

In the name of God  
به نام خداوند جان و خرد

# Gene Therapy

**Kardar GA, PhD**

Professor of Molecular Genetics  
Tehran University of Medical Sciences



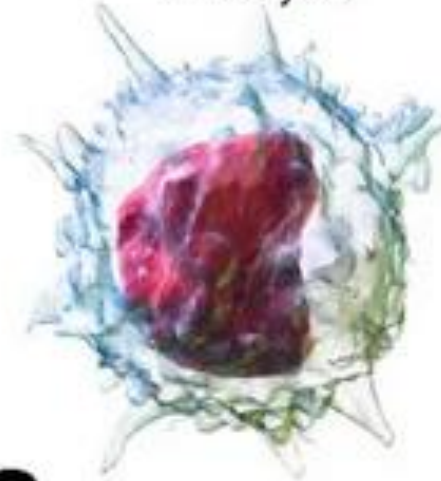
Neutrophils



Basophils



Monocytes

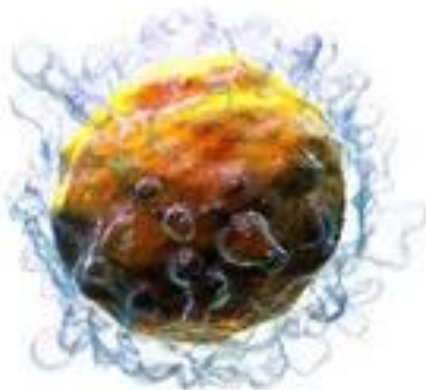


# White Blood Cells

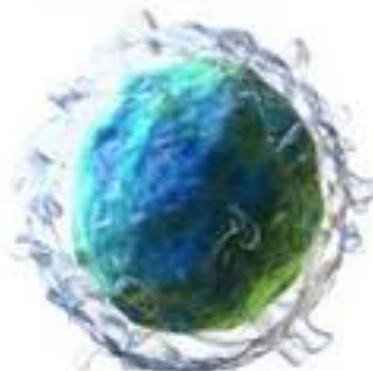
## Heroes in Our Immune System

[rsscience.com](http://rsscience.com)

T cells



B cells

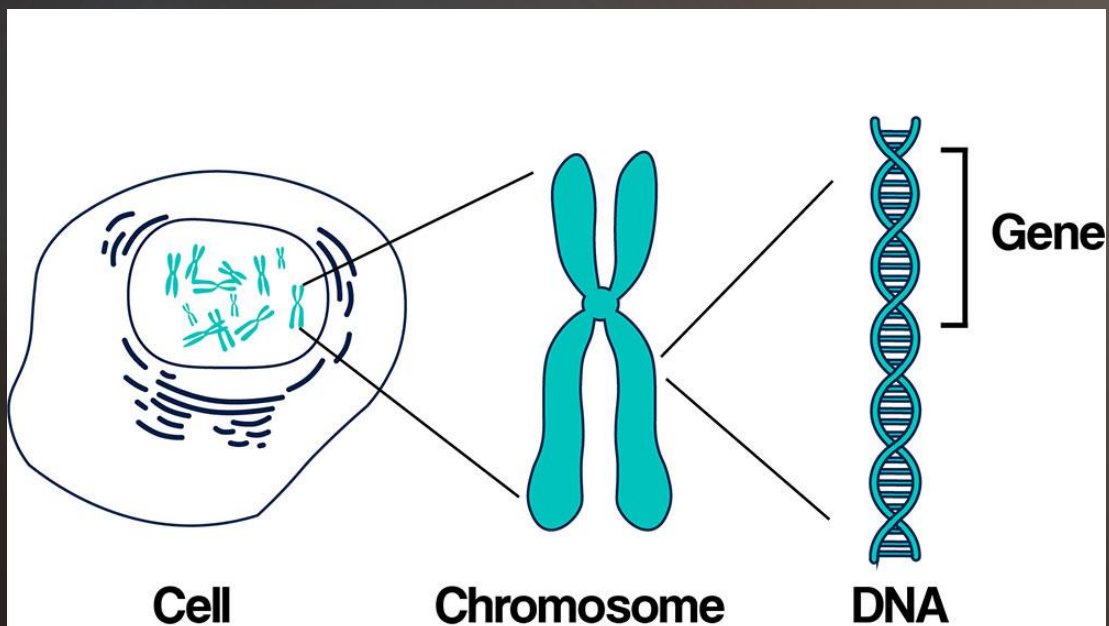
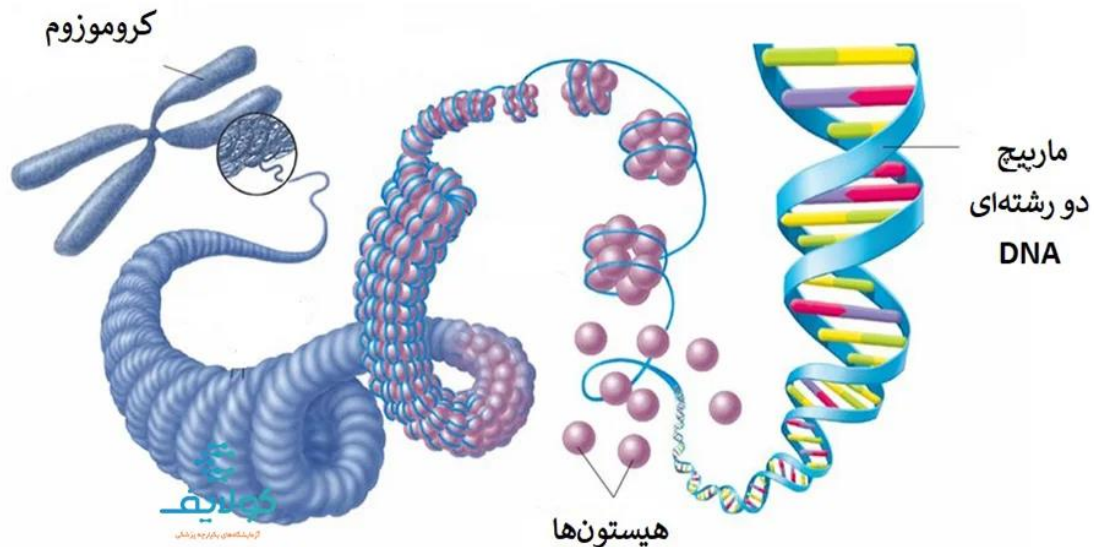


