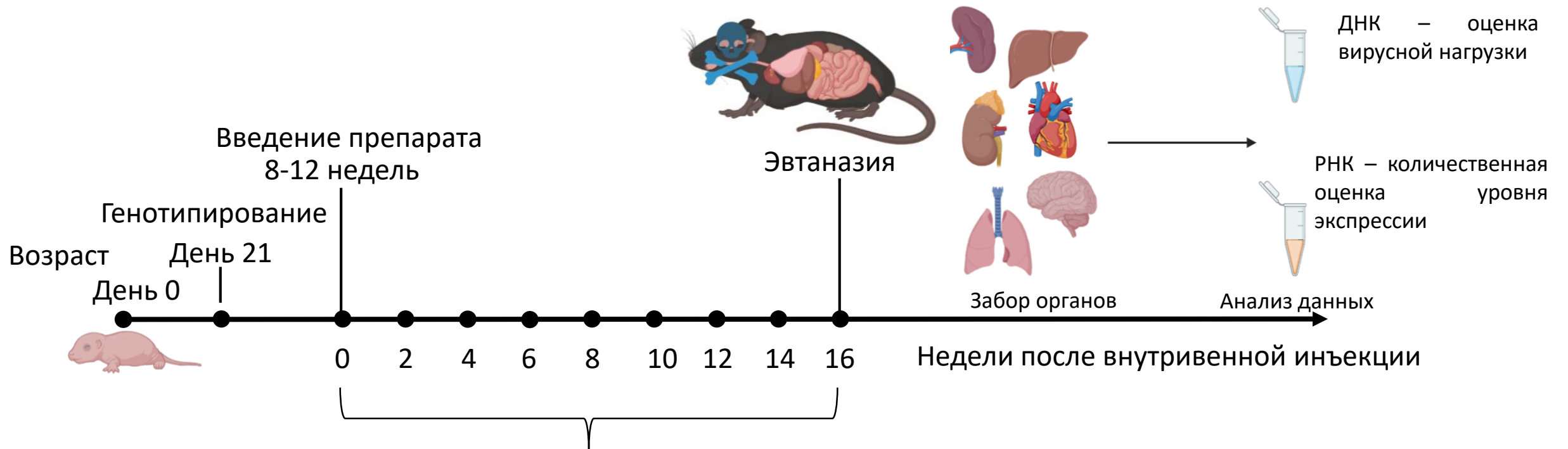


Схема эксперимента

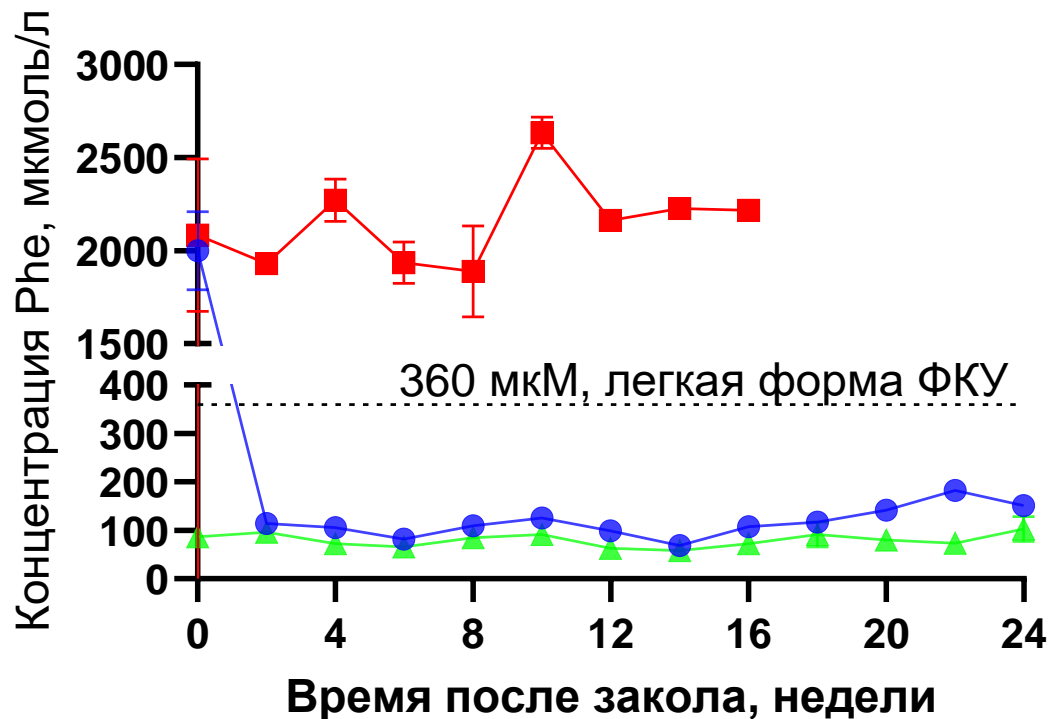
Линия	РАНем C57BL/6	РАНем C57BL/6	WT C57BL/6
Доза	1×10^{12} ВГ (50 мкл)	- (50 мкл)	- (50 мкл)
Конструкция	sAAV_РАН	NaCl, 0.9%	NaCl, 0.9%
Количество мышей	4♂+4♀	3♂+3♀	3♂+3♀



