



SRTD
biotech

**Moderne RNA Moleküle als Plattformtechnologie zur
erstmaligen Nutzung als Therapeutikum in der Onkologie**

Bernd Hoffmann

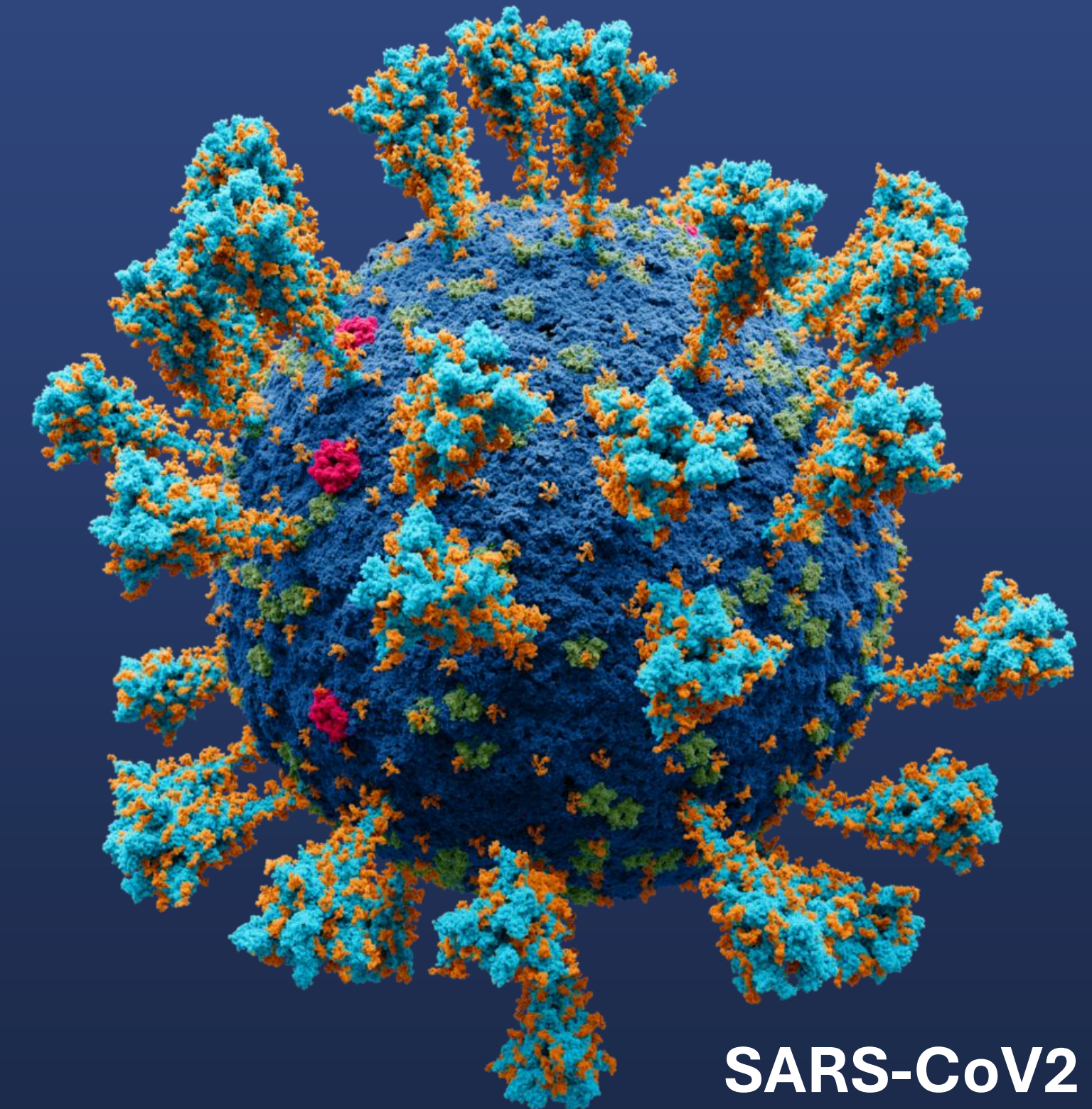


mRNA als Therapeutika: Wo liegt die Herausforderung?

- ✓ mRNA basierte Impfstoffe haben massiv dazu beigetragen, die SARS-CoV2 Pandemie einzudämmen.



Die Impfstoffe nutzen die Funktion von mRNAs optimal aus: Immer aktiv zu sein in jeder Zelle. Eine lokale Injektion ermöglicht damit einen ganzheitlichen Schutz



SARS-CoV2

Kontinuierliche mRNA Aktivität: Super für Impfstoffe



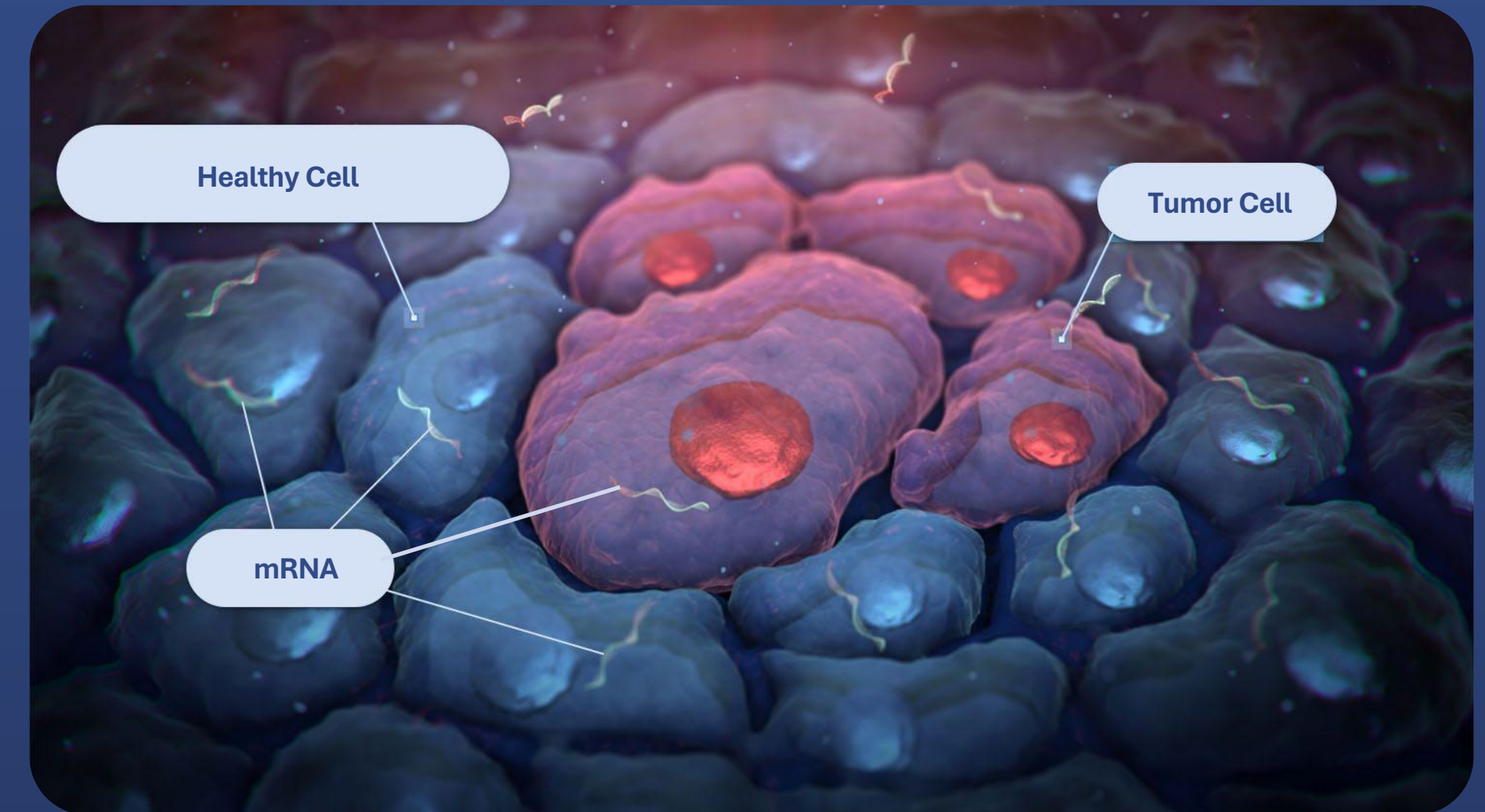
mRNA als Therapeutika: Wo liegt die Herausforderung?



Für die Therapie (z.B. Krebsbehandlung) dürfen mRNA Moleküle NICHT in jeder Zelle aktiv sein



Der Ansatz mRNA/Therapeutika gezielt nur in Krebszellen zu übertragen funktioniert nur begrenzt.





mRNA als Therapeutika: Wo liegt die Herausforderung?



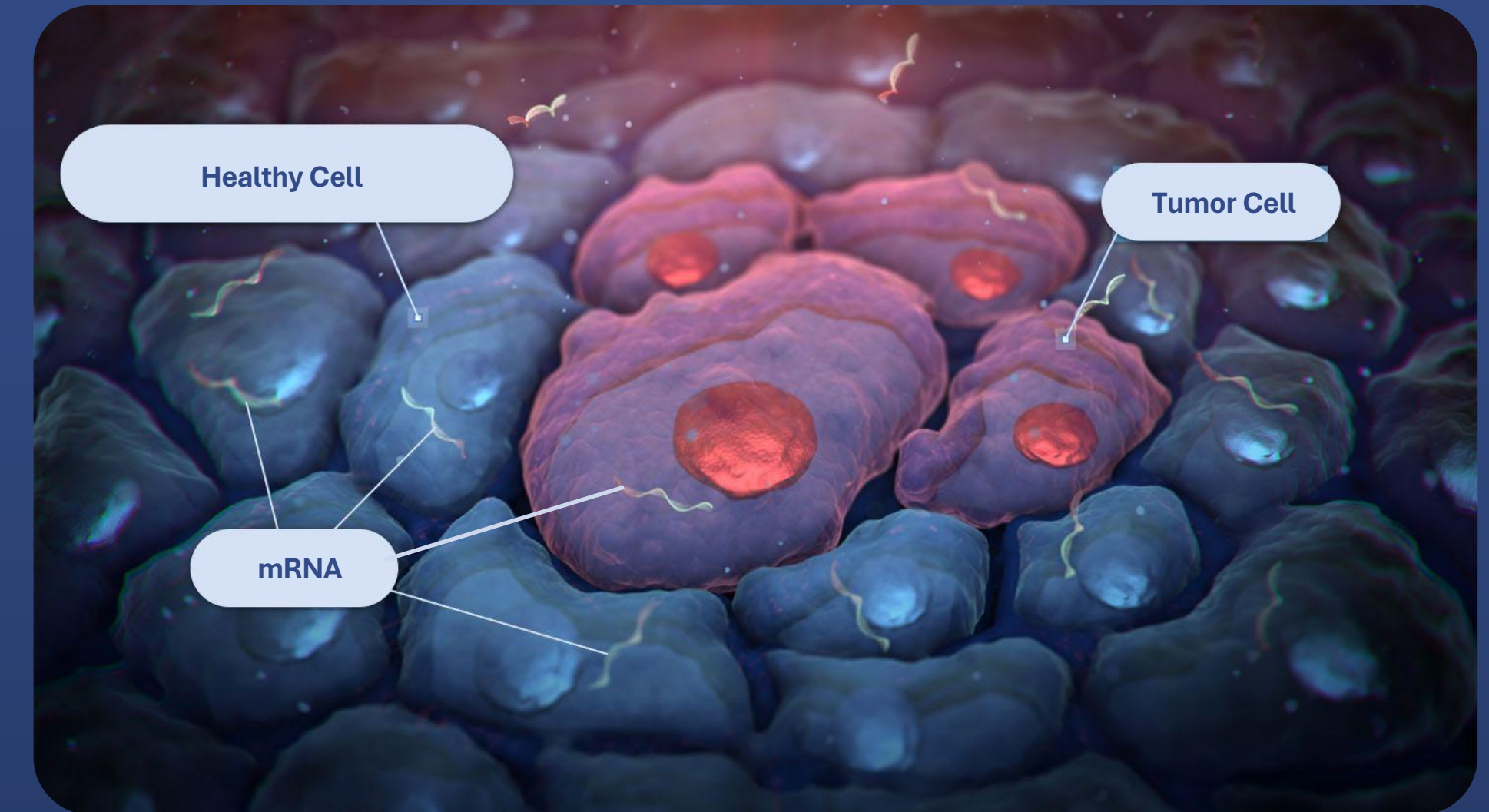
Für die Therapie (z.B. Krebsbehandlung) dürfen mRNA Moleküle NICHT in jeder Zelle aktiv sein



Der Ansatz mRNA/Therapeutika gezielt nur in Krebszellen zu übertragen funktioniert nur begrenzt.



Spezifische Aktivierung durch intrazelluläre Krebsmarker



Welche Kirsche hat den Wurm?



Neue Wege sind notwendig hin zur mRNA Therapie



