

Inserzione sperimentale di geni mirata basata su CRISPR per l'emofilia B

Per operatori sanitari

SOLO PER USO REATTIVO

L'inserzione mirata di geni basata su CRISPR per l'emofilia B è sperimentale; l'efficacia e la sicurezza non sono state valutate da alcuna autorità regolatoria

L'emofilia B è una condizione genetica causata da una **mutazione** nel **gene del fattore IX (F9)**^{1,2}

Le persone affette da emofilia B non **producono abbastanza fattore IX**²

Gene del fattore IX (F9)

F9

L'inserzione di geni mira a ripristinare in modo permanente la capacità dell'organismo di produrre in modo indipendente il fattore IX senza la necessità di una terapia di sostituzione del fattore di routine³

Che cos'è l'inserzione genica?

L'inserzione di geni è un tipo di editing genetico in cui un gene terapeutico può essere aggiunto con precisione a specifiche sezioni di DNA per ripristinare la capacità dell'organismo di agire come dovrebbe³

Fegato

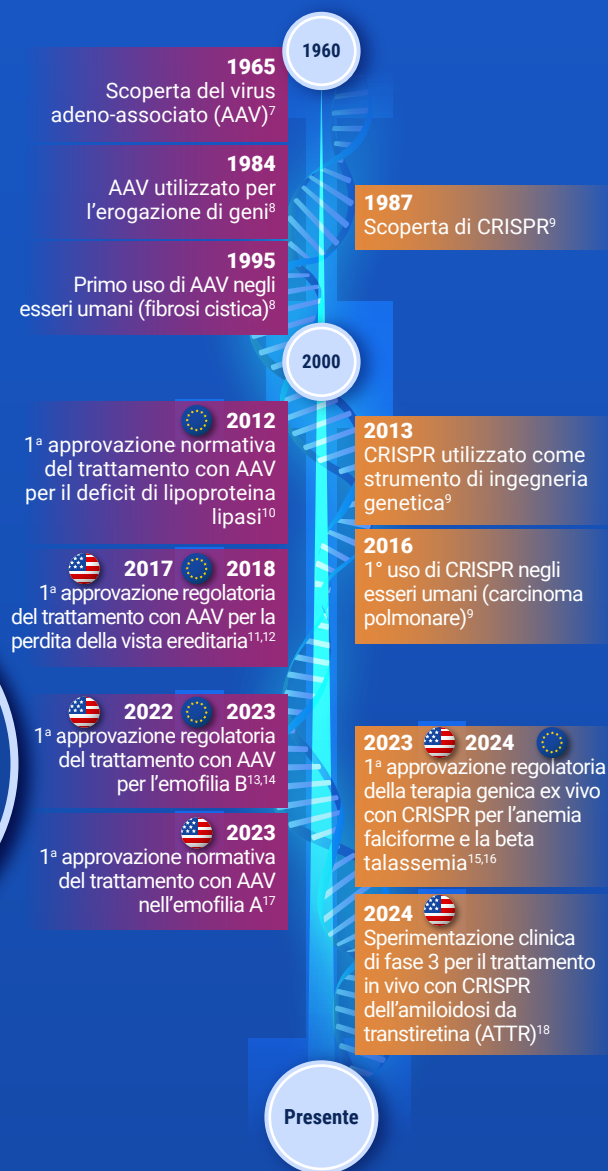
L'inserzione mirata di geni *in vivo* basata su CRISPR è un tipo di editing genetico in fase di studio nell'emofilia B. Aggiungendo un **gene F9 terapeutico**, l'organismo può produrre il **fattore IX di coagulazione funzionale** da sé³⁻⁵



In altre parole...

I geni sono come il manuale di istruzioni dell'organismo. A volte, gli errori ortografici nel manuale ("mutazioni") fanno sì che l'organismo salti una delle istruzioni di cui ha bisogno per produrre un prodotto funzionale, come il fattore IX nei pazienti con emofilia B. L'obiettivo dell'editing genetico è correggere attentamente tali errori ortografici o inserire le istruzioni corrette nel manuale, in modo che l'organismo possa funzionare come dovrebbe e il fattore IX possa essere prodotto⁶

Progressi tecnologici che portano all'inserzione mirata di geni in vivo basata su CRISPR per studi sperimentali sull'emofilia B