Каждые 2 недели забор крови и взвешивание
 Фото фенотипа на 0, 8 и 16 неделе

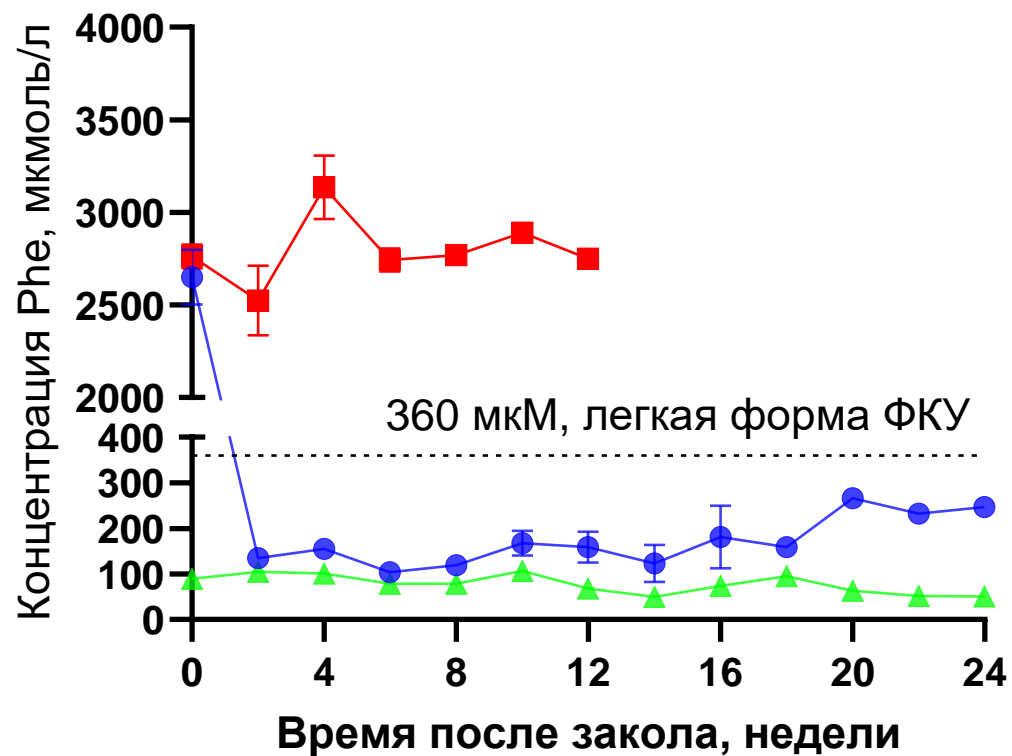
Динамика концентрации Phe

