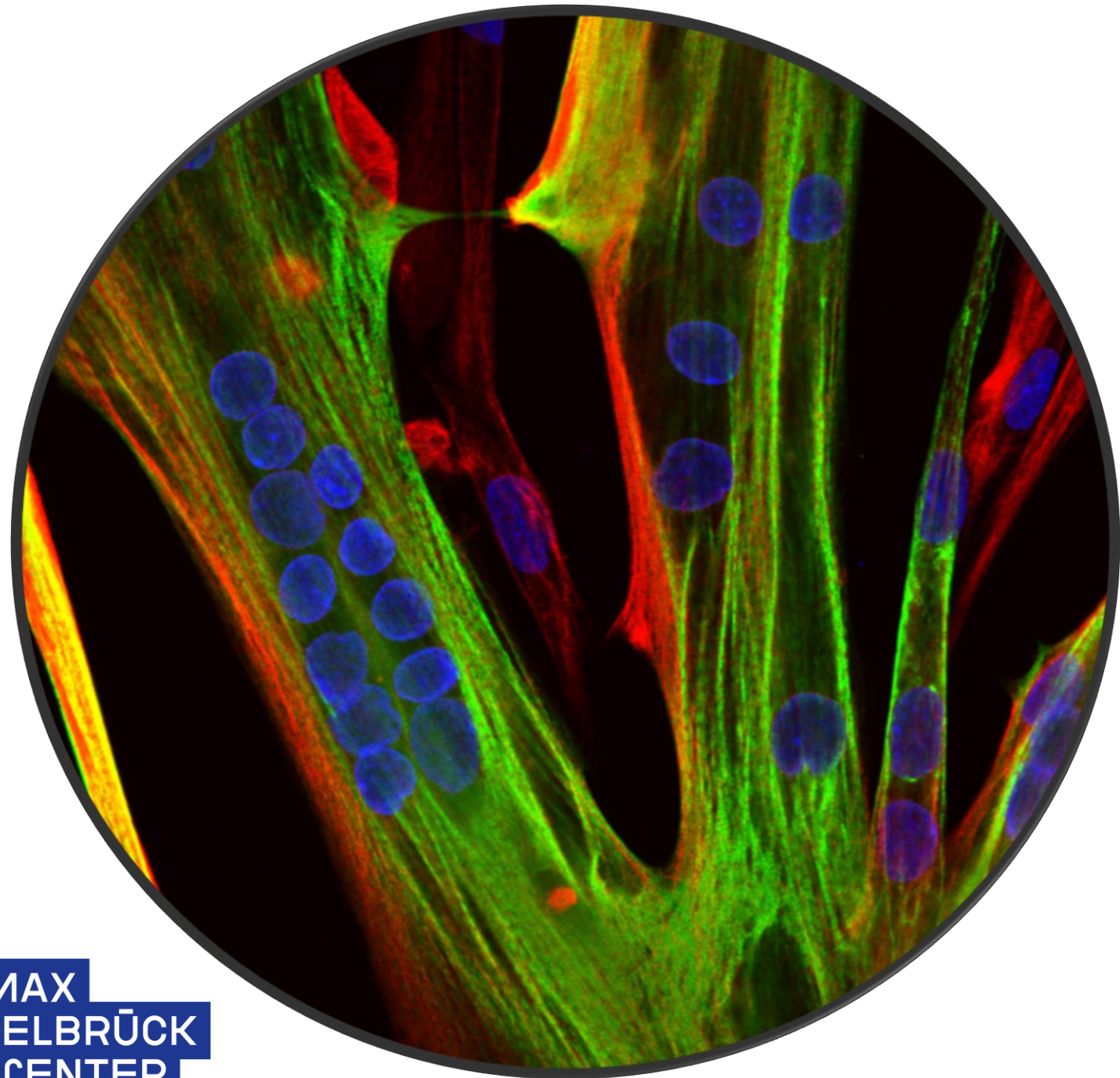
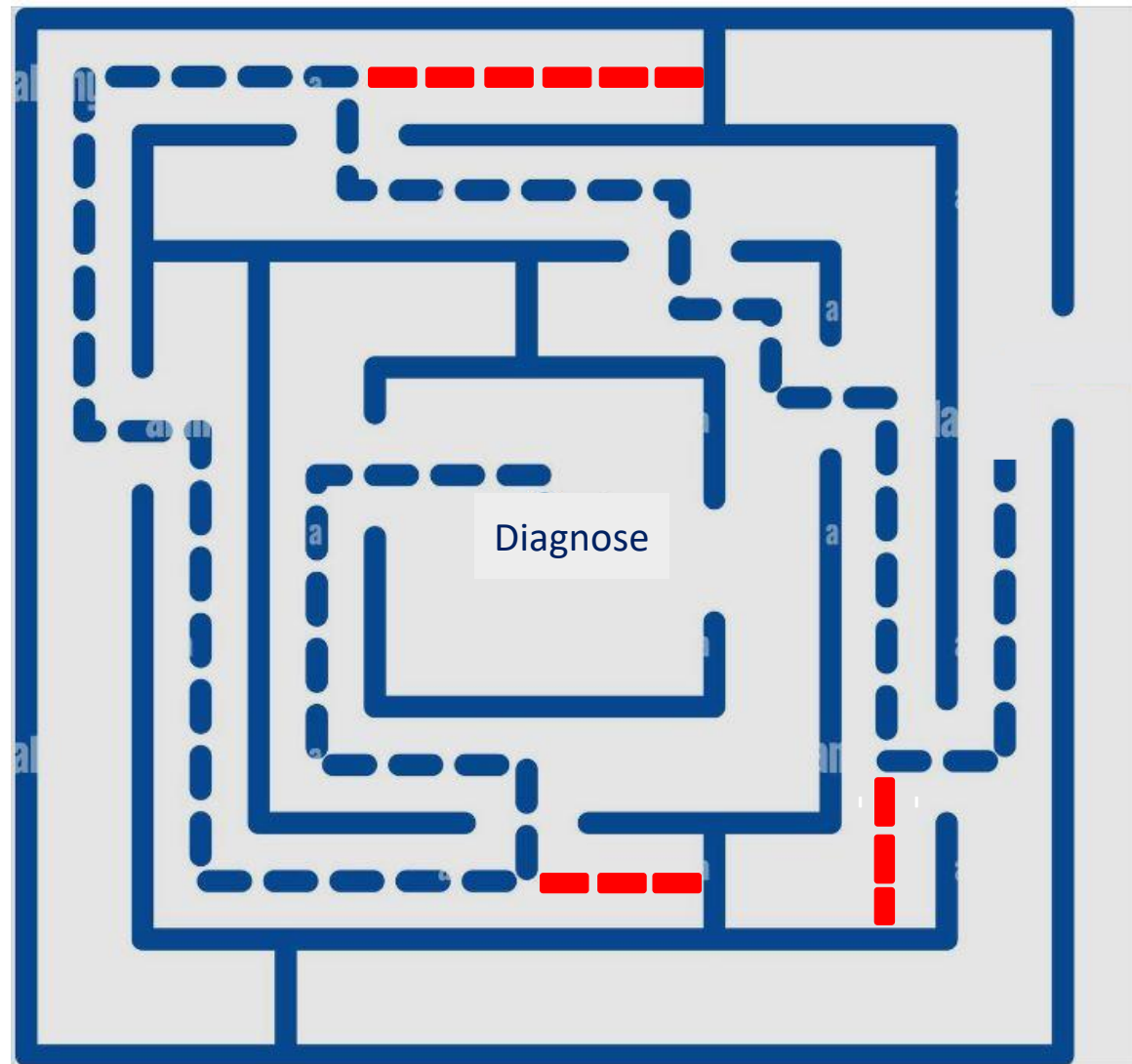


Zukunft der Genforschung

Dr. med Elisabetta Gazzero
Abteilung für Muskelforschung
Leitung Prof. Simone Spuler



Personalisierte Gentherapie wird für LGMD zur Realität



Therapie

Herausforderungen:



Methodologie



Diskussion mit Bundesbehörden



Finanzierung

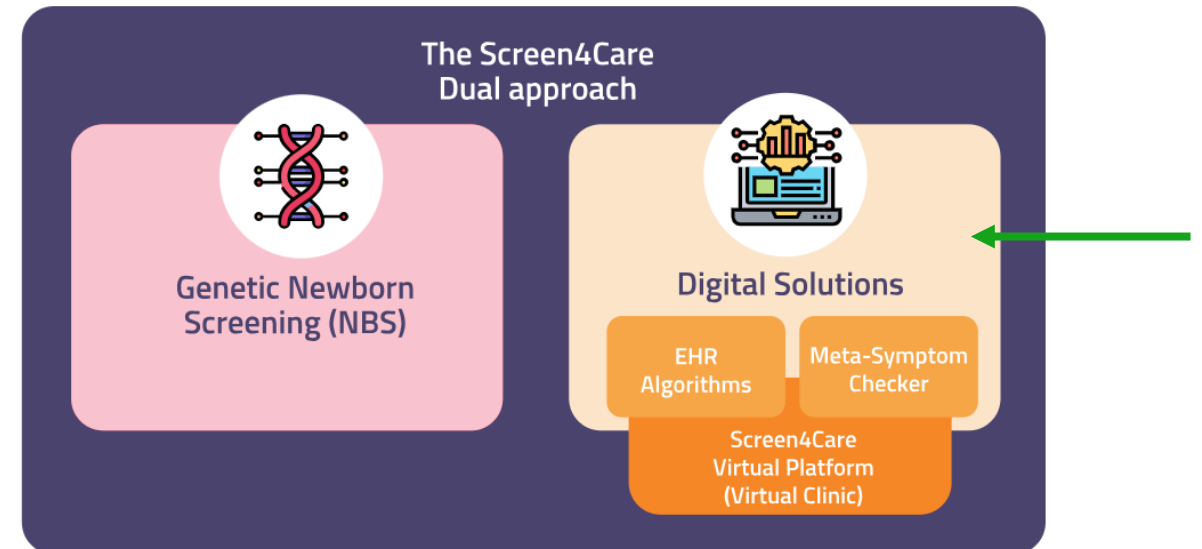
1. Die präzise genetische Diagnose!

50 Typen von LGMDs

NGS und Exome Sequenzierung → eine präzise Diagnose in 50-80% der Patient*innen

Warum gibt es noch undiagnostizierte Fälle?

- Ursächliche Varianten wurden identifiziert aber falsch interpretiert
- Komplexe Genetik mit mehr als einem verantwortlichen Gen.
- Neue Gene, die noch nicht in den „Panels“ enthalten sind. Vielleicht viele neue Gene mit jeweils nur wenigen Fällen. Internationale Kohorten sind erforderlich



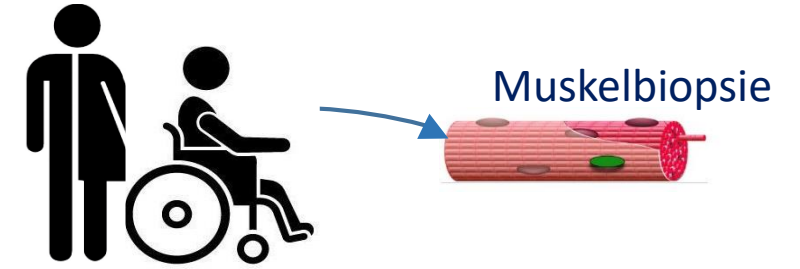
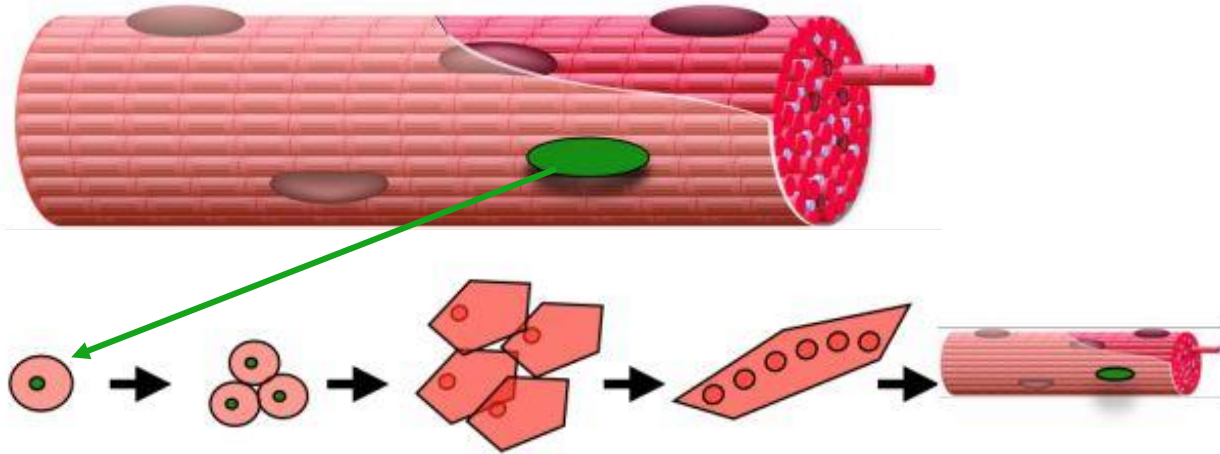
Savarese M, et al. Neuromuscul Disord. 2015