Eosinophils



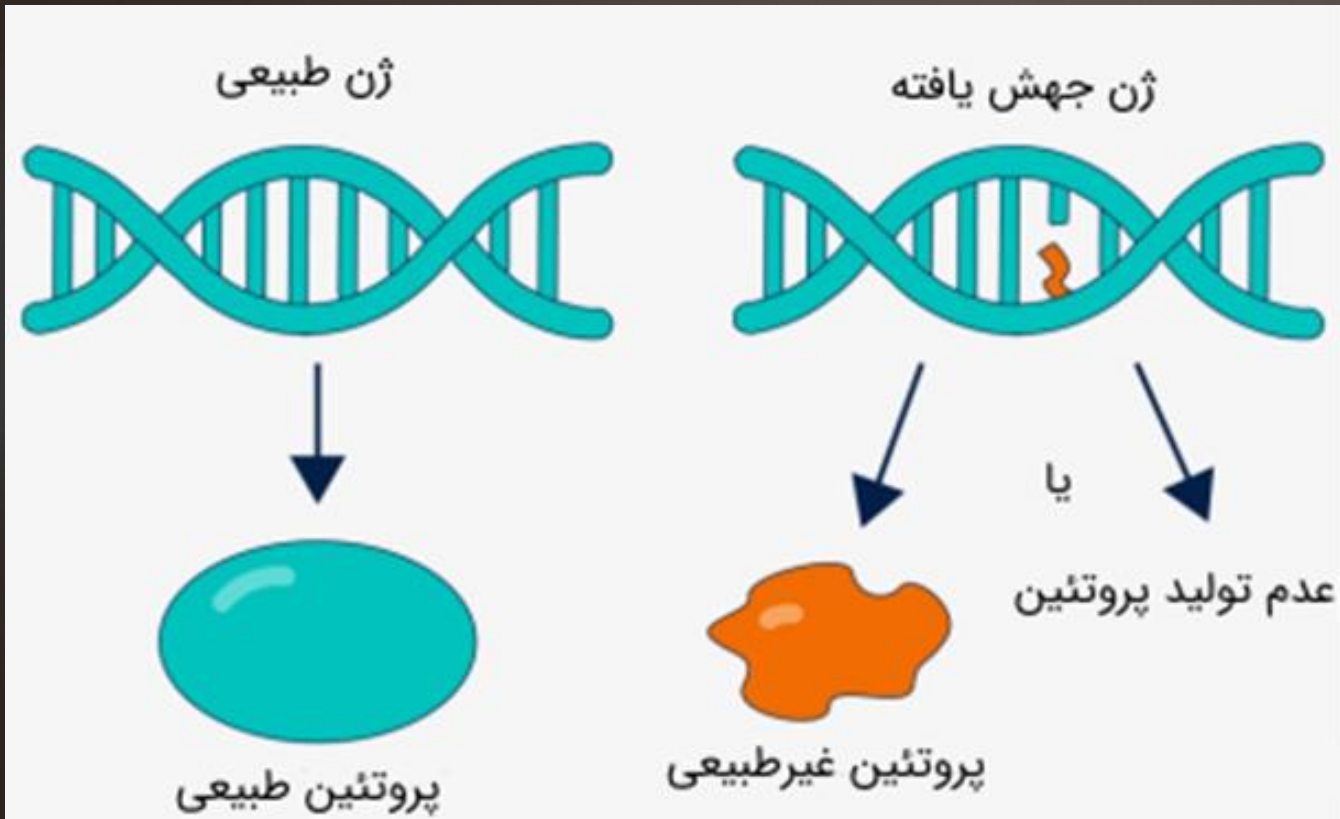
# تعریف ژن

- 23 جفت کروموزوم
- هر ژن یک پروتئین را کد می کند
- و هر پروتئین یک عملکرد در سلول و البته در بدن دارد



# تعریف بیماری

- در بیماران نقص ایمنی بدلیل یک جهش ژنتیکی، سلولهای سیستم ایمنی عملکرد مناسب ندارند



Point mutations

Indel

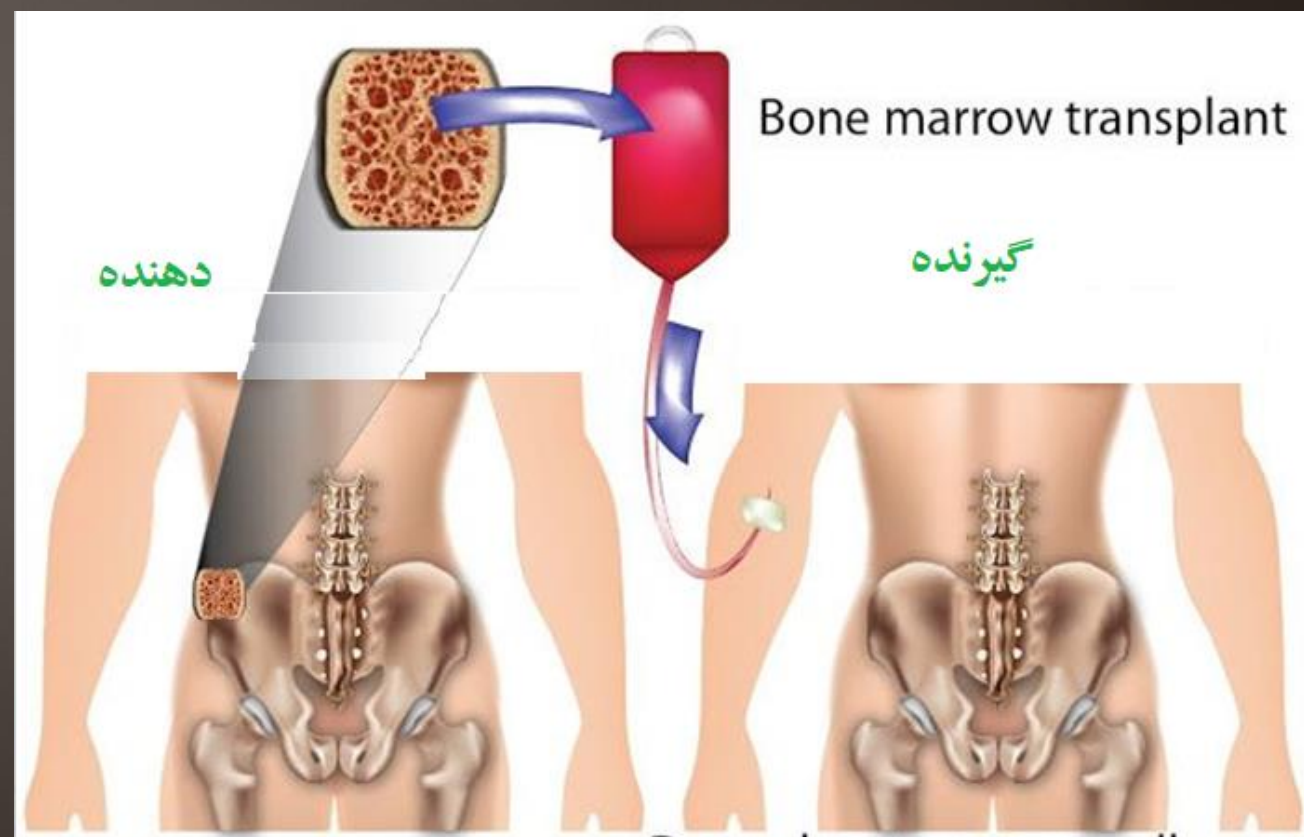
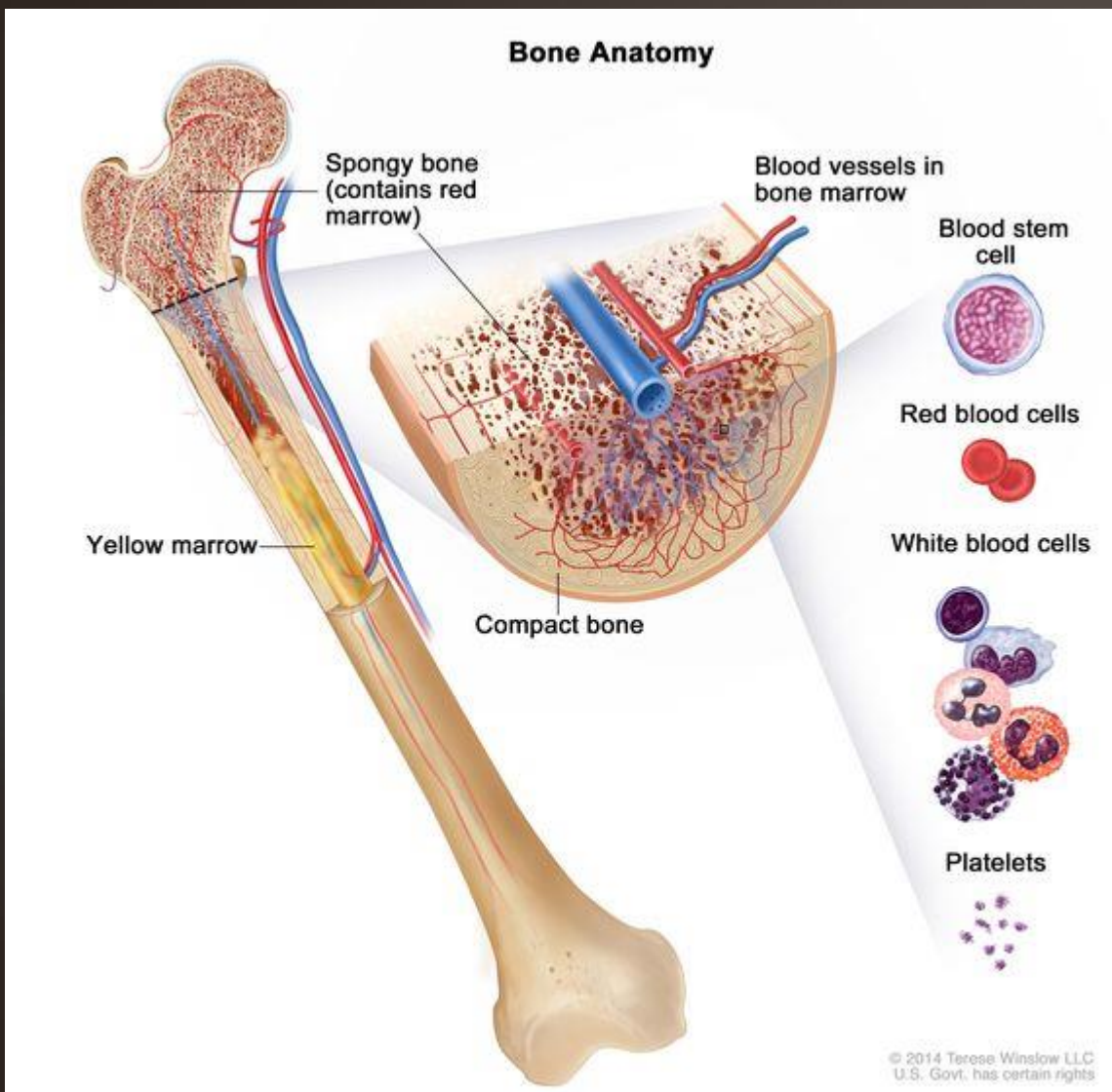
Frameshift

Epigenetic

- جهش ها:

# روشهای درمان نقص ایمنی

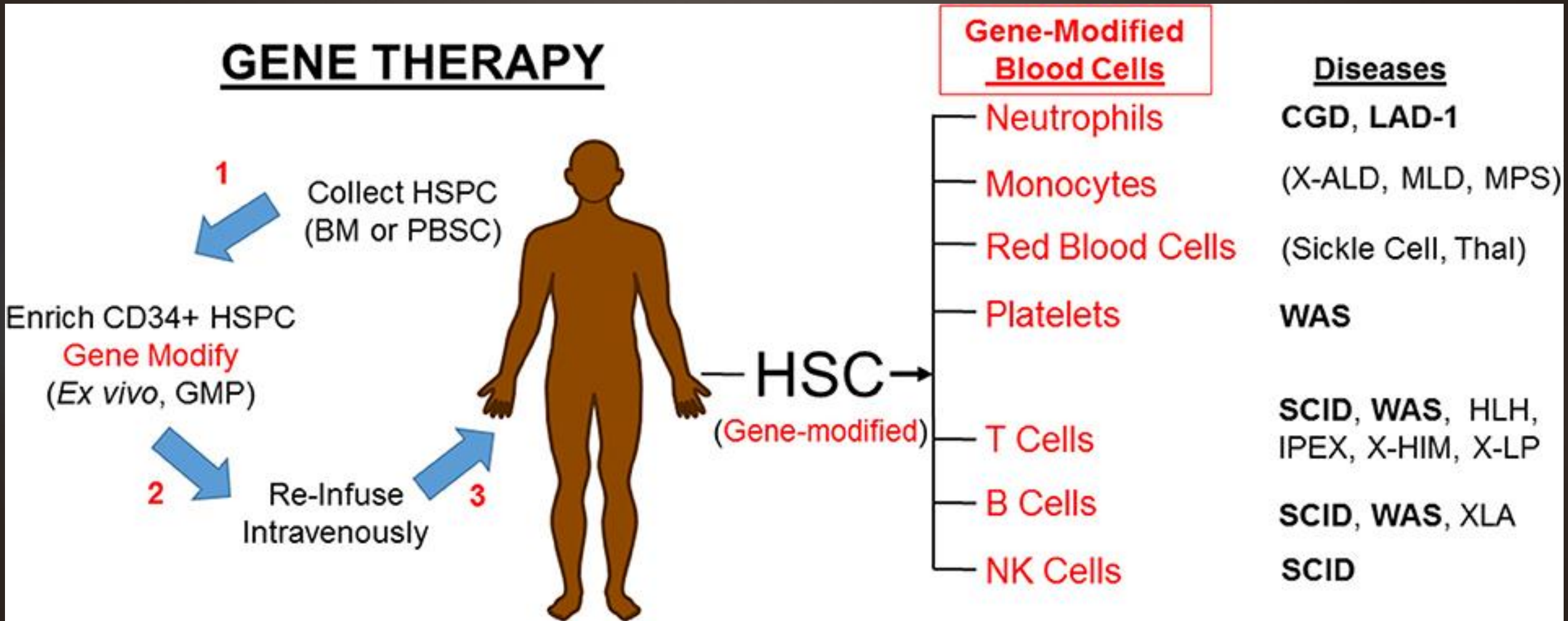
## • درمان قطعی << 1. پیوند مغز استخوان



# روشهای درمان نقص ایمنی

• درمان قطعی << 2. ژن درمانی

## GENE THERAPY



✓ دارویی که برای درمان SCID-ADA استفاده می شود

✓ برپایه ویروس مشتق از ایدز است (پس از درمان احتمال خیلی کمی دارد که مبتلا به سرطان خون شوند)

✓ در سال 2016 توسط اتحادیه اروپا تایید شده است

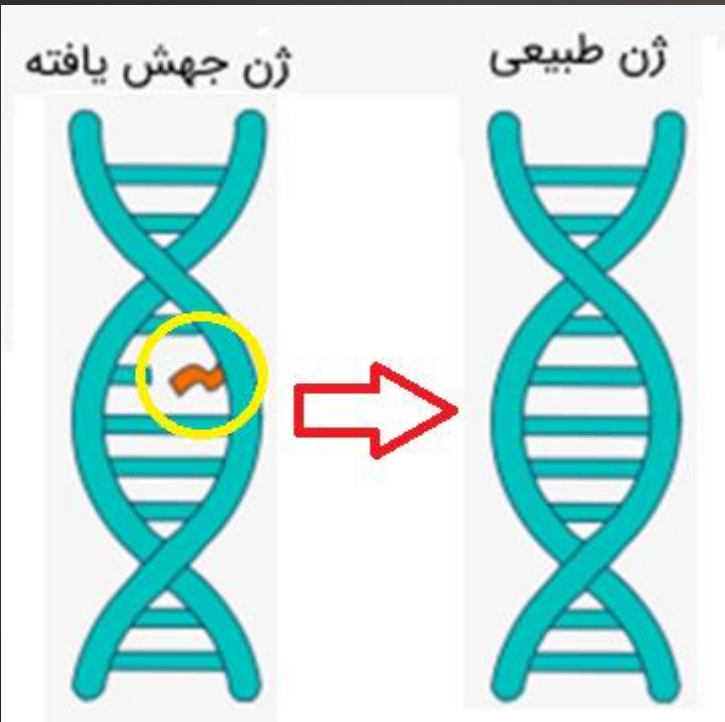
✓ هزینه درمان 600 هزار دلار است



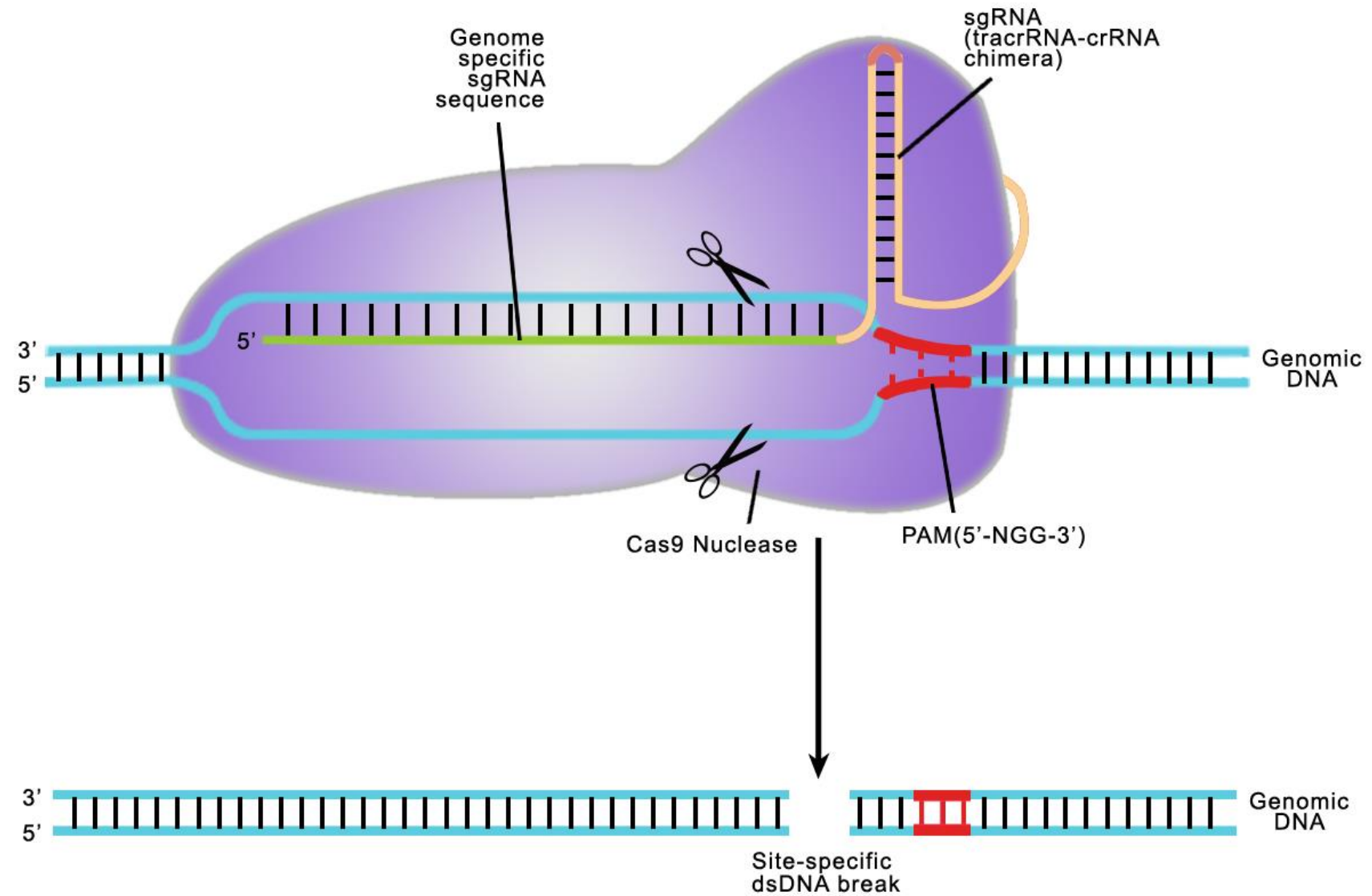
# روشهای درمان نقص ایمنی

• درمان قطعی << 2. ژن درمانی >> اصلاح ژن معیوب بیماران با روش کریسپر

- در این روش در مرحله اول از بیمار خون گرفته می شود و بر روی سلولهای خونی اصلاح ژنی انجام می شود
- یعنی جهشی که در ژنوم بیمار (مثل ADA) موجب بیماری شده را اصلاح می کنند
- به عبارت دیگر برای هر بیمار (که دارای جهش منحصر بفرد است) می بایستی این روش طراحی و اجرا گردد.



4



# روشهای درمان نقص ایمنی

• درمان قطعی << 2. ژن درمانی >> اصلاح ژنی بیماران با روش کریسپر

- طرح ما در مرکز تحقیقات ایمونولوژی آسم و آلرژی : ژن درمانی بیماران SCID-RAG
- برای جداسازی سلول هماتوپوئیتیک و T و B و نگهداری در محیط کشت برای ادیت مشکلاتی داشت

خبر خوب اینست که نتایج اصلاح ژنی رده سلولی Jurkat

موفقیت آمیز بود و ما نشان دادیم که توالی ژن سالم در ژنوم این سلولها درج شده است. پس از آزمایشات تکمیلی در قالب