Самцы



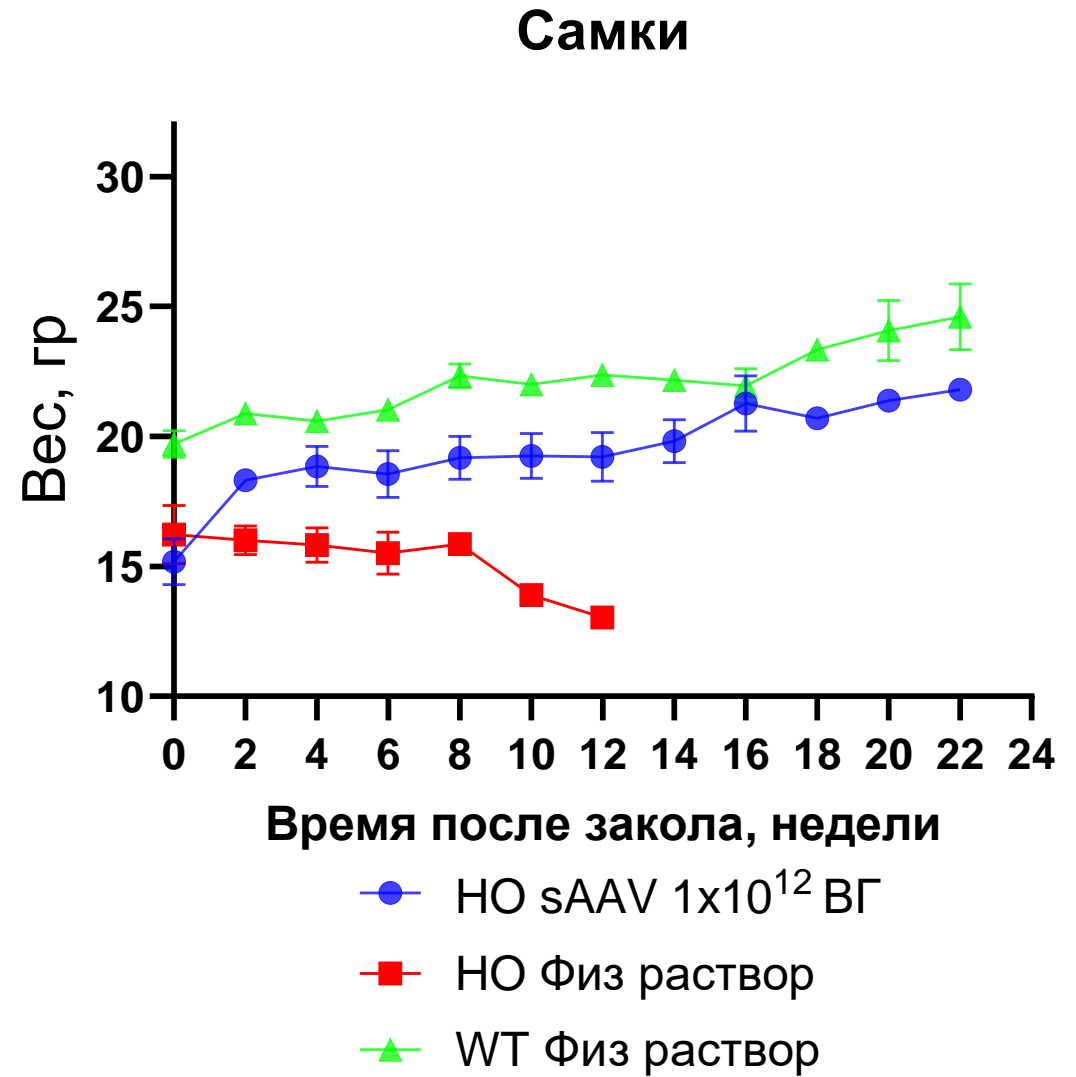
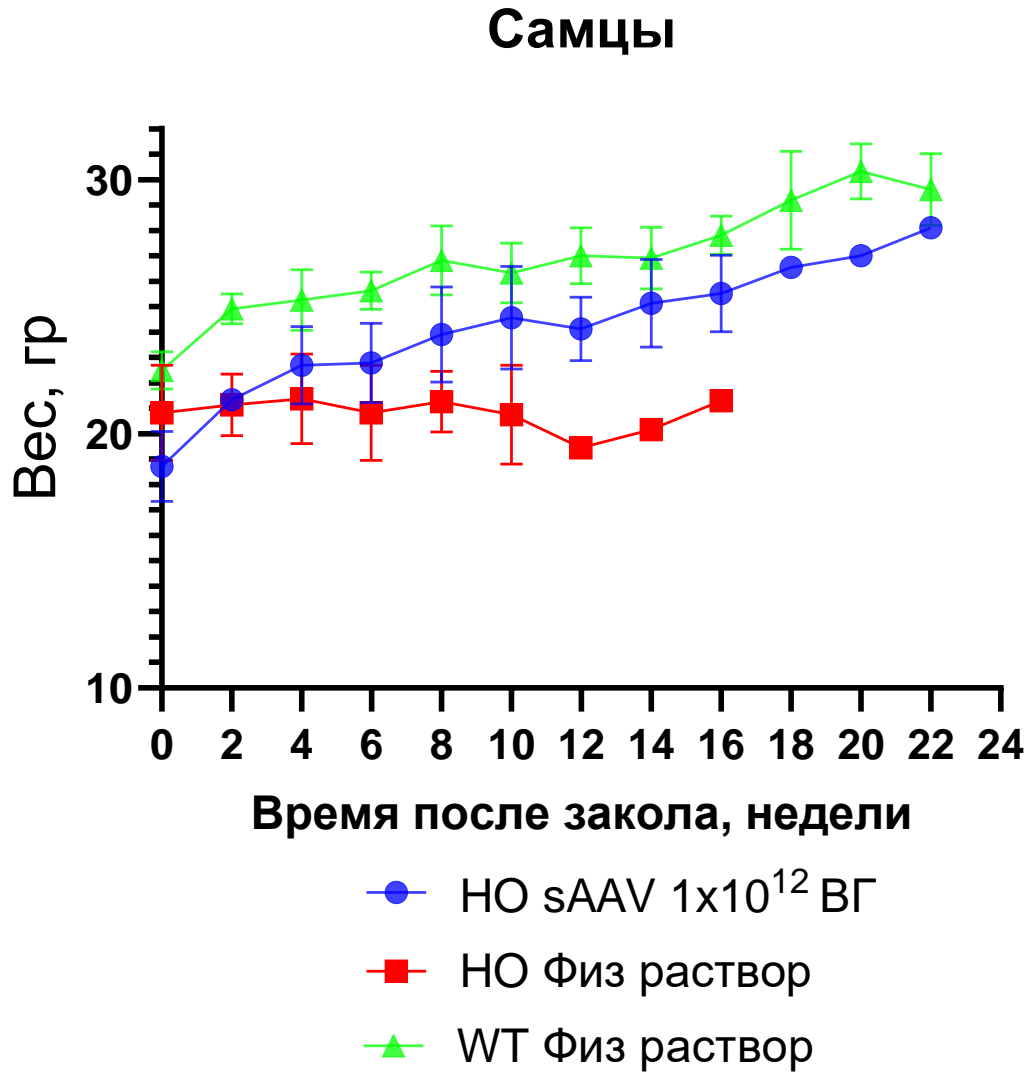
- HO sAAV 1×10^{12} ВГ
- HO Физ раствор
- ▲ WT Физ раствор