Ghaoui R, et al.. JAMA Neurol. 2015

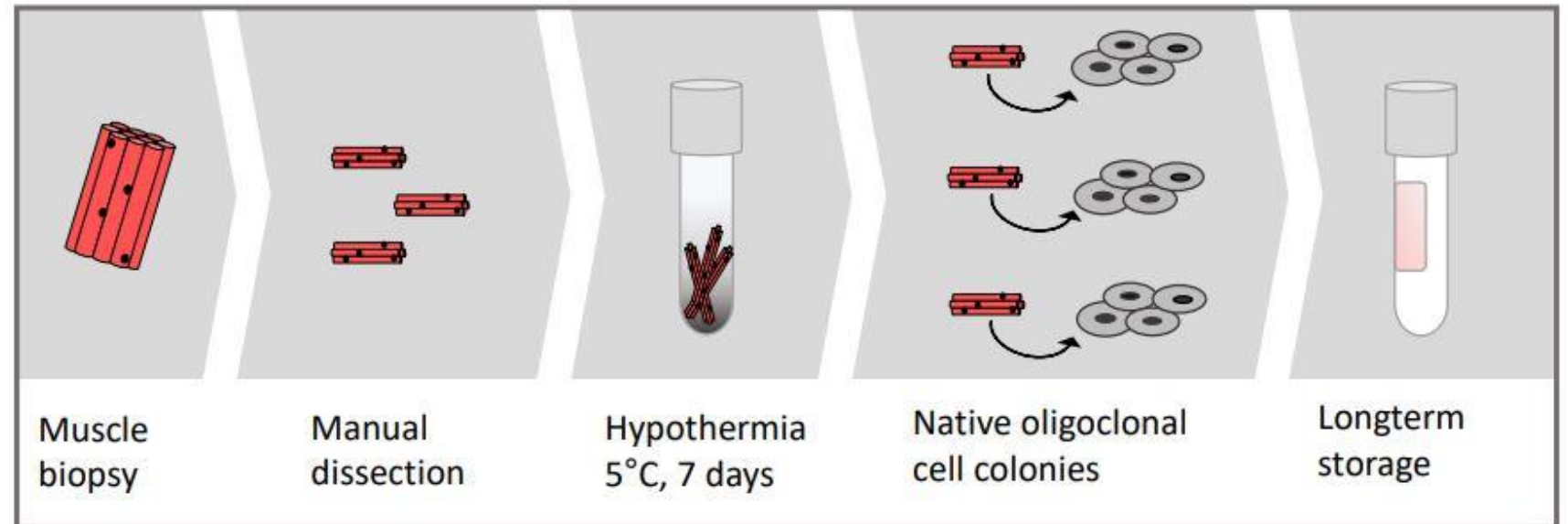
Savarese M. unpublished results, Folkhälsan Research Center, Helsinki, Finland

Fiorillo C. unpublished results , Gaslini Institut, Genoa, Italien

2. Zugang zu Muskelzellen mit hohem Regenerationspotenzial



- 100% Muskelstammzellen cells
- hohes Regenerationspotenzial



• IP: Charité/MDC (DE10 2014 216872), 2015 PCT (WO 2016/030371), since 2017 national phase EU, US, JPN • Marg et al., J Clin Invest, 2014 • Marg et al., Nature Communications, 2019

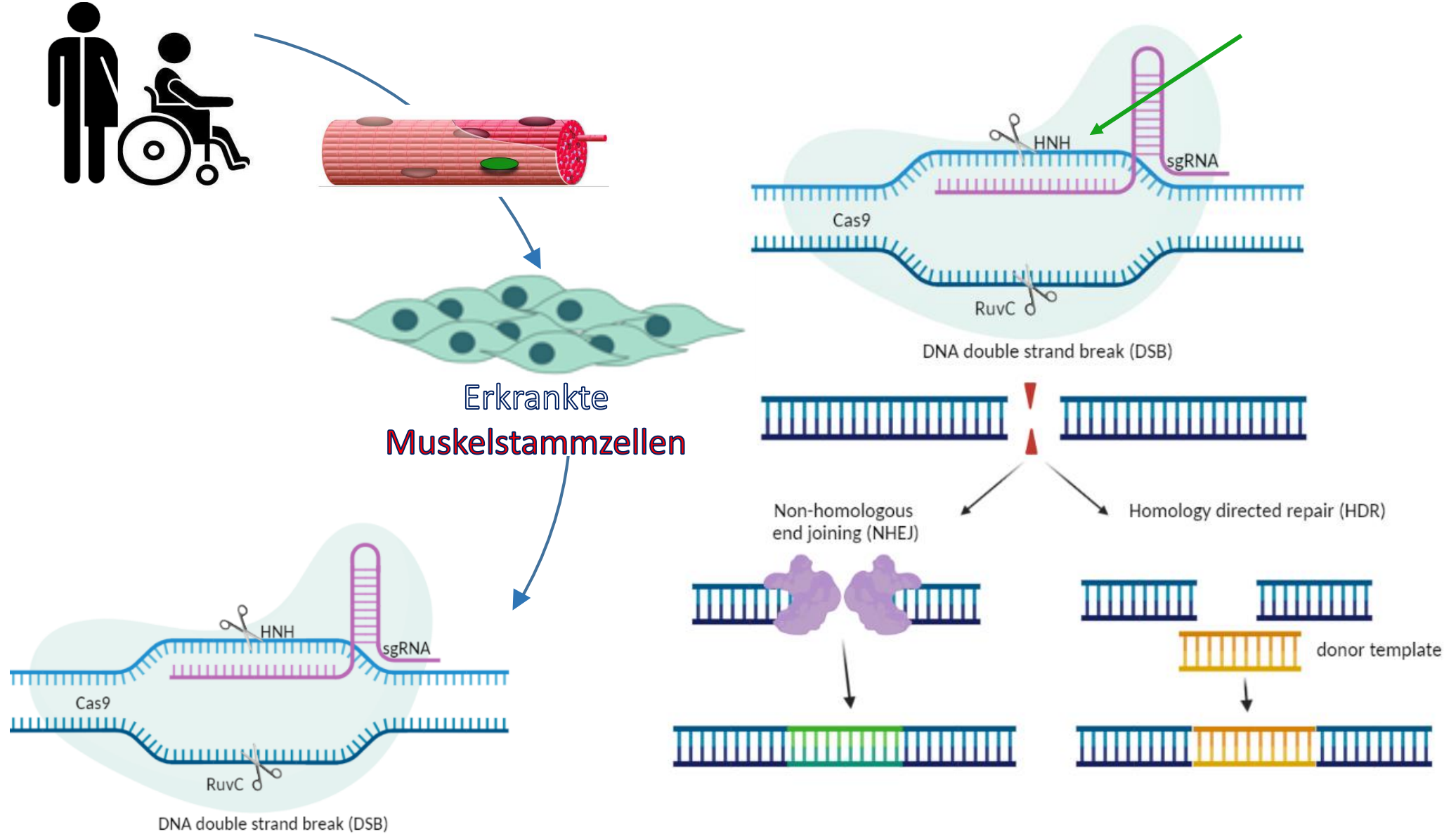
2. Neues Pilot Labor der Abteilung für Muskelforschung

Bei der Isolierung der Muskelstammzellen kontrollieren wir und optimieren jeden Herstellungsschritt auf

- Sauberkeit
- Reinheitsgrad
- Effizienz



3. Gene editing: die präzise Korrektur der Mutation



3. Gene editing: personalisierte Methoden

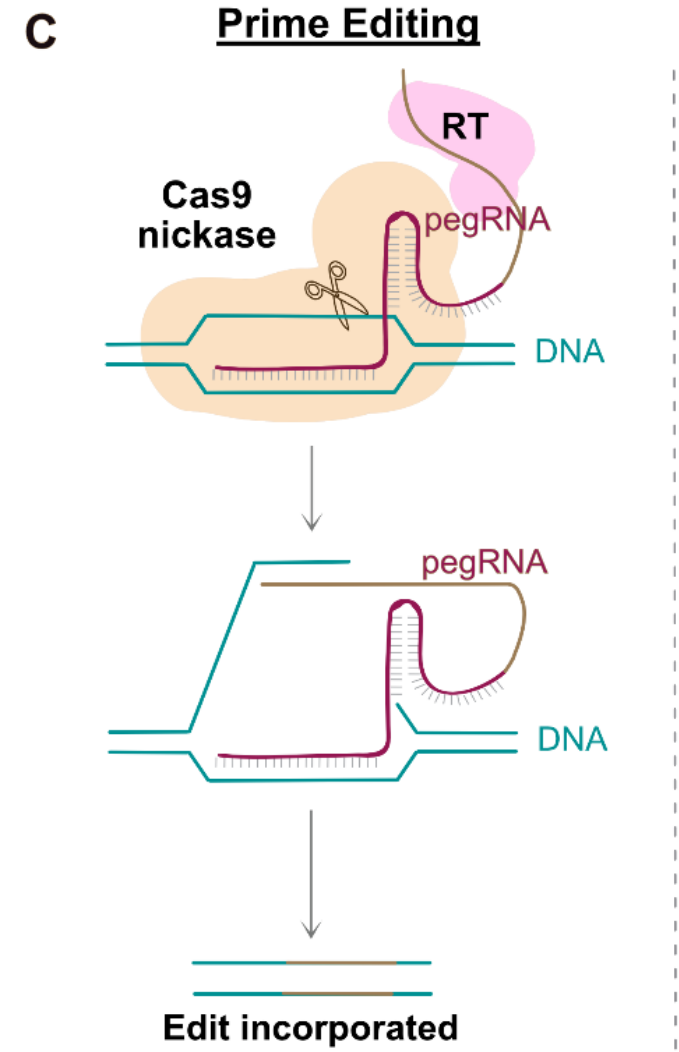
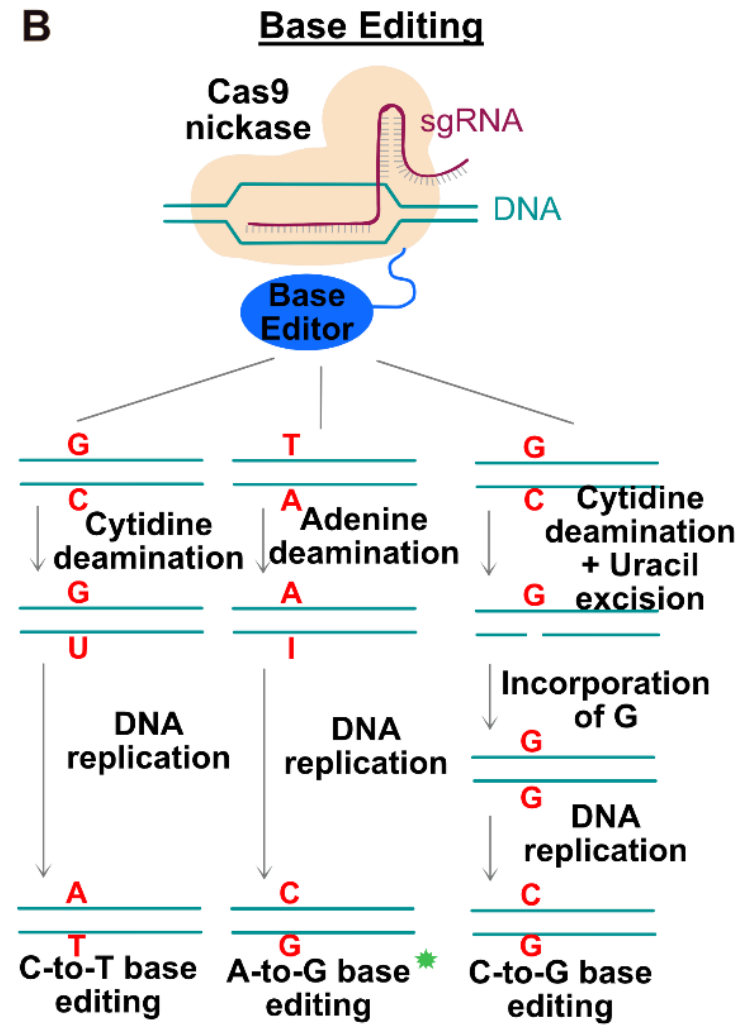
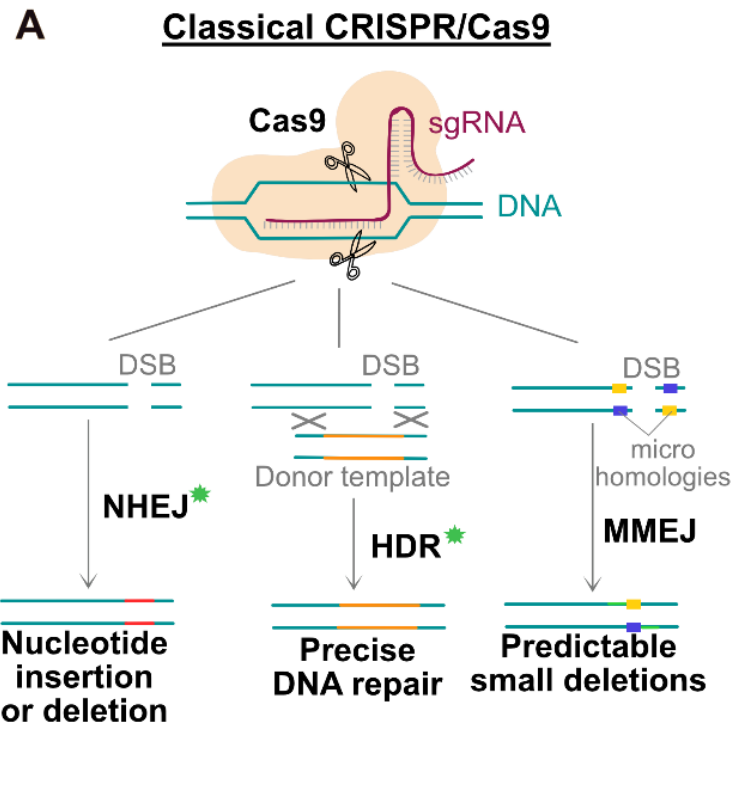
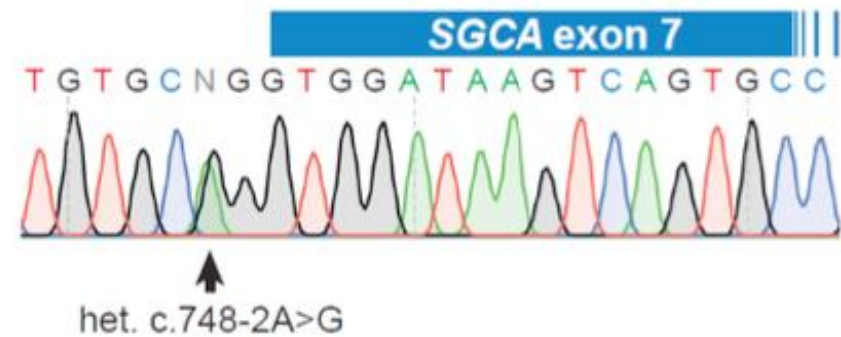
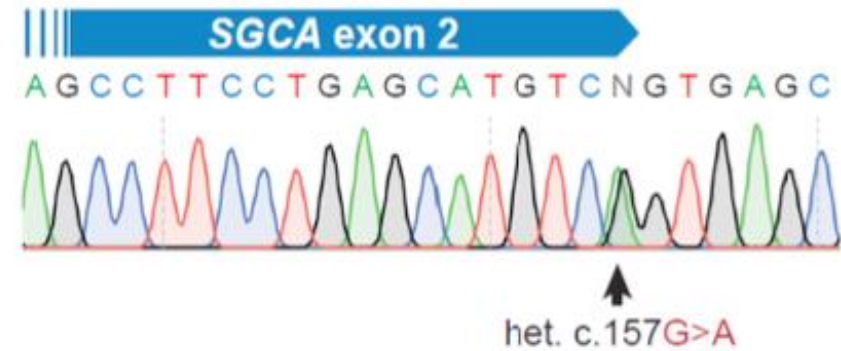
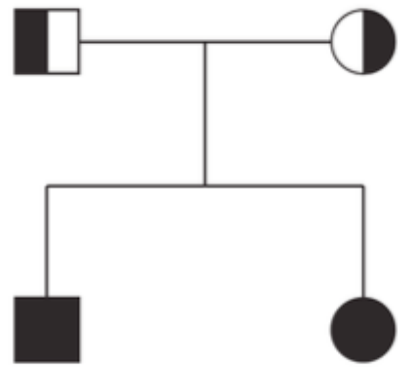
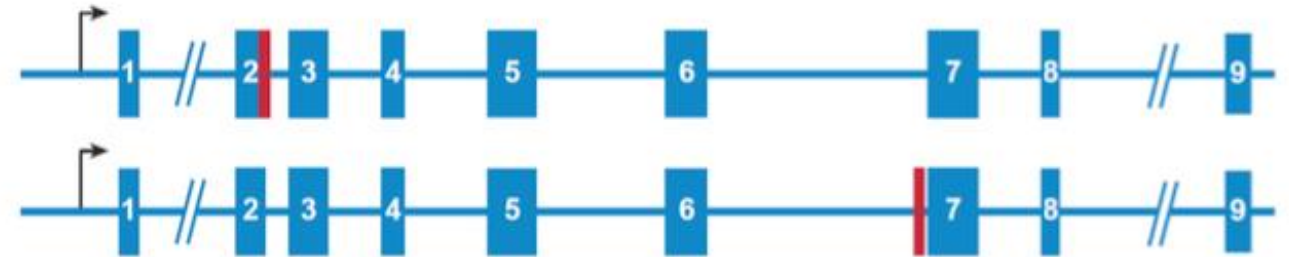
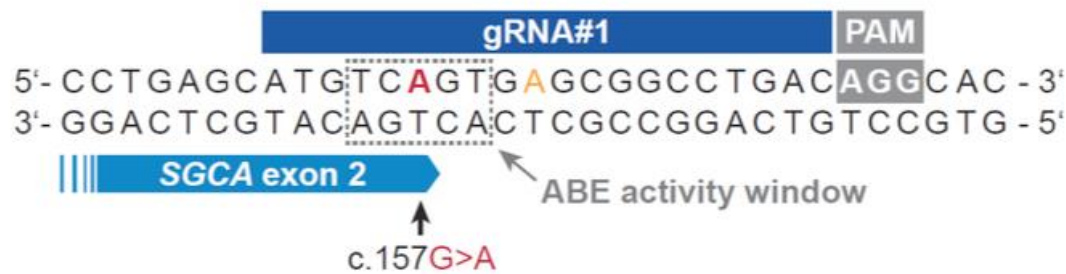
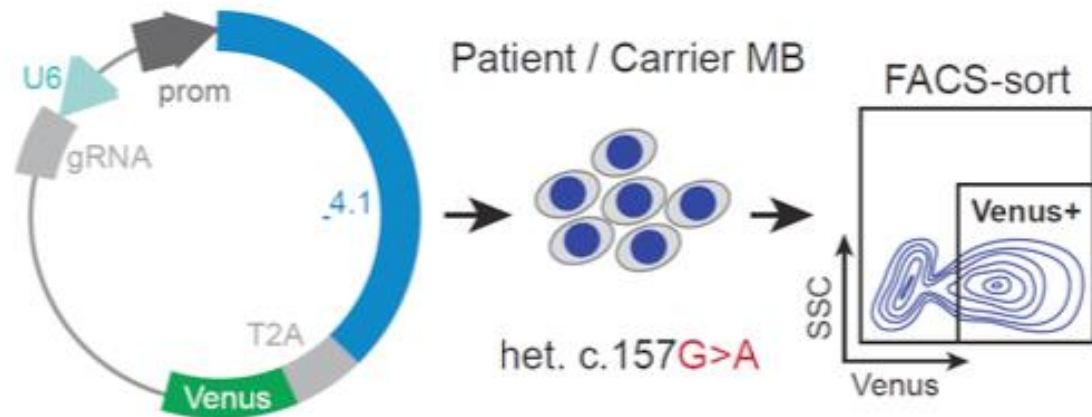


Bild von Dr. S. Müthel

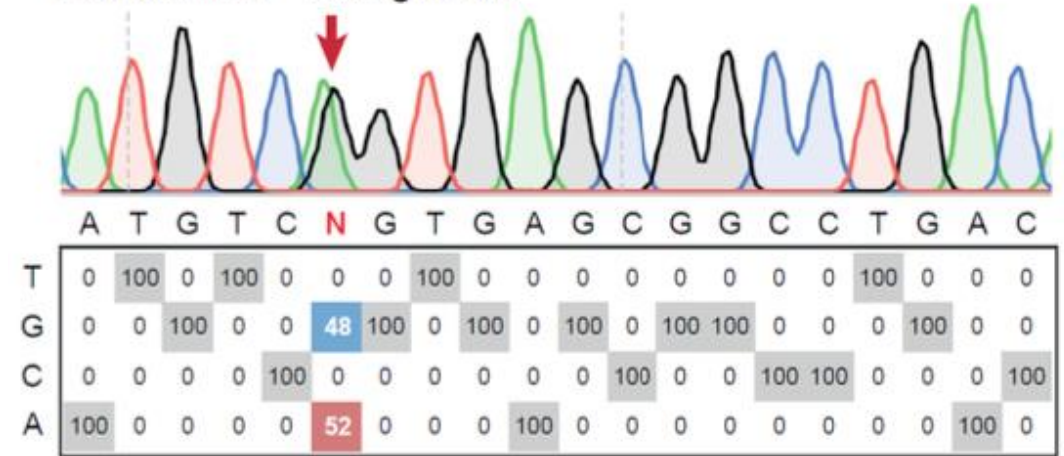
3. Gene editing: α -Sarkoglykanopathie



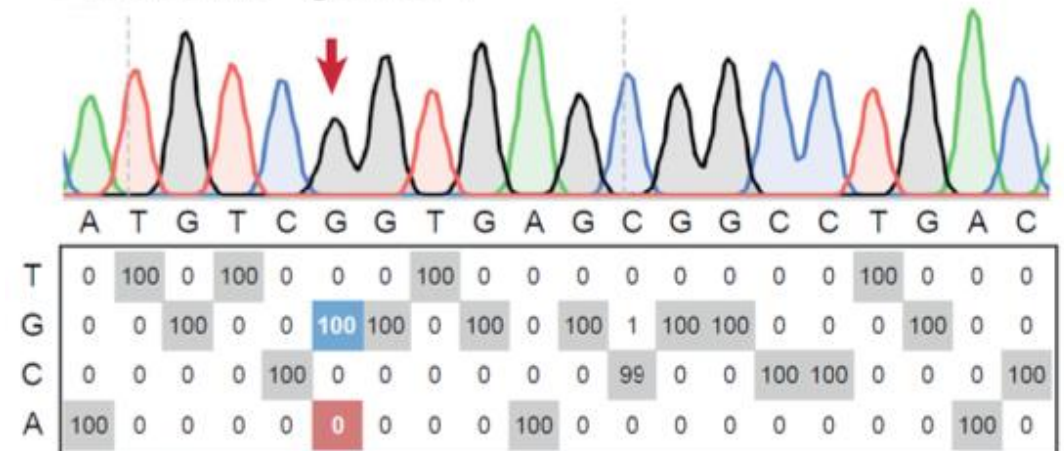
3.Reparatur der SGCA-Mutation in Patient-Muskelstammzellen



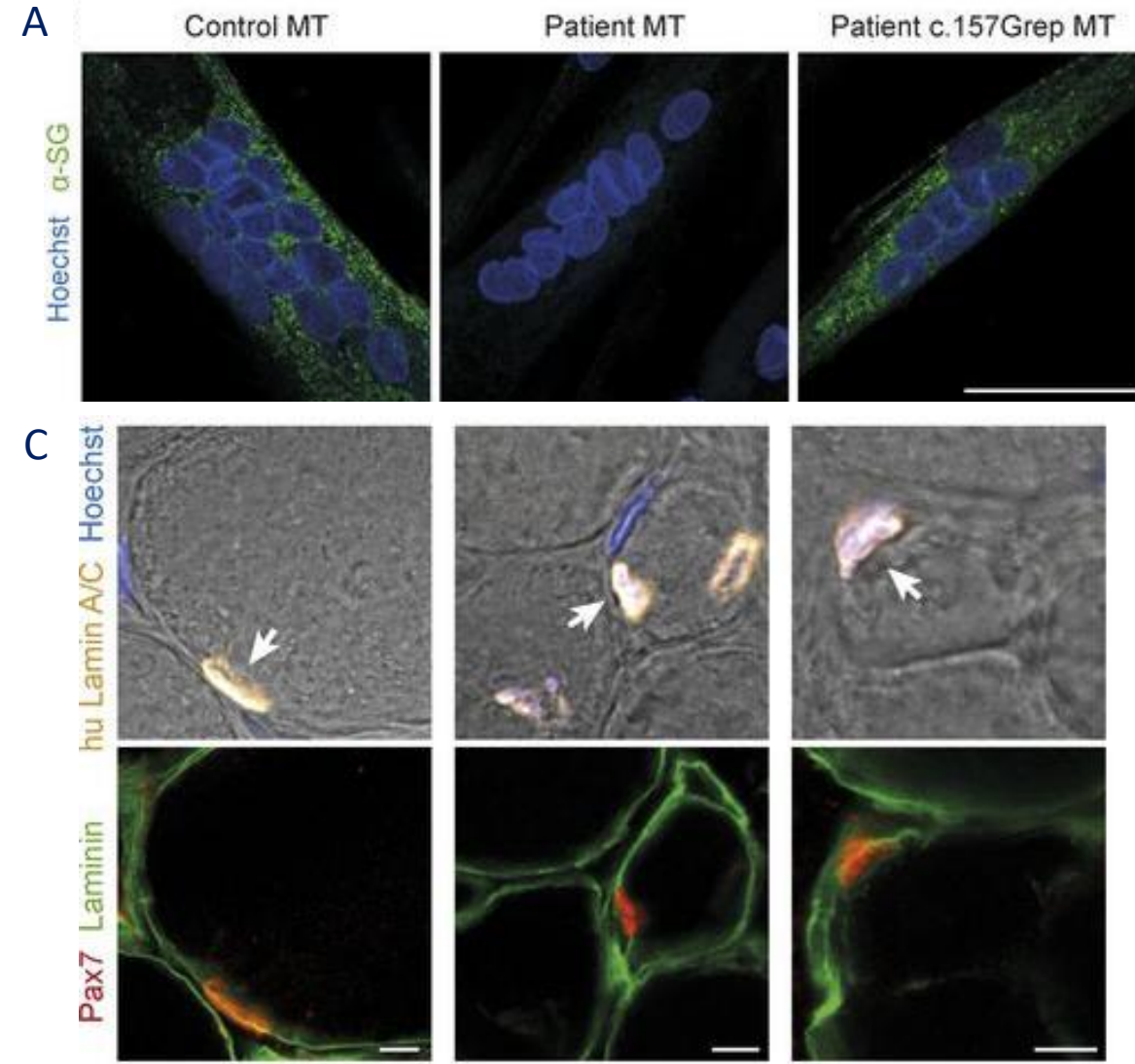
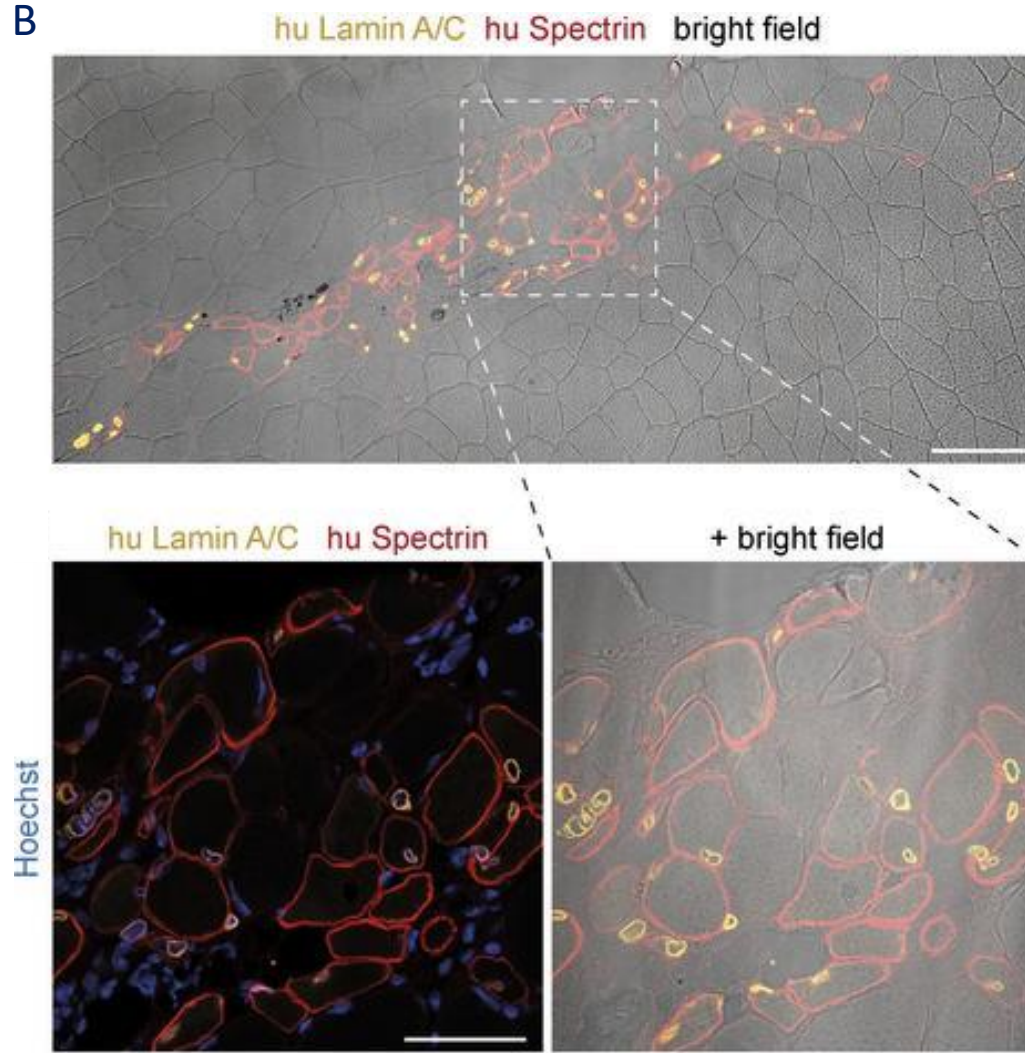
Patient MB - w/o gRNA



