



Deutsche Version (siehe unten)
Version française (ci-dessous)

Lay Summary

Project title	Treatment of ornithine transcarbamylase deficiency via CRISPR-associated base editors.
Main applicant	Gerald Schwank
Consortium	Johannes Häberle, Beat Thöny, Markus Stoffel
Short Summary	Ornithine transcarbamylase deficiency is a monogenetic liver diseases, for which no cure besides whole liver transplantation is available. The goal of this study is to develop a CRISPR/Cas9 base editor approach to treat this disease.
Background	Ornithine transcarbamylase deficiency (OTCD) is the most common urea cycle disorder (UCD). It is an inborn error of liver metabolism, where a deficiency of the ornithine transcarbamylase enzyme leads to an accumulation of neurotoxic ammonia in the blood. There is no cure besides whole liver transplantation. Gene editing via targeted nucleases, such as CRISPR/Cas9, has been suggested as an approach to treat this disease. The system generates a site-specific DNA double-stranded break (DSB), which enables precise modification of the locus when repaired by homologous recombination (HR) from ectopic template DNA. However, recent attempts to apply this technology to mouse models of recessive liver disorders have failed, as in postmitotic hepatocytes the HR pathway is inactive and gene correction rates are low. Recently, a novel CRISPR tool, so-called base editors, have been established. Base editors enable direct conversion of C·G to T·A base pairs and vice versa via base deamination. They are therefore independent of DNA break formation and HR. When applied to mouse models of monogenetic liver diseases, the technology enabled gene correction rates above 50%.
Goal	In the proposed study we aim to improve and assess efficacy and safety of <i>in vivo</i> base editing in the liver. The goal is to collect preclinical data for a trial on base editing therapies in OTCD patients. In work package one, we will develop novel, transient base editor approaches with potentially reduced off-target mutation rates. In work package two, we will study on- and off target editing rates of base editors in the liver of a large animal model (pig).
Significance	For OTCD patients, restoration of approximately 10% of the OTC enzyme activity in the liver would be sufficient to cure the disease. We



	anticipate to develop a bae editor approach that fulfills this requirement, and test it's efficacy and safety in pigs.
--	--

**Deutsch**

Projekttitlel	Behandlung von Ornithin-Transcarbamylase-Mangel durch CRISPR-assozierte Basiseditoren.
Hauptgesuchsteller	Gerald Schwank
Konsortium	Johannes Häberle, Beat Thöny, Markus Stoffel
Kurzzusammenfassung	Ornithin-Transcarbamylase-Mangel ist eine monogenetische Lebererkrankung, für die es ausser einer Lebertransplantation keine Heilung gibt. Das Ziel dieser Studie ist die Entwicklung eines CRISPR/Cas9 Basen-Editor Ansatzes zur Behandlung dieser Krankheit.
Hintergrund	Ornithin-Transcarbamylase-Mangel (OTCD) ist die häufigste Störung des Harnstoffzyklus (UCD). Es ist ein angeborener Fehler des Leberstoffwechsels, bei dem ein Mangel des Ornithin-Transcarbamylase-Enzyms zu einer Anreicherung von neurotoxischem Ammoniak im Blut führt. Es gibt keine Heilung ausser der Lebertransplantation. Als Ansatz zur Behandlung dieser Krankheit wurde die Geneditierung über klassische Nukleasen wie CRISPR/Cas9 vorgeschlagen. Das System erzeugt einen ortsspezifischen DNA-Doppelstrangbruch (DSB), der eine präzise Modifikation des Locus ermöglicht, wenn er via homologe Rekombination (HR) mittels einer ektopischer DNA-Vorlage repariert wird. Jüngste Versuche, diese Technologie auf Mausmodelle rezessiver Lebererkrankungen anzuwenden, sind jedoch gescheitert, da bei postmitotischen Hepatozyten der HR-Signalweg inaktiv ist. Kürzlich wurde ein neuartiges CRISPR-Werkzeug, sogenannte Baseneditoren, erzeugt. Diese ermöglichen die direkte Umwandlung von C · G in T · A-Basenpaare über DNA Deaminierung. Sie funktionieren daher auch in postmitotischen ellen wie Hepatozyten. Bei Anwendung in Mausmodellen monogenetischer Lebererkrankungen ermöglichte die Technologie Genkorrekturraten von über 50%.
Ziel	In der vorgeschlagenen Studie wollen wir die Wirksamkeit und Sicherheit von Baseneditoren in der Leber verbessern und bewerten. Ziel ist es, präklinische Daten für eine Studie bei OTCD-Patienten zu sammeln. Im Arbeitspaket 1 werden wir transiente Baseneditor-Ansätze entwickeln, welche die Nebeneffekte von induzierten Mutationen ausserhalb des Zielgens reduzieren sollten. In Arbeitspaket zwei werden wir die Effektivität von Basen-Editoren in einem grossen Tiermodell (Schwein) untersuchen.
Bedeutung	Bei OTCD-Patienten würde die Wiederherstellung von ungefähr 10% der OTC-Enzymaktivität in der Leber ausreichen, um die Krankheit zu heilen. Wir gehen davon aus, einen Ansatz zu entwickeln der diese Anforderung erfüllt.