Самки

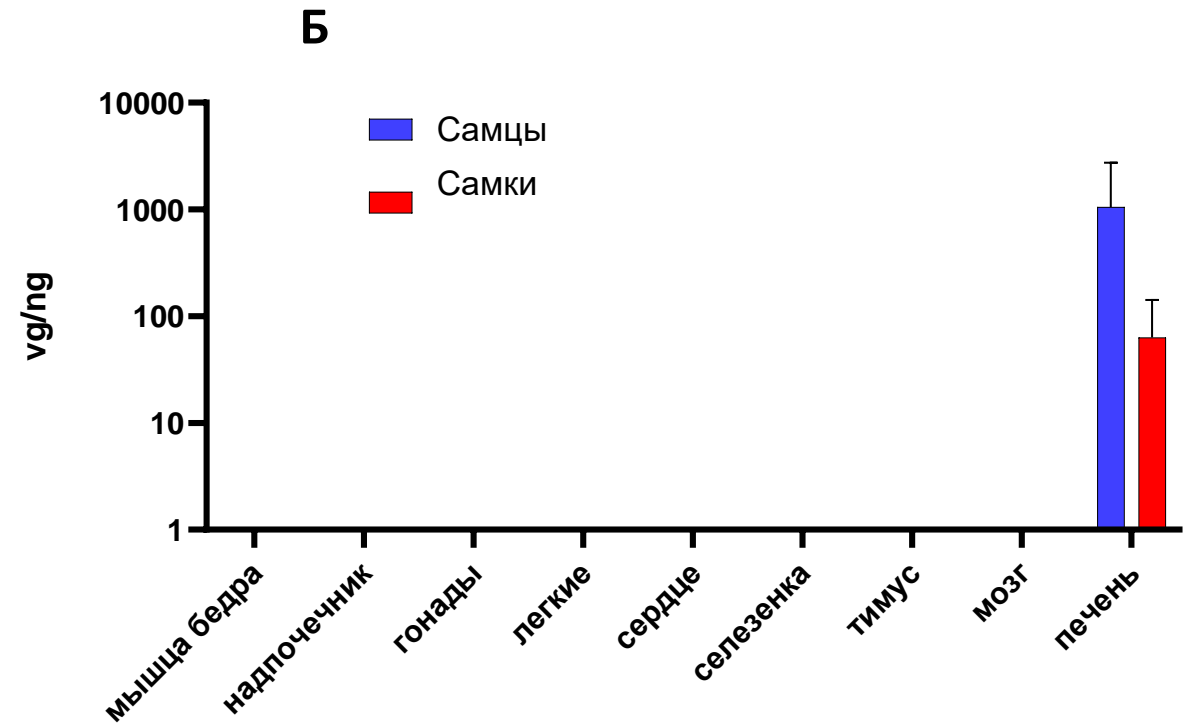
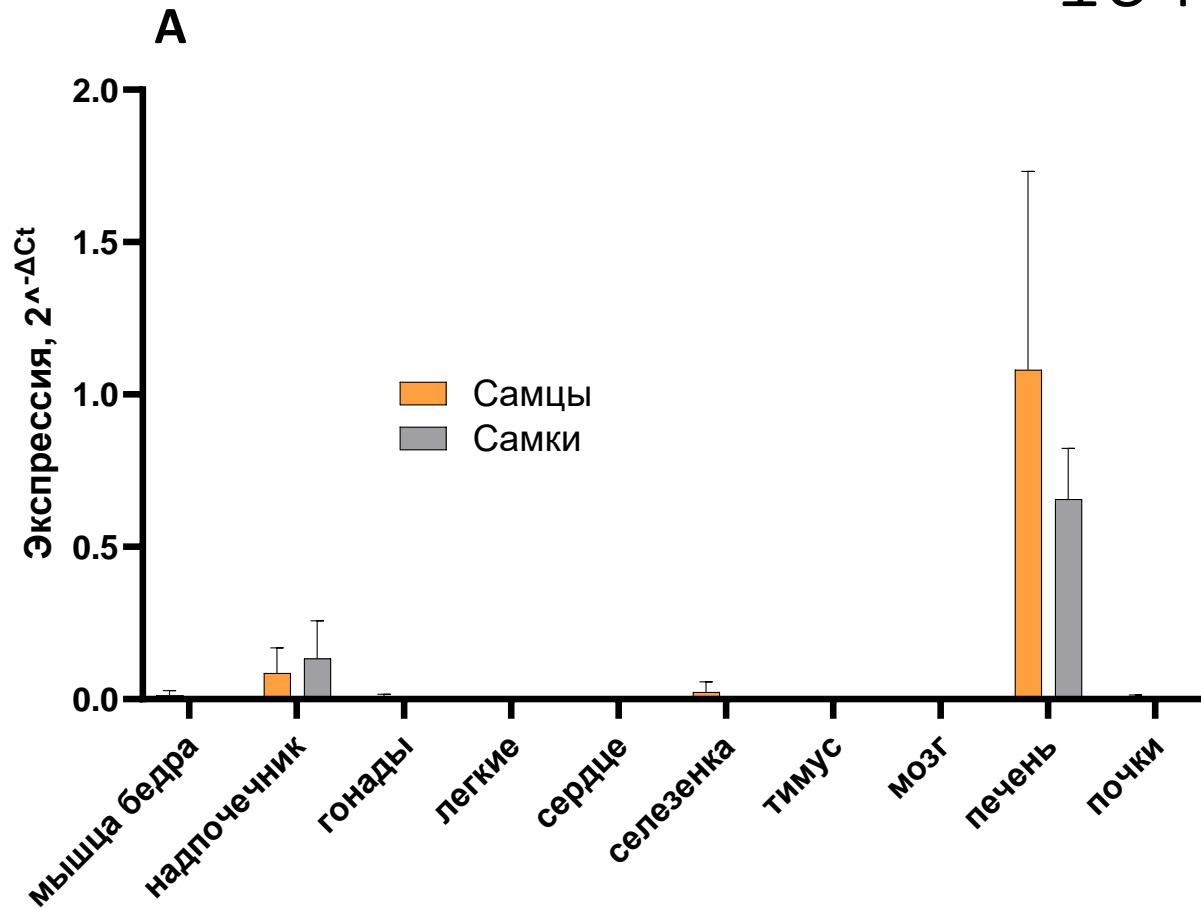