Patient MB - gRNA#1

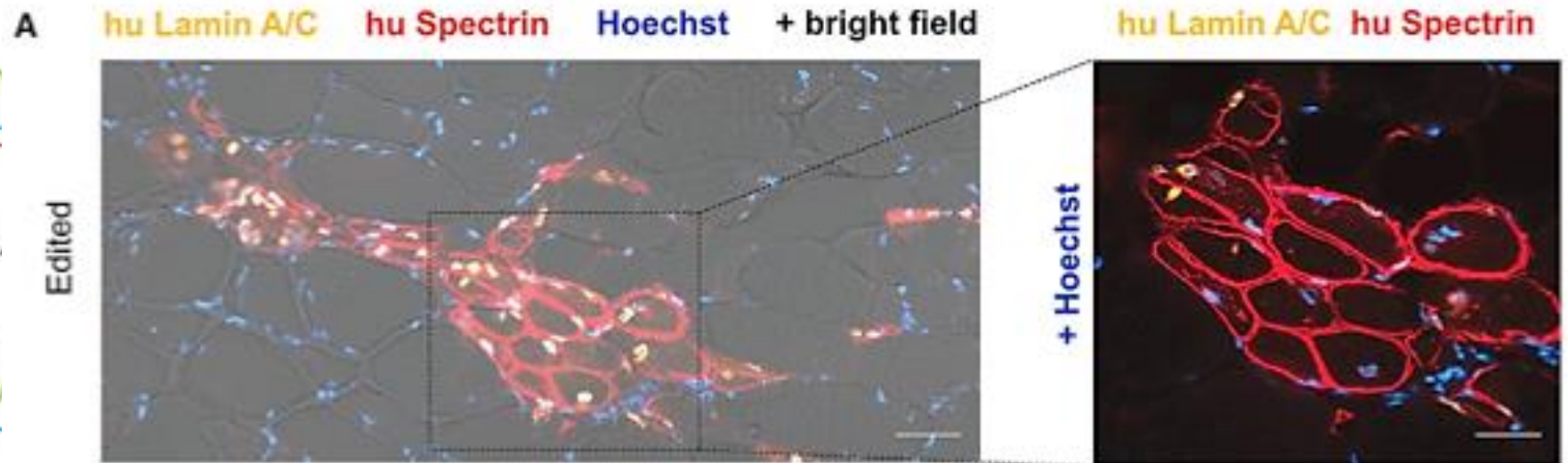
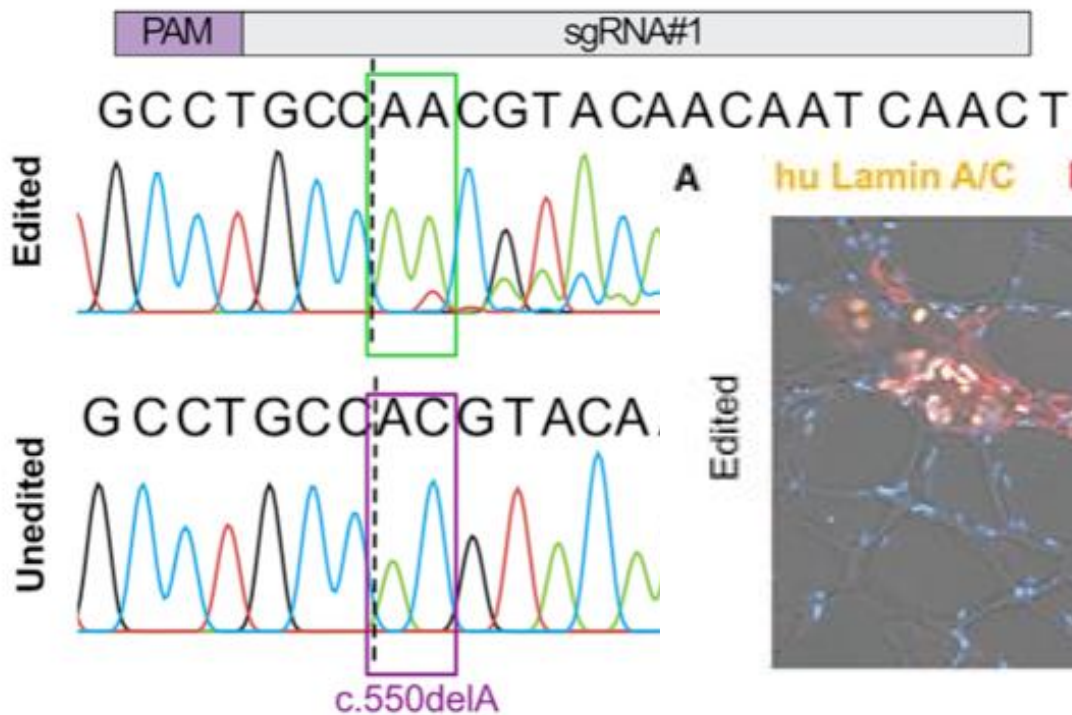
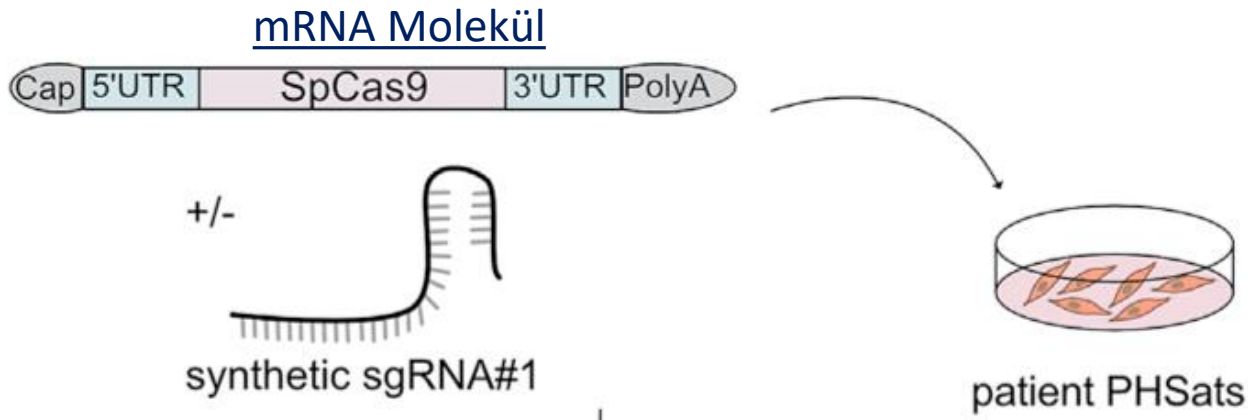


3. SGCA c.157Grep Zellen: exprimieren Sarkoglykan (A), lassen *in vivo* menschliche Myofasern entstehen (B), bilden neue Muskelstammzellen (C)



3. Gene editing: Calpainopathien

28 Patienten in unserer HSA



S.Müthel Mol. Therapy 2023

4. Analyse der Off-Target Gen-Editierung

Menschliche Genom: 3,200.000.000 bilionen Basenpaare

Synthetic sgRNA guide
20-22 Basenpaare

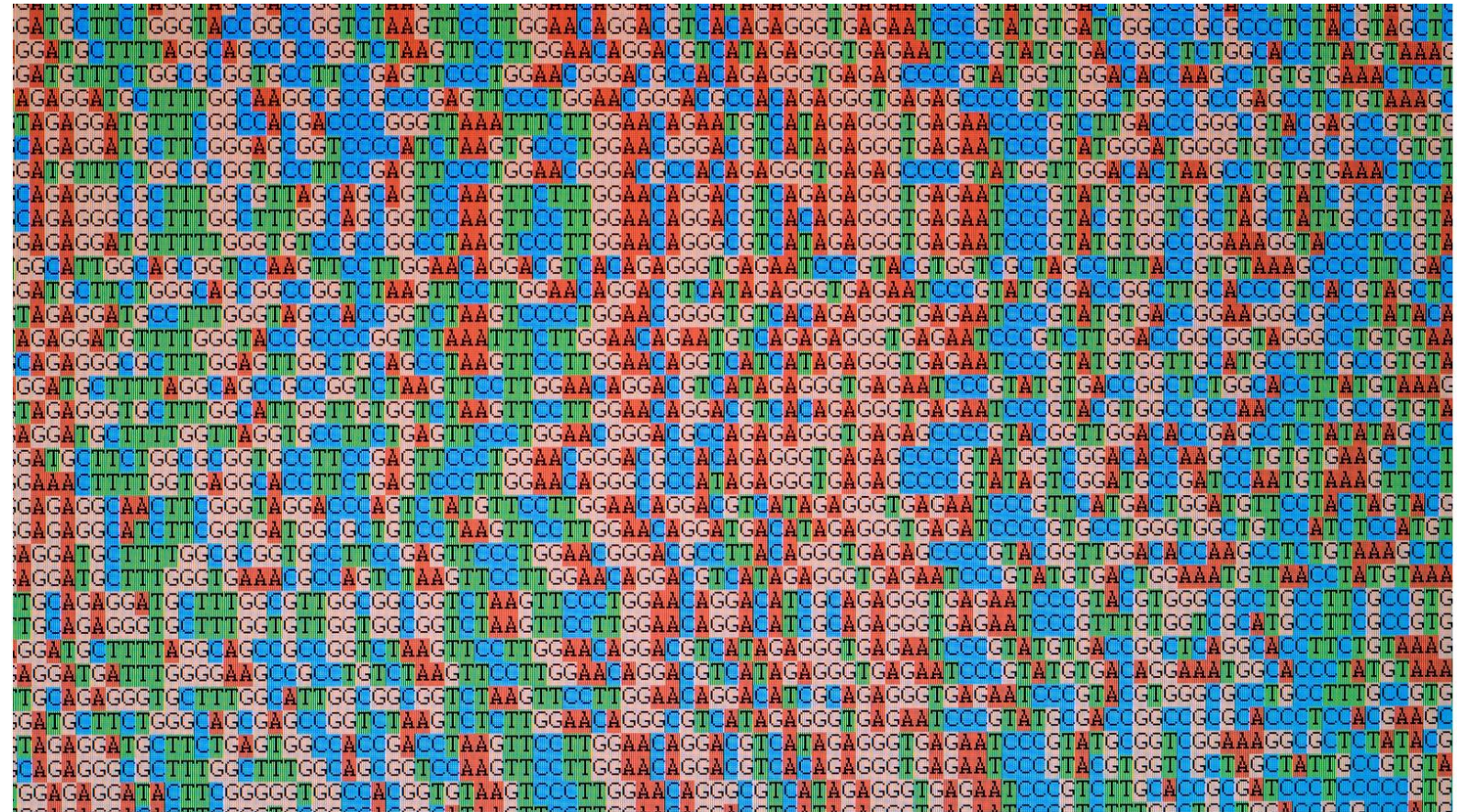
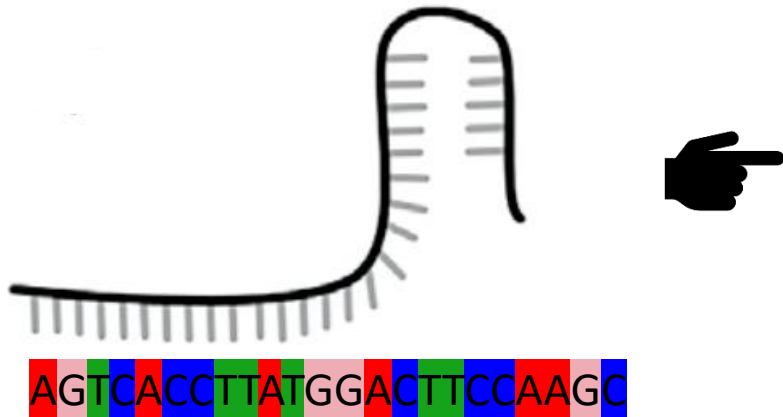
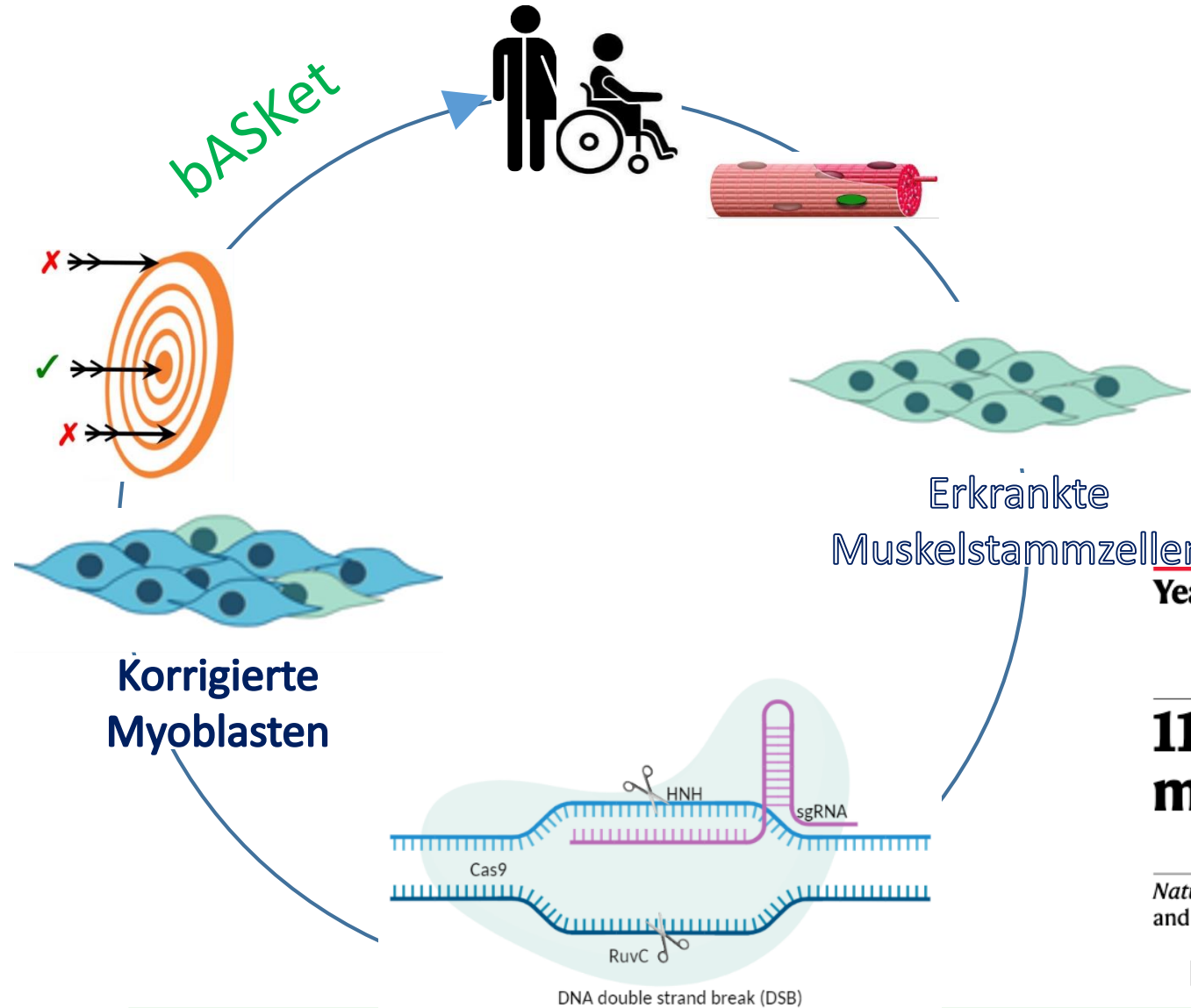


Bild vom The New York Times, 2016

4. First in human klinische Studie mit Transplantation autologer ex vivo gen-editierter Muskelstammzellen



bASKet phase 1a/2 klinische Studie:

- Sicherheit
- Wirksamkeit

Year in review

<https://doi.org/10.1038/s41591-022-02132-3>

11 clinical trials that will shape medicine in 2023

Check for updates

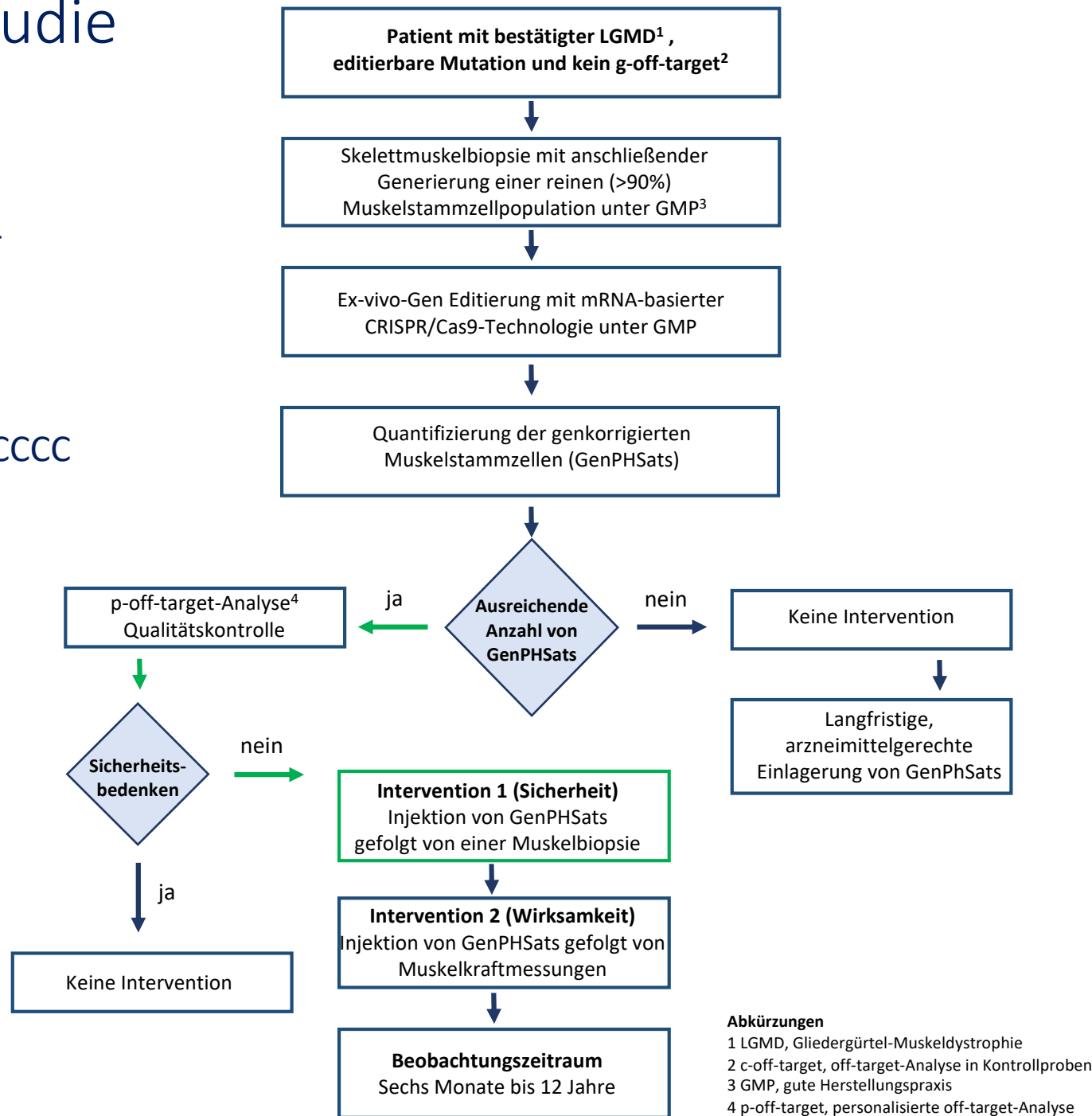
Nature Medicine asks leading researchers to name their top clinical trial for 2023, from cervical and prostate cancer screening to new drugs for Parkinson's disease and Alzheimer's disease.

Nature Medicine 28, 2444–2448 (2022)

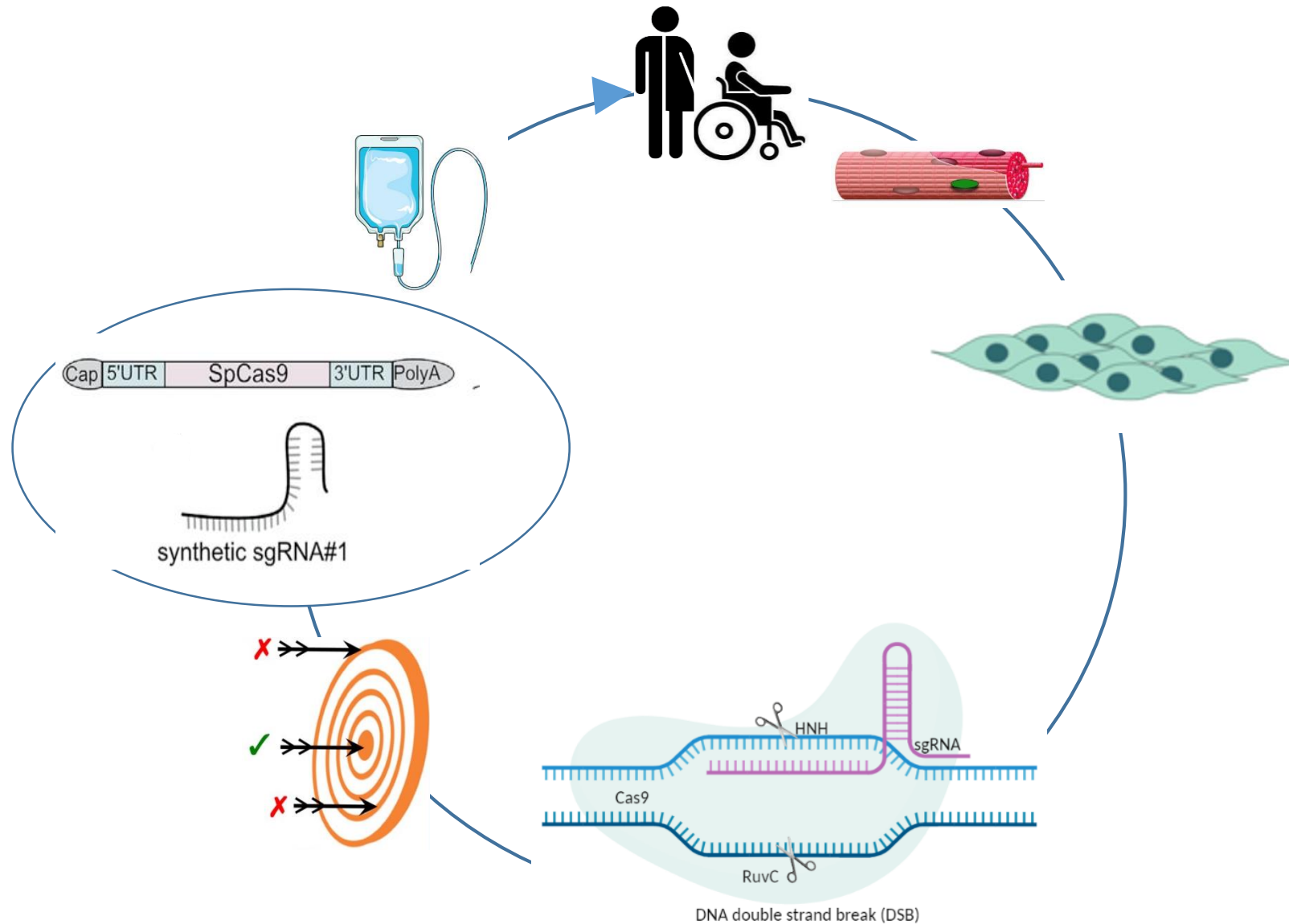
4. bASKet-Studie

Entsprechende Mutationen:

- *CAPN3* c.550delA
- *SGCA* c.157G>A
- *SGCA* c.739G>A
- *SGCA* c.229G>A
- *DYSF* c.4872_4876delinsCCCC
- *DMD* c.9G>A