Inserzione mirata di geni *in vivo* sperimentale basata su CRISPR per l'emofilia B



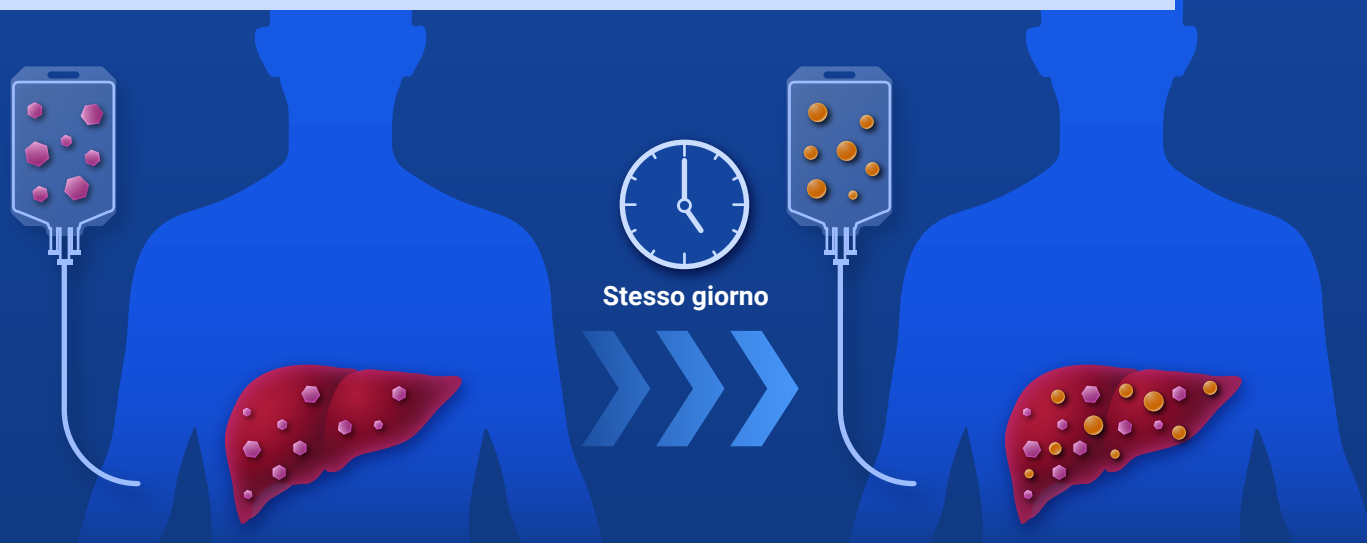
Approfondimento

CRISPR è uno strumento versatile. L'inserzione mirata di geni basata su CRISPR per l'emofilia B è una terapia sperimentale in vivo, il che significa che l'inserzione di geni avviene nelle cellule epatiche all'interno dell'organismo. Con le terapie geniche ex vivo, le cellule dei pazienti vengono rimosse e modificate al di fuori di un laboratorio prima di essere reintrodotte nell'organismo^{4,5,19,20}

L'inserzione mirata di geni sperimentale basata su CRISPR è un processo in due fasi:^{4,5}

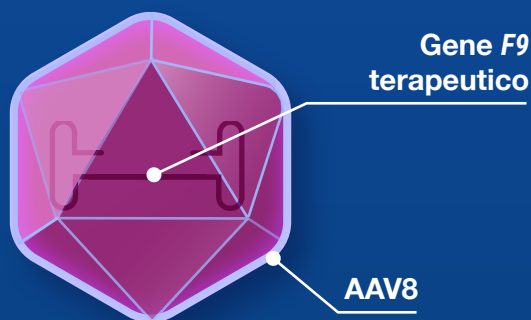
Passaggio 1: Somministrazione del **gene F9 terapeutico** e di **CRISPR**

L'inserzione mirata di geni basata su CRISPR per l'emofilia B è una terapia in vivo somministrata mediante infusione endovenosa, che include due componenti che vengono erogati alle cellule epatiche bersaglio^{4,5}