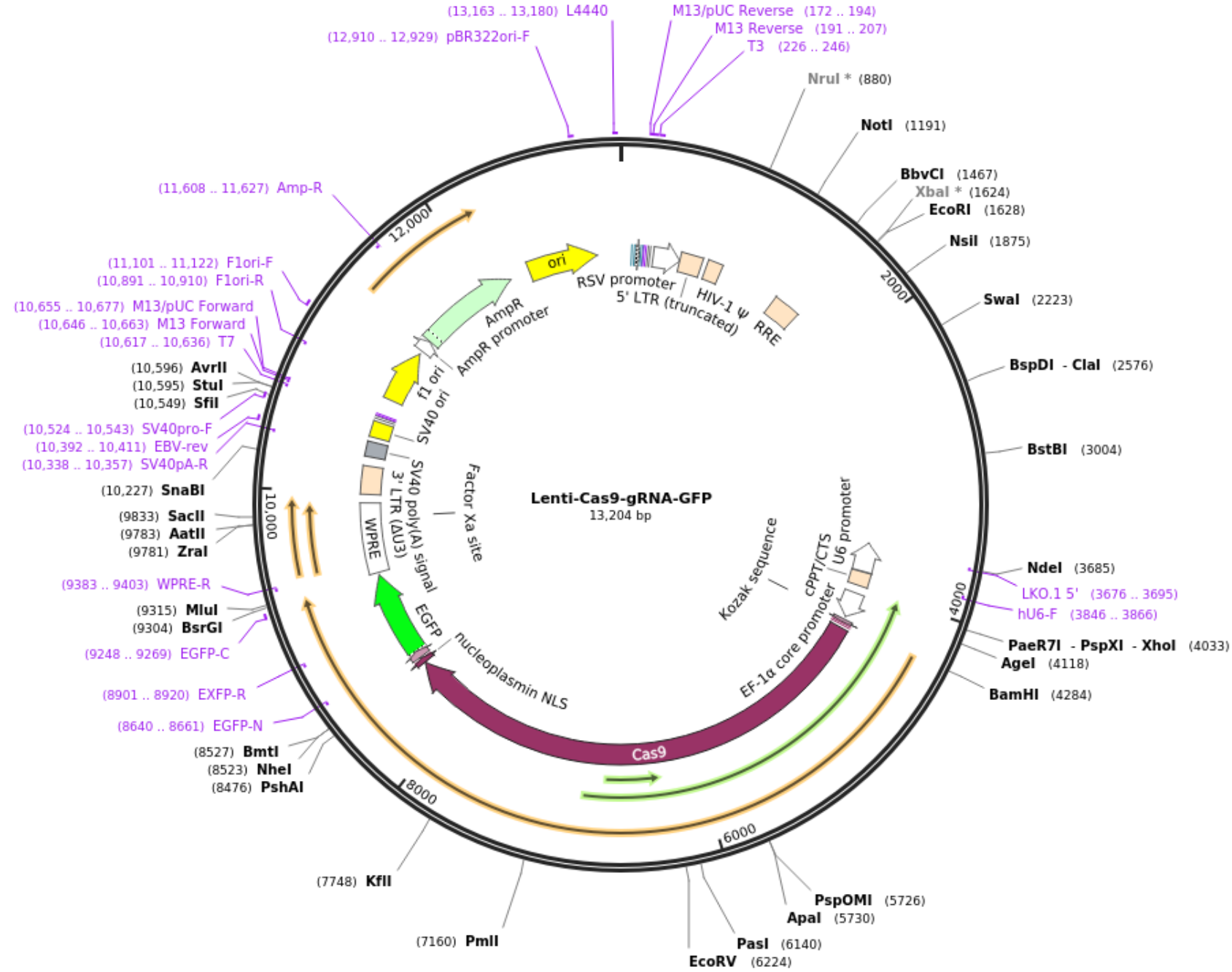
کارآزمایی بالینی برای ژن درمانی بیمار SCID-RAG2

استفاده خواهد شد.



# CRISPR/Cas9

Lenti,  
3<sup>th</sup> generation

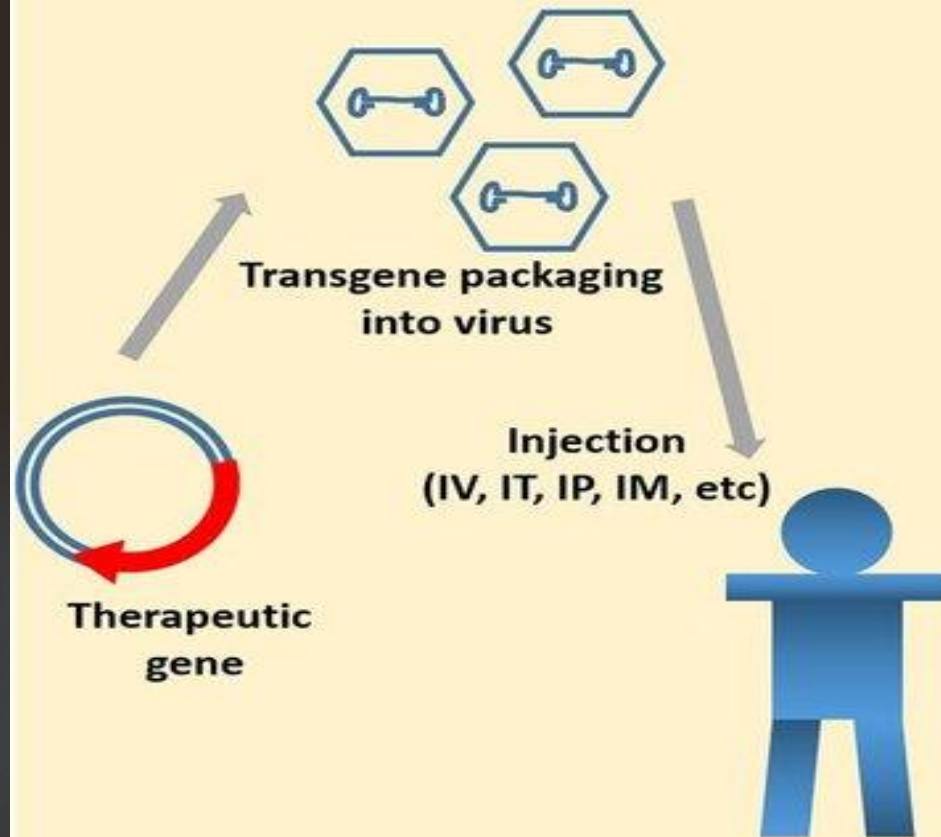


# فلوچارت کاری طرح

اصلاح ژنی بیماران با روش کریسپر

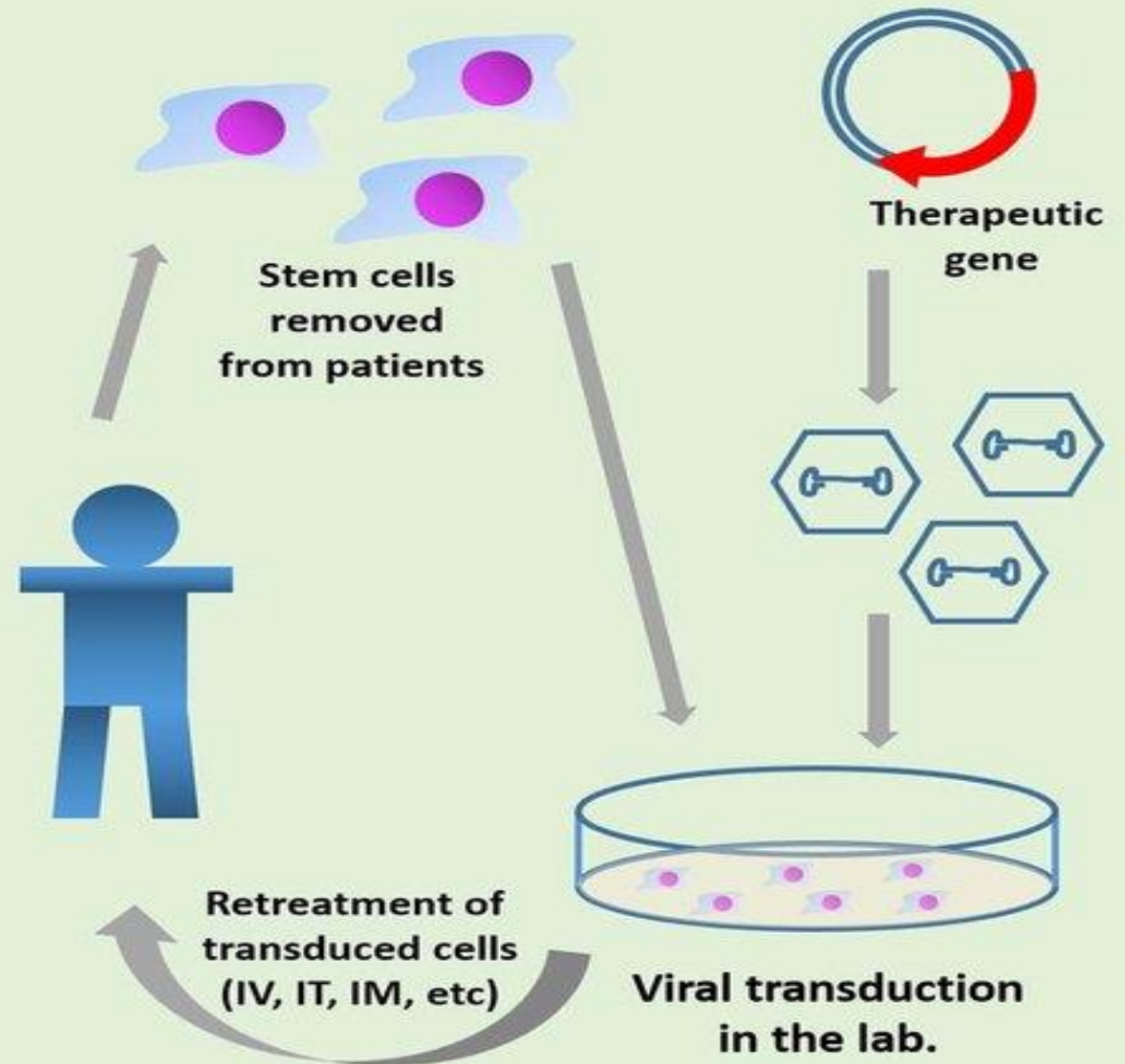


## In Vivo



## Gene Therapy

## Ex Vivo



# Gene therapy

14

## Ex-vivo

A lot of challenges to cell extraction, culture, manipulation, freezing, transportation, and Myeloablative Treatment, which are strictly regulated by regulatory authorities.

## In vivo

A Little concerns are off-target  
Delivery need

# Gene delivery approaches

## 1. Non-viral methods

## 2. Viral methods

- |                                |       |
|--------------------------------|-------|
| ❑ Retroviral >>> Lentiviral    | ssRNA |
| ❑ Adenovirus                   | dsDNA |
| ❑ AAV (adeno-associated virus) | ssDNA |
| ❑ HSV (herpes simplex virus)   | dsDNA |
| ❑ DNA replicon                 | ssRNA |

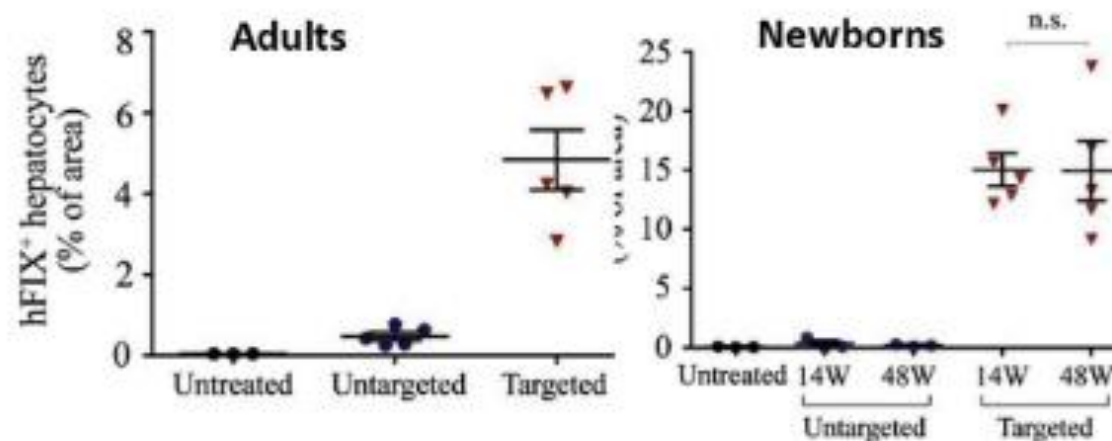
# In vivo

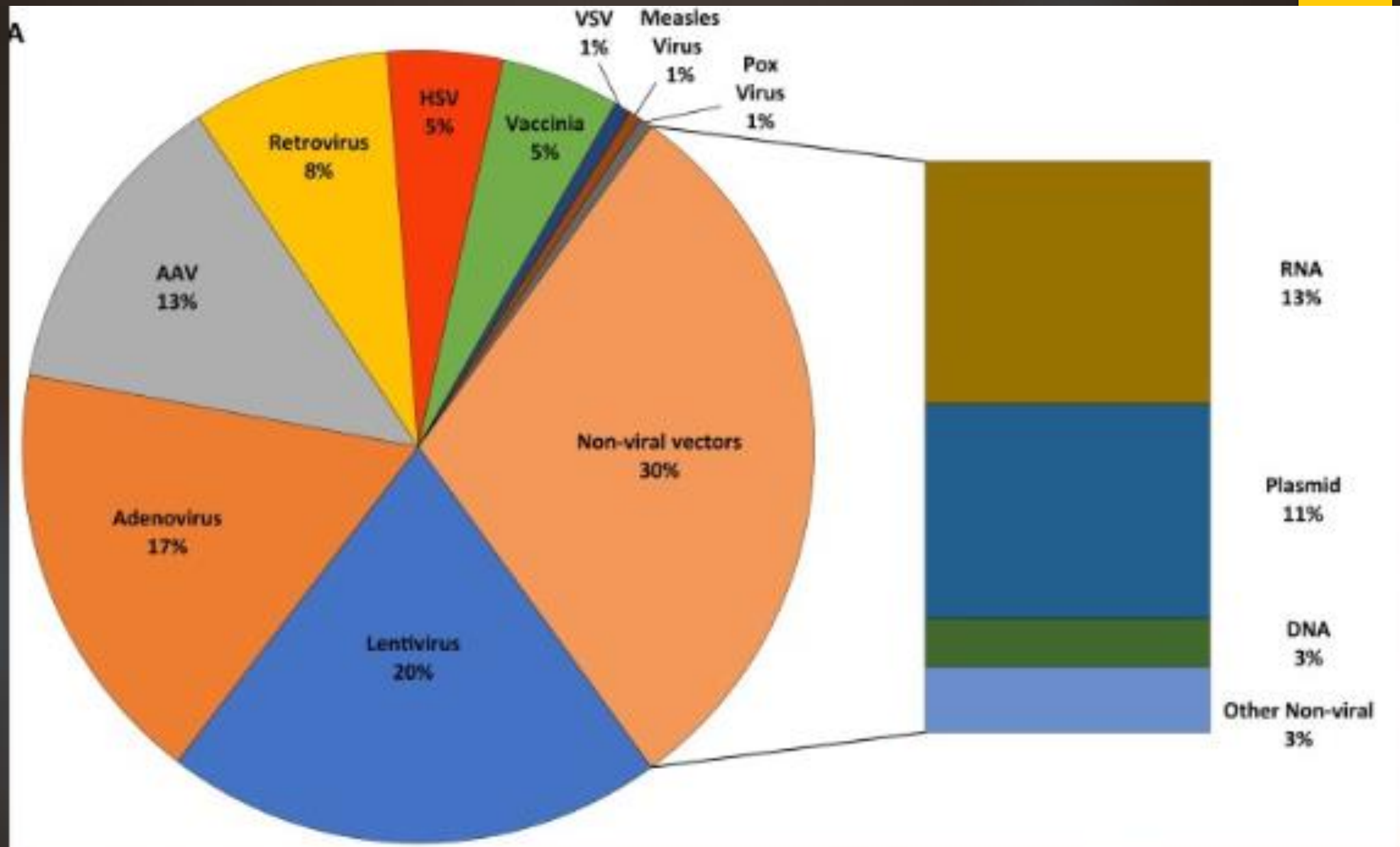


AAV8.SpCas9 4.98kb



AAV8.sgRNA.donor 3.83kb





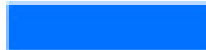
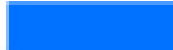





Presently, approximately 70% of clinical gene therapy trials employ viral vectors

## Approved Gene Therapies

One-time treatments for rare diseases are costly

Year approved		Drug	Manufacturer	Indication	Price
2017	AAV2	Luxturna	Spark Therapeutics	Leber congenital amaurosis	 \$0.8M
2019	AAV9	Zolgensma	Novartis	Spinal muscular atrophy	 2.1
2022	Lenti	Zynteglo	bluebird bio	Beta-thalassemia	 2.8
2022	Lenti	Skysona	bluebird bio	Cerebral adrenoleukodystrophy	 3.0
2022	AAV5	Hemgenix	CSL Behring	Hemophilia B	 3.5
2023	AAV5	Roctavian	BioMarin Pharmaceutical	Hemophilia A	 2.9
2023	AAV74	Elevidys	Sarepta Therapeutics	Duchenne muscular dystrophy	 3.2

Source: Company data

Lentiviral vectors used ex vivo

به امید درمان همه بیماران نقص ایمنی اولیه



پیروز باشید