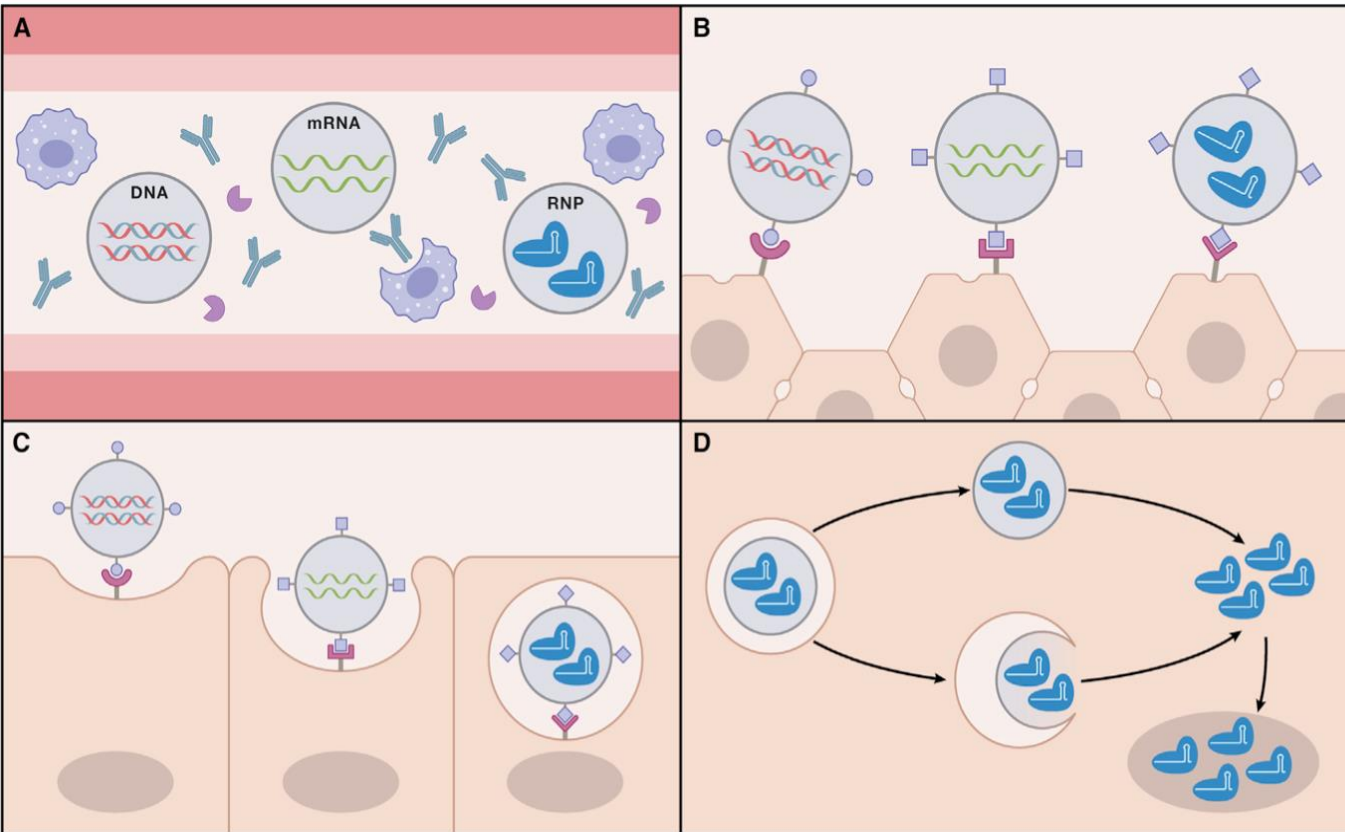
5. CRISPRs-Cas9 Therapie *in vivo*



5. CRISPR-Cas9 Therapie in vivo: Herausforderungen

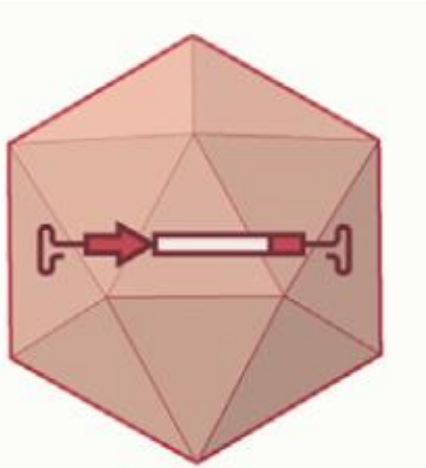
In-vivo-Lieferung der gene-editierenden Wirkstoffe

- Die Transportvehikel müssen ihre Ladungen vor dem Abbau *in vivo* schützen.
- Die Transportvehikel müssen die Zielzellen binden.
- Transportvehikel müssen die Membran der Zielzelle durchqueren und ihre Fracht freisetzen.



5. CRISPR-Cas9 Therapie *in vivo*: Vehikel

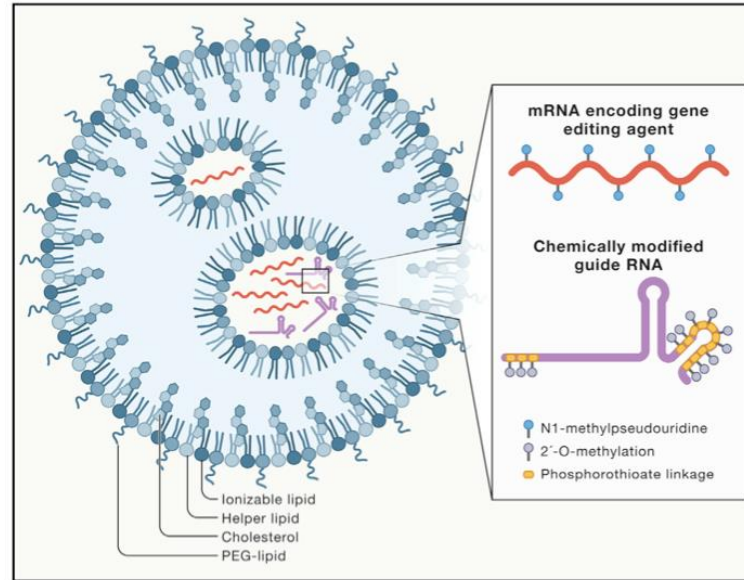
Virale Vektoren



Risiken:

- Immunogenität,
- Verlängerte Expression
- Off-Target-Gen-Editing
- Mögliche genomische Integration
- Dosislimitierende Toxizität

Lipidnanopartikeln

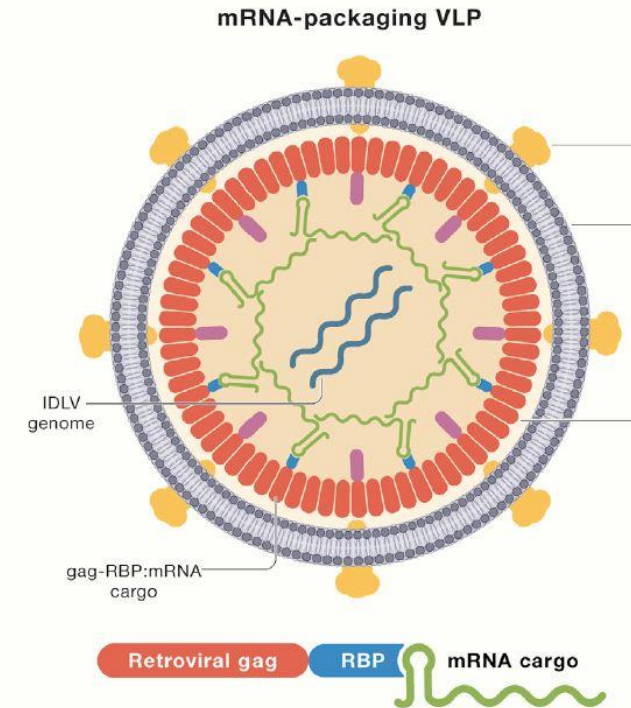


Zu prüfen:

- Erzielung von Muskelgewebe
- Effizienter Eintritt in die Muskelzellen



Virus-like Partikeln



Eine neue Methode, die sich noch in der präklinischen Phase befindet

5. *ex vivo* und *in vivo* Gen-Editierung

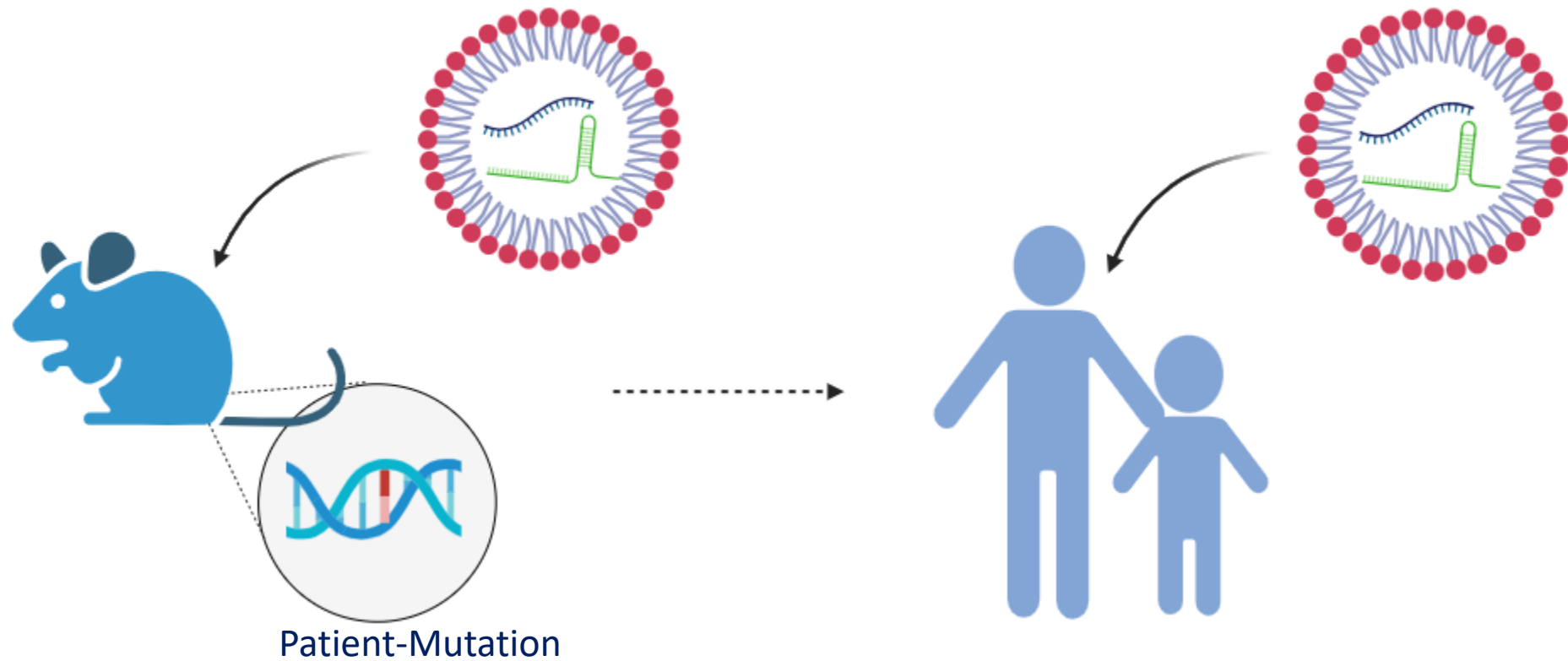


Bild von S. Krishna

Herausforderungen

Gegenwart

- *Ex Vivo*: die Verfügbarkeit von Muskelzellen in frühen Passagen und mit hoher Regenerationsfähigkeit ist begrenzt
- *In-vivo*: preklinische Studien zu den Lieferung-Technologien
- Entwicklung und Validierung der Analyse für Off-target Gen-Editierung



Zukunft

- früher Zeitpunkt der Biopsie, Minimierung der Belastung, Verbesserung der Zell-Expansion
- Klinische Studien
- Klinische Anwendung

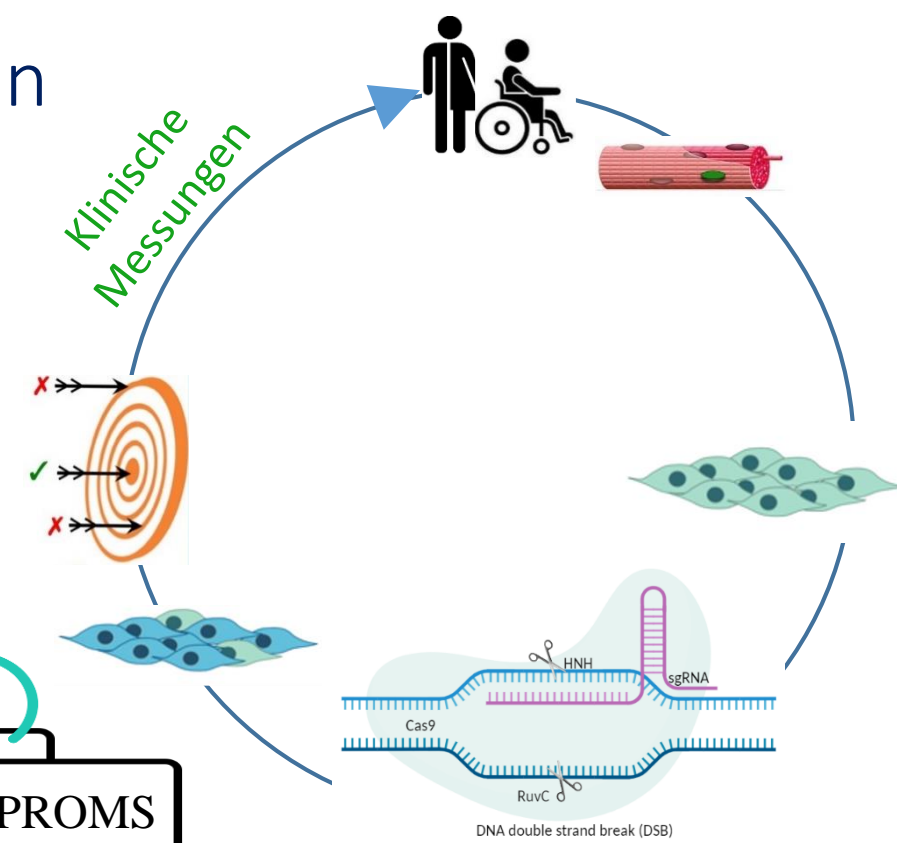
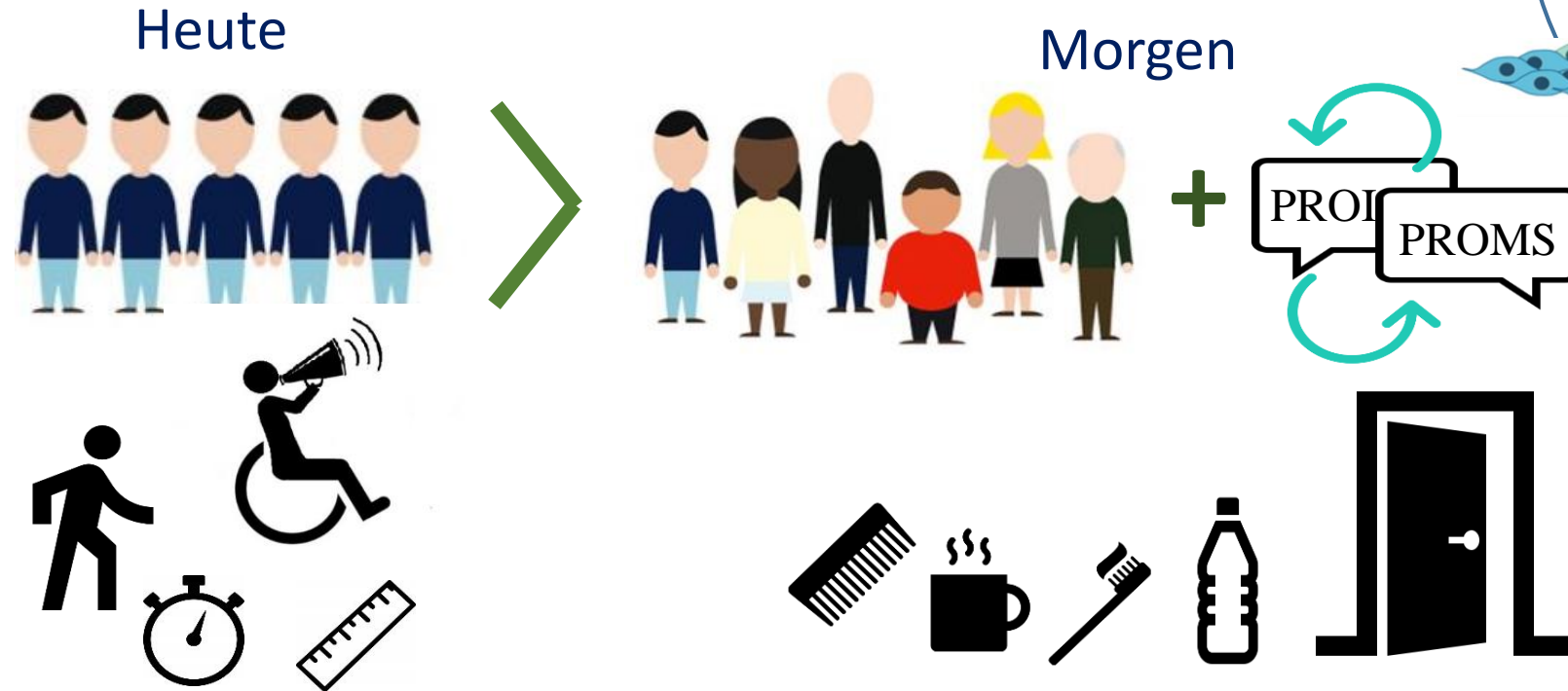
Herstellung nach arzneimittelrechtlichen Standards