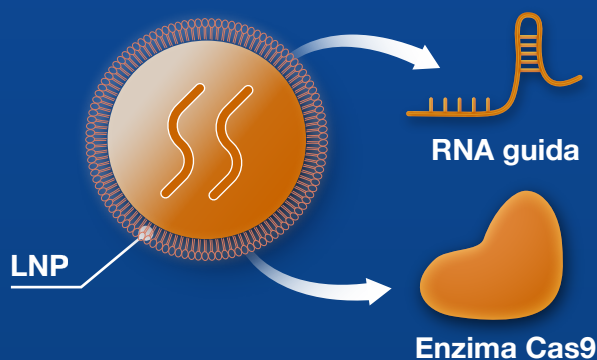
Innanzitutto, il **gene F9 terapeutico** sperimentale viene erogato alle cellule epatiche per fornire istruzioni per la produzione del **fattore di coagulazione IX**^{4,5,8,22}

Quindi, **una nanoparticella lipidica (LNP)** eroga **CRISPR**, uno strumento preciso progettato per consentire l'inserzione mirata del gene in una posizione specifica nel DNA^{4,5,9,25}



Il **gene F9 terapeutico** viene erogato alle cellule epatiche bersaglio come transgene utilizzando un vettore virale noto come **AAV di sierotipo 8 (AAV8)**^{4,5,8,21,23}

Gli **AAV** sono stati modificati, rimuovendo e sostituendo il loro materiale genetico originale con il **gene F9 terapeutico**^{8,22,23}



La tecnologia **CRISPR** è costituita da due parti che cooperano per l'inserzione del gene: un filamento **di RNA guida** e un **enzima Cas9**^{3,9,26}

Le **LNP** appositamente progettate sono veicoli di erogazione dotati di tecnologia CRISPR e sono preferibilmente assorbite dalle cellule epatiche²⁴

Approfondimento

Un **transgene** è una sequenza di DNA o una combinazione di sequenze che possono produrre una proteina funzionale²⁴

- Nell'inserimento genico mirato basato su CRISPR, il transgene, che consiste solo nel gene F9 e non porta un promotore, viene integrato nel genoma del paziente^{4,5}

Approfondimento

Le **LNP** (Lipid-based Nanoparticles [nanoparticelle lipidiche]) vengono utilizzate per impacchettare il gRNA e l'mRNA per codificare l'enzima Cas9, in quanto sono il metodo preferito per l'erogazione dell'RNA al fegato^{8,25}

L'inserzione mirata di geni sperimentale basata su CRISPR è un processo in due fasi:^{4,5}

Passaggio 2: Inserzione mirata del gene terapeutico **F9**

Una volta all'interno delle cellule epatiche bersaglio, **CRISPR** è progettato per mirare in modo preciso a una posizione specifica nel DNA per consentire l'inserzione mirata del **gene F9 terapeutico**^{4,5,20}

Innanzitutto, l'**RNA guida** l'enzima **Cas9** in una posizione corrispondente all'interno del DNA^{4,5,20,27}

Cas9

Posizione precisa

Guida RNA

Gene dell'albumina

Gene F9 terapeutico

Quindi, l'enzima **Cas9** crea un sito di inserzione...^{4,5,20}

...dove viene inserito il **gene F9 terapeutico**^{4,5,20,29}



Approfondimento

Il **gene dell'albumina** viene scelto come sito di inserzione perché presenta uno dei promotori epatici specifici più attivi^{4,5,28}



Approfondimento

L'**RNA guida** l'enzima **Cas9** in una posizione corrispondente all'interno della sequenza del DNA. Solo allora l'enzima **Cas9** creerà una piccola apertura per l'inserzione del nuovo gene²⁰



Approfondimento

L'inserzione mirata di geni sperimentale basata su **CRISPR** genera la proteina del **fattore IX** identica alla proteina del **fattore IX** umano funzionale presente in natura^{4,5}

L'inserzione del gene **F9** terapeutico è progettata per aiutare l'organismo a produrre il **fattore IX** funzionale utilizzando le istruzioni del gene terapeutico³⁻⁵





Se il trattamento non ha successo, i pazienti possono parlare con i loro operatori sanitari del fatto che possano tornare in sicurezza alla loro routine di trattamento precedente o ad altre opzioni di trattamento che non utilizzano AAV^{4,5,27}



L'inserzione mirata di geni basata su CRISPR può essere adatta all'uso pediatrico poiché la ricerca traslazionale indica che il trattamento è duraturo anche con l'accrescimento del fegato^{4,5}

- © 2024 Regeneron Pharmaceuticals Inc. Tutti i diritti riservati. 06-2024 US-BEGNV131-POS-24-04-0001