- HO sAAV 1×10^{12} ВГ
- HO Физ раствор
- ▲ WT Физ раствор

Динамика веса



Оценка экспрессии РАН и вирусной нагрузки 16 неделя



А) Уровень экспрессии трансгена РАН. Уровень экспрессии гена рассчитывают относительно уровня экспрессии референсного гена *mGAPDH* с использованием сравнительного метода ΔCt .

Б) Оценка количества вирусных геномов в органах, выраженная в количестве вирусных геномов на количество ДНК, выделенное из органа и добавленное в реакцию. Количество вирусных геномов в органах оценивалось методом количественной ПЦР (qPCR).

Фотографии фенотипа мышей до и после закола

Самцы

Самки

0 неделя

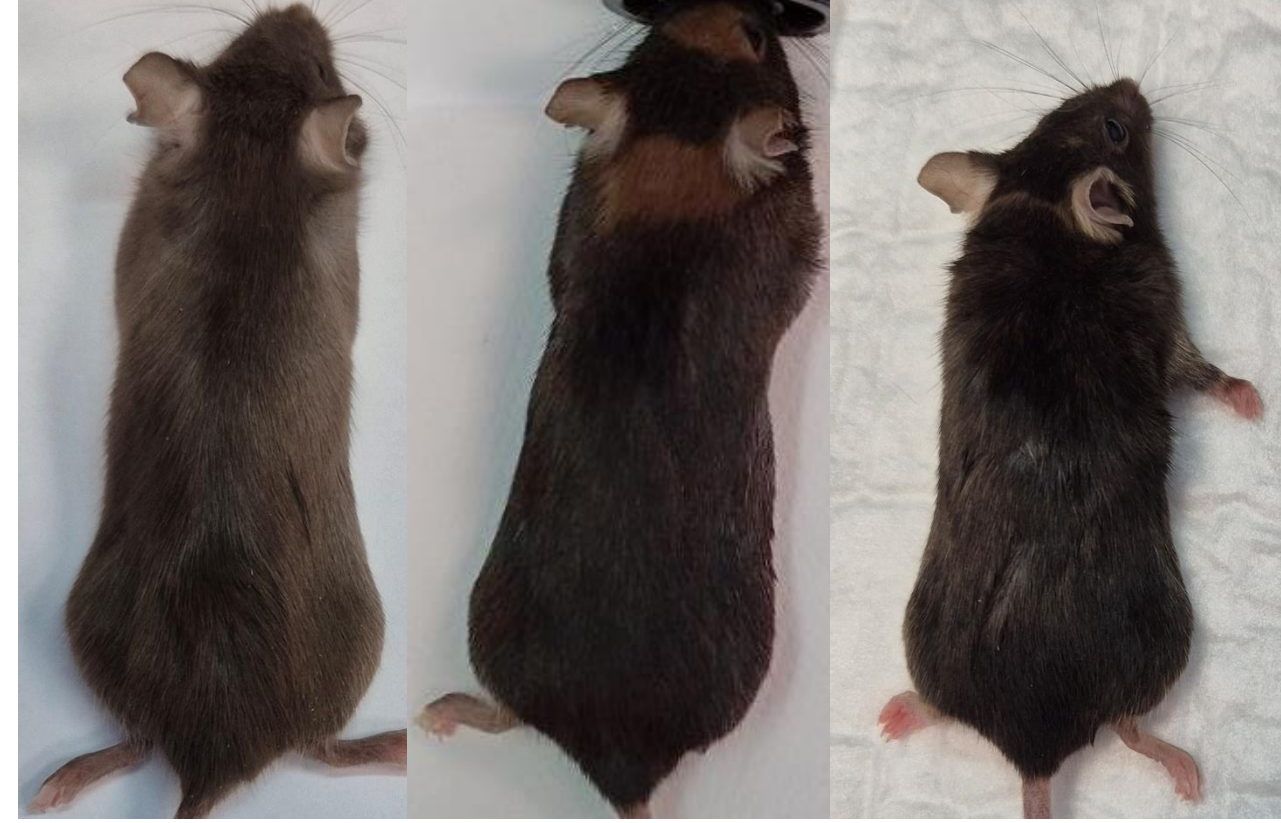
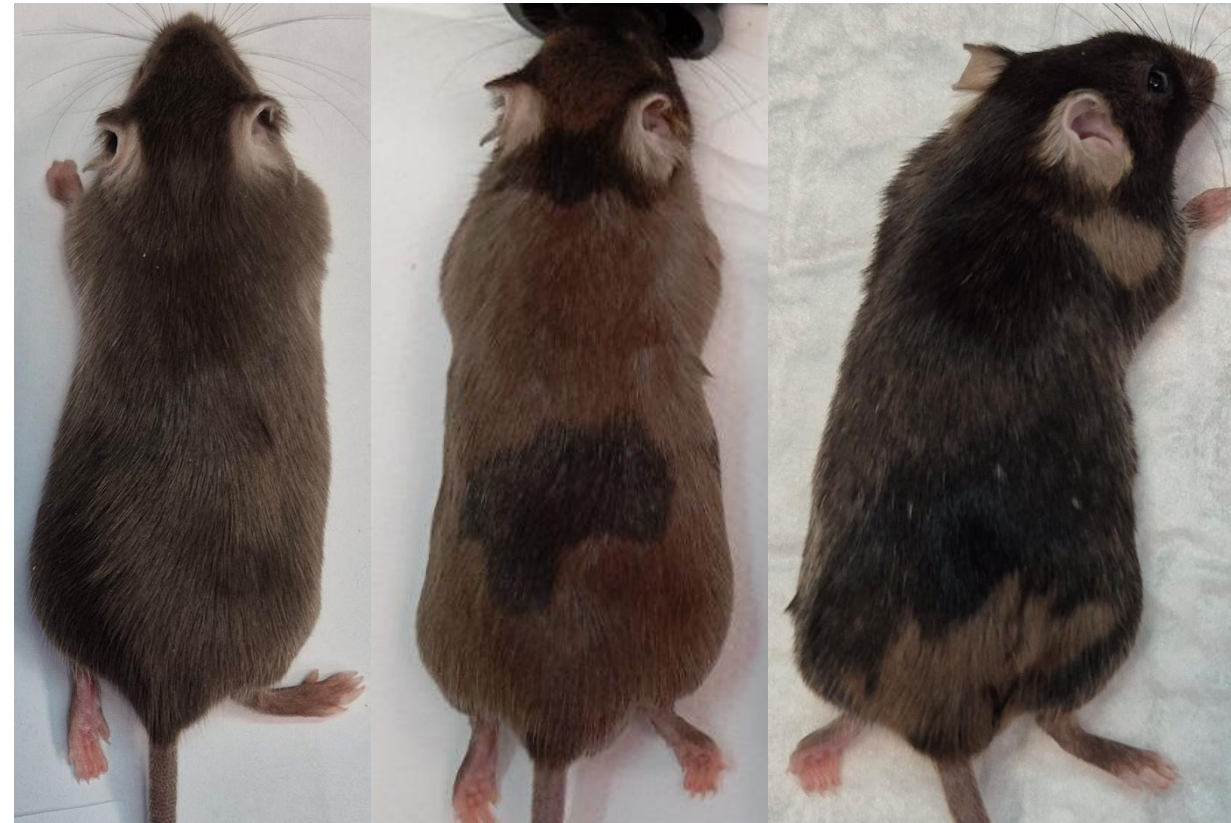
8 недель

16 недель

0 неделя

8 недель

16 недель



Выводы

- Системное введение вирусного вектора с синтетическим серотипом, нацеленным на печень, вызывает длительный и стабильный терапевтический эффект, что приводит к удовлетворительной биохимической и фенотипической коррекции на животной модели ФКУ.
- Терапевтический эффект сохраняется на протяжении 26 недель: уровень фенилаланина соответствует физиологической норме.
- Терапевтические дозы фенилаланина сопровождались фенотипической ремиссией: волосяной покров снова становился черным.
- Терапевтический эффект более выражен у самцов из-за различий в восприимчивости мышей к трансдукции печени AAV в зависимости от пола.

Спасибо за внимание!