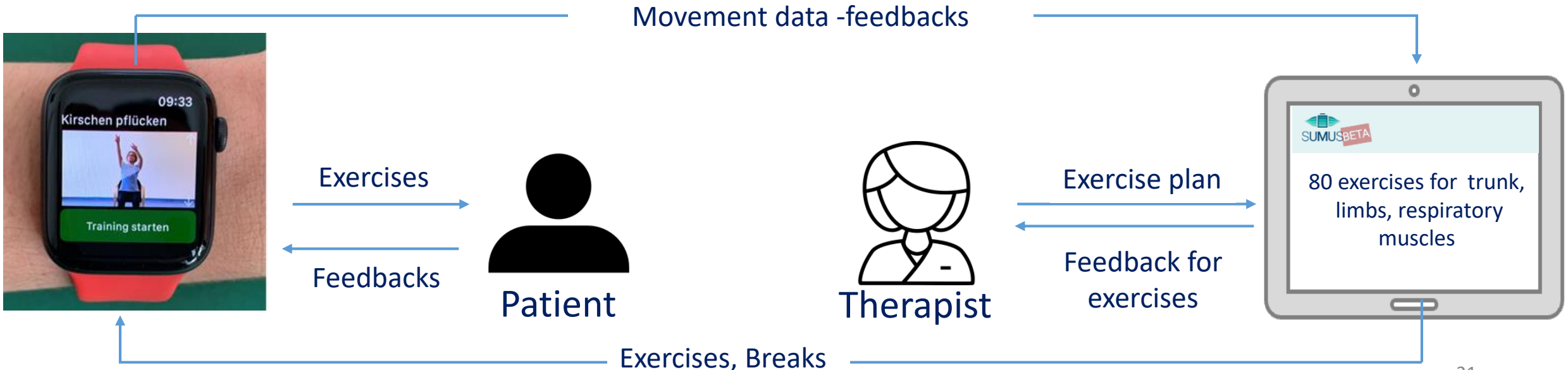
Finanzierung



6. Digitale Messungen in klinischen Studien

- Entwicklung neuer Studienendpunkte
- Beschleunigung der Planung/Design und Rekrutierung der Studien
- Befähigung der Studienteilnehmer
- Kontinuierliche Überwachung=> >Sensitivität





Unsere Einsicht

Um nützliche Daten aus der realen Welt zu sammeln, ist eine vertrauenswürdige Gemeinschaft der Schlüssel

Patienten

Therapeuten

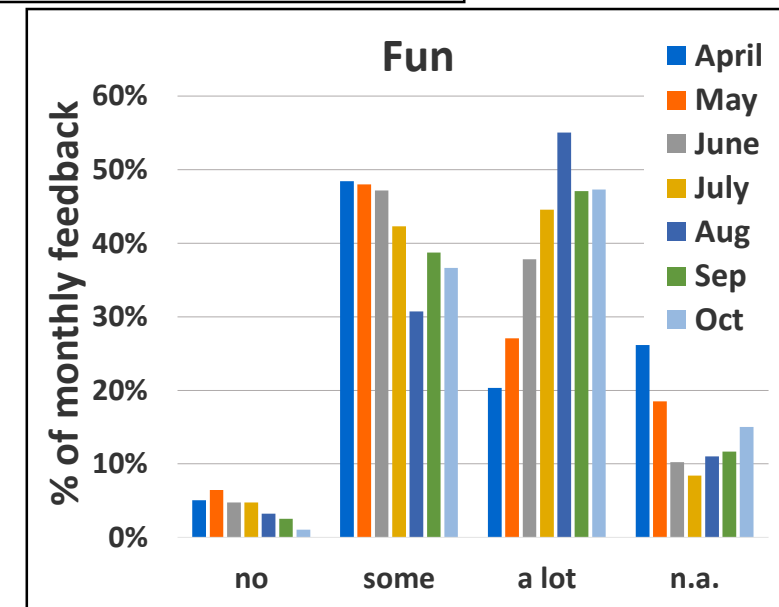
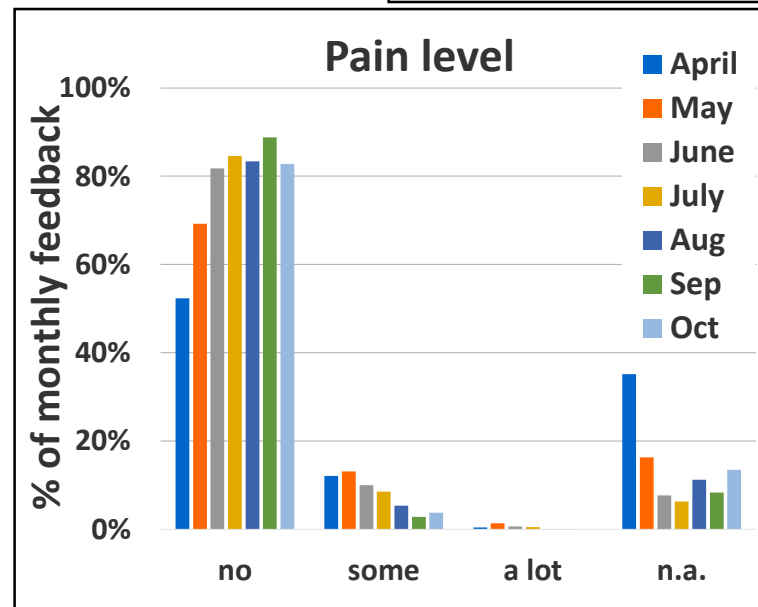
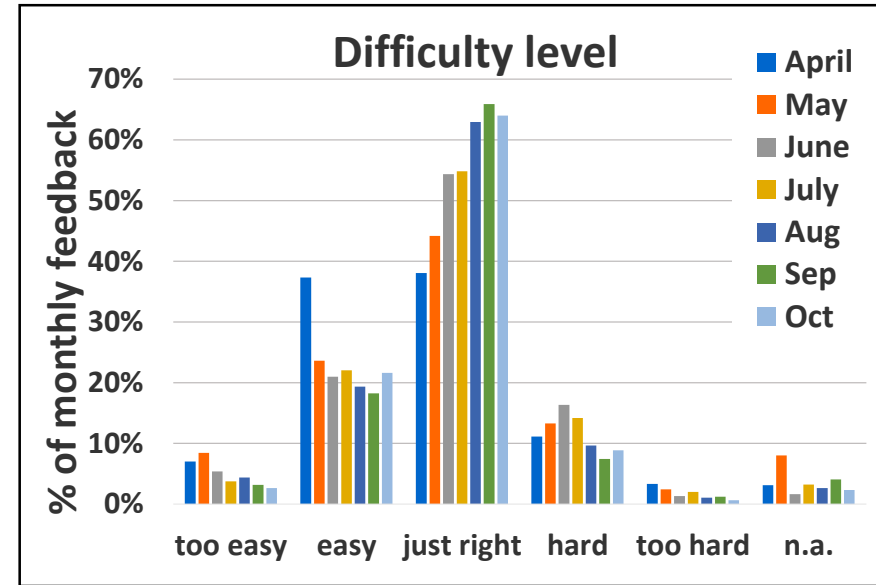
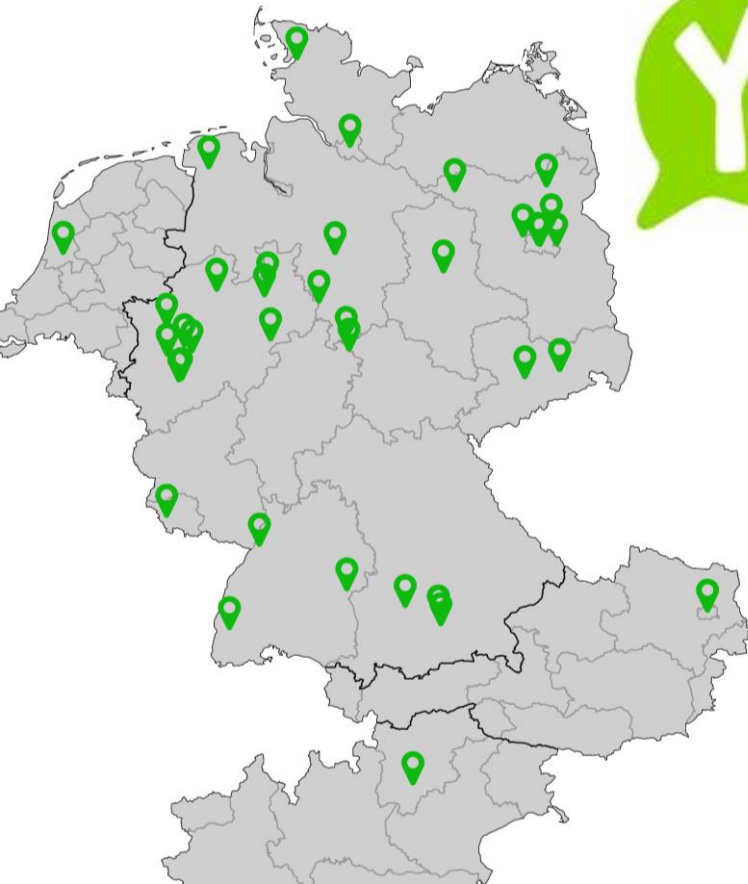
Pharma

Ärzte



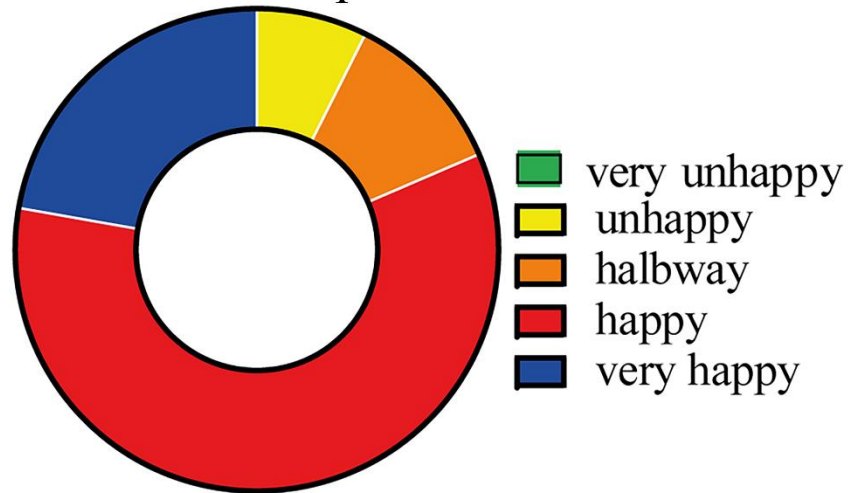
Frage: Entspricht suMus den Bedürfnissen der Patienten? Gemeinschaftliches Bauen

50 Patienten mit ≠NMD
sieben Monate lang auf der SuMus-Plattform

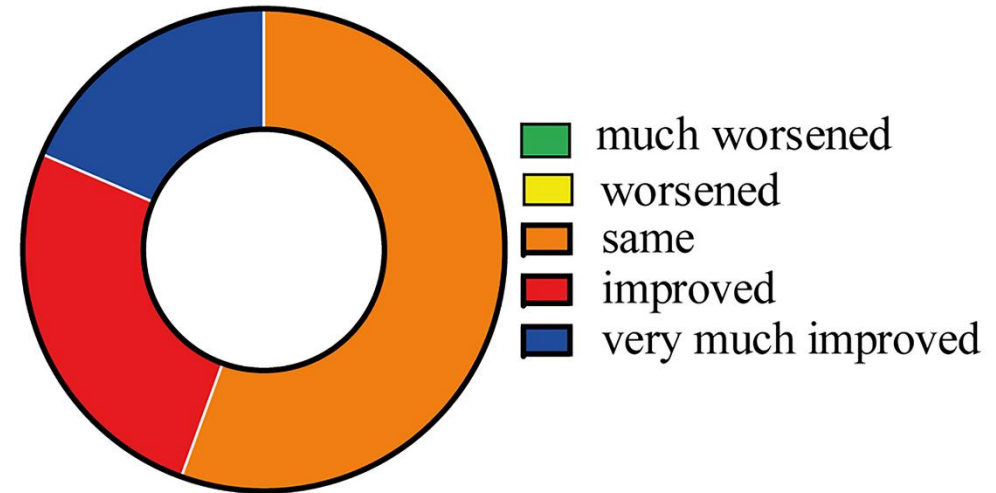


Patienten-Antworten

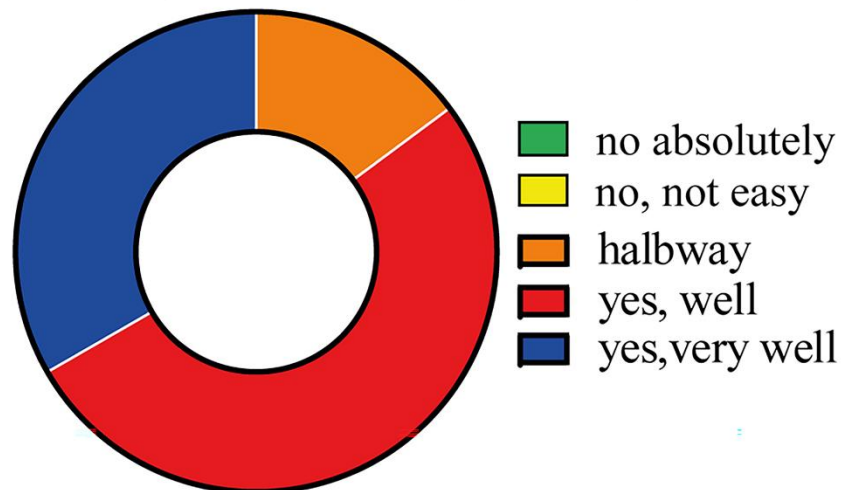
How did you feel about the communication with your therapist through the suMus platform?



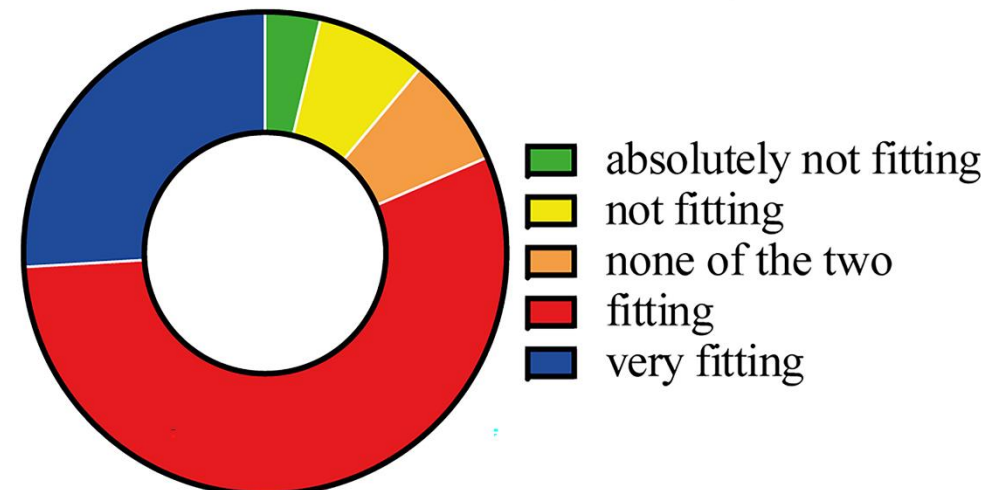
Did your therapy change with suMus?



Could you integrate suMus in your daily routine?



Do the suMus exercises fit your daily routine?



Studienaufbau: 15 gesunde Probanden testen die suMus-App in einer Stoffwechsellkammer



Ruhe
30 min

Übung 1
10 min.

Pause
10 min

Übung 2
10 min.

Pause
10 min

Übung 3
10 min.

Pause
10 min

Übung 4
10 min.



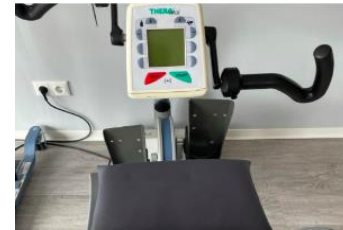
ΔEE



ΔEE



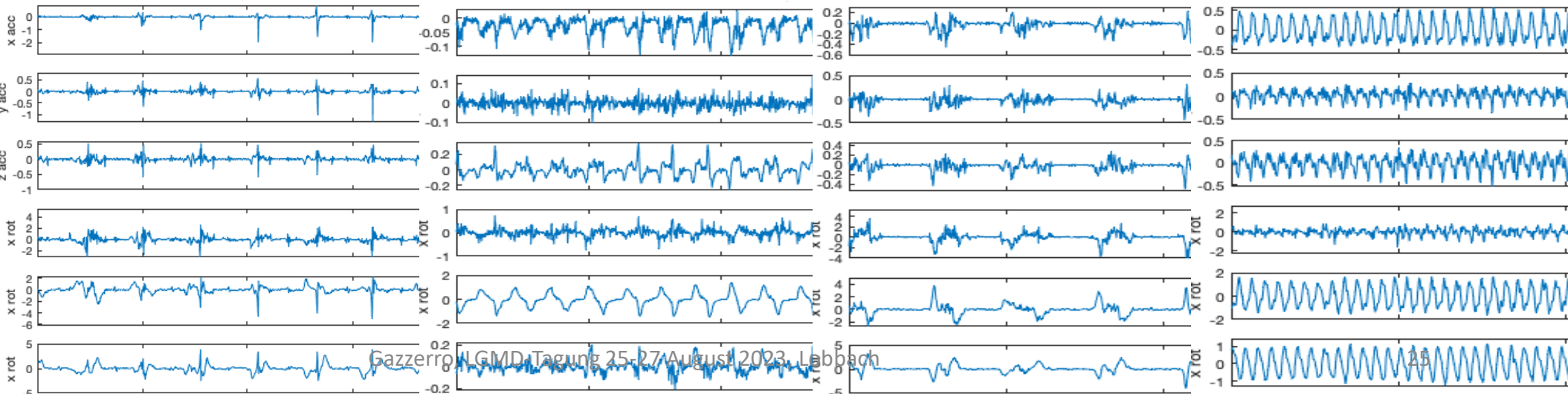
ΔEE



ΔEE

+

Rotat. Accel.



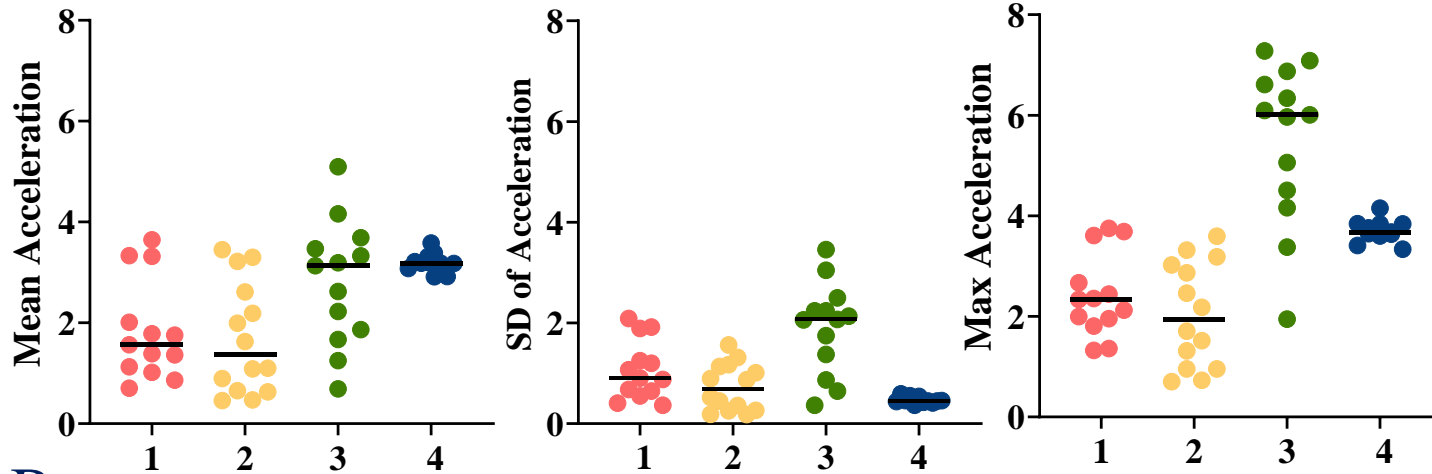
08.10.2023

Gazzero ILMGD Tagung 25-27 August 2023, Labbach

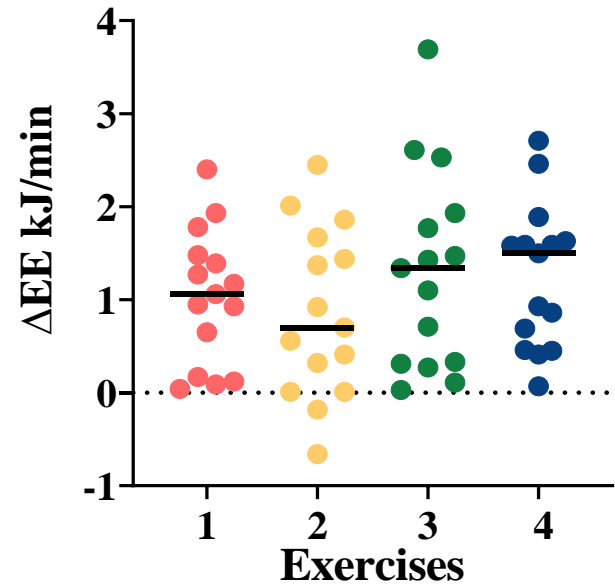
25

Akzeleration, Rotation und ΔEE

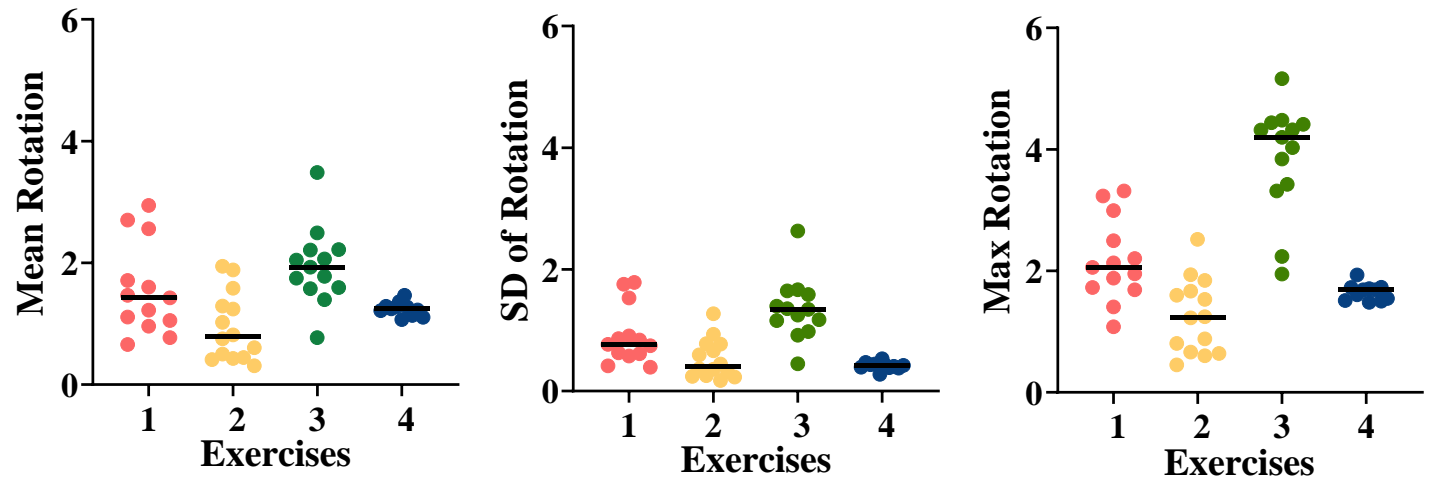
A



C



B





Gute Anwendungen
die zuverlässige
Daten liefern



Zufriedene Patienten
mit Zugang zu verbesserter
Versorgung und neuen
Therapien



Zeit sparen

Ausblick in die Zukunft

- Die klinische Studie bASKet wird die Sicherheit und Wirksamkeit der Transplantation von autologen *ex vivo* gen-korrigierten Muskelzellen in LGMDs prüfen
- Eine *ex vivo* Zell-basierte Therapie könnte daraufhin für spezifische Muskelgruppe adoptiert werden
- Eine kombinierte *ex-vivo* un *in vivo* Therapie kann in der Zukunft nicht ausgeschlossen werden
- Für jede spezifische Mutation stellen wir eine zukünftige systematische Analyse für Genkorrektur, Off-Target-Profil und biologische Sicherheit vor
- suMus ist ein neues intuitives, benutzer-freundliches digitales System, das genaue Arm-Metriken bei langsamen Armbewegungen liefern kann.

Muscle Research Unit

Head: Prof. Dr. Simone Spuler

<https://www.mdc-berlin.de/spuler>

Patient care

2500 patients in Charité
muscle outpatient clinic

Diagnosis, follow-up, and
supportive care

Patient empowerment

Clinical trials



Our topics

Human muscle stem cells

ATMP– new therapies

Muscular dystrophy

Gene editing



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

DFG

Deutsche
Forschungsgemeinschaft

SPARK

BIH



SUMUS

bASKet

UNTERSTÜTZT DURCH DEN IMPULS-
UND VERNETZUNGSFONDS VON

HELMHOLTZ

SGK

STIFTUNG
GISELA KREBS

BERLIN
INSTITUTE
OF HEALTH

Charité & Max Delbrück Center

Eise
Kröner
Fresenius
Stiftung



Prof. Dr. Simone Spuler
Leiterin der Arbeitsgruppe

Primäre
Muskelzellen



Dr. rer. nat. Andreas Marg



Janine Kieshauer, M.Sc.



Leitende Technische Assistentin

Gene-Editing



Dr. rer. nat. Helena Escobar Fernandez



Dr. rer. nat. Stefanie Müthel

Off-Target Analyse



Dr. rer. nat. Robin Graf



Christian Stadelmann PhD.



Stefanie Haafke MTA

Hochschulambulanz
suMus Projekt