**Français**

Titre du projet	Traitement de la déficience en ornithine transcarbamylase par des éditeurs de bases associés à CRISPR.
Requérant principal	Gerald Schwank
Consortium	Johannes Häberle, Beat Thöny, Markus Stoffel
Résumé	La déficience en ornithine transcarbamylase est une maladie hépatique monogénique pour laquelle il n'existe pas de traitement curatif hormis la transplantation totale de foie. Le but de cette étude est de développer une approche de type éditeur de bases CRISPR/Cas9 pour traiter cette maladie.
Contexte	La déficience en ornithine transcarbamylase (DOTC) est la maladie la plus commune du cycle de l'urée (MCU). Il s'agit d'une erreur innée du métabolisme hépatique par laquelle un déficit de l'enzyme ornithine transcarbamylase conduit à une accumulation d'ammonium neurotoxique dans le sang. Il n'y a pas de traitement hormis la transplantation totale de foie. L'édition génique avec des nucléases ciblées, telles que CRISPR/Cas9, sont proposées comme approche thérapeutique pour cette maladie. Le système génère une cassure de l'ADN double-brin à un site spécifique qui permet une modification précise du locus lors de la réparation par recombinaison homologue à partir d'un support d'ADN ectopique. Cependant, des tentatives récentes d'appliquer cette technologie à des modèles murins de maladies hépatiques récessives ont échoué, car dans les hépatocytes post-mitotiques, la voie de recombinaison homologue est inactive et le taux de correction des gènes est bas. Récemment, un nouvel outil CRISPR, les éditeurs de bases, a été développé. Les éditeurs de bases permettent la conversion directe des paires de bases C·G à T·A et vice-versa par désamination des bases. Ils sont donc indépendants de la formation de cassure d'ADN et de la recombinaison homologue. Lorsqu'elle est appliquée à des modèles murins de maladies hépatiques monogéniques, la technologie permet un taux de correction génique au-dessus de 50%.
But	Dans l'étude proposée, nous cherchons à améliorer et évaluer l'efficacité et la sécurité <i>in vivo</i> de l'édition de bases dans le foie. Le but est de récolter des données précliniques en vue d'un essai des thérapies d'édition de bases chez les patients avec DOTC. Dans le premier work package, nous développerons de nouvelles approches transitoires d'éditeur de bases avec des taux potentiellement réduits de mutations non-ciblées. Dans le second work-package, nous étudierons les taux d'édition ciblée et non-ciblée des éditeurs de bases dans le foie d'un modèle animal plus grand (porc).



Importance	Pour les patients DOTC, le rétablissement d'environ 10% de l'activité enzymatique de l'OTC dans le foie serait suffisant pour traiter la maladie de façon curative. Nous prévoyons de développer une approche éditeur de bases qui remplisse cette condition et de la tester en termes d'efficacité et de sécurité chez le porc.
-------------------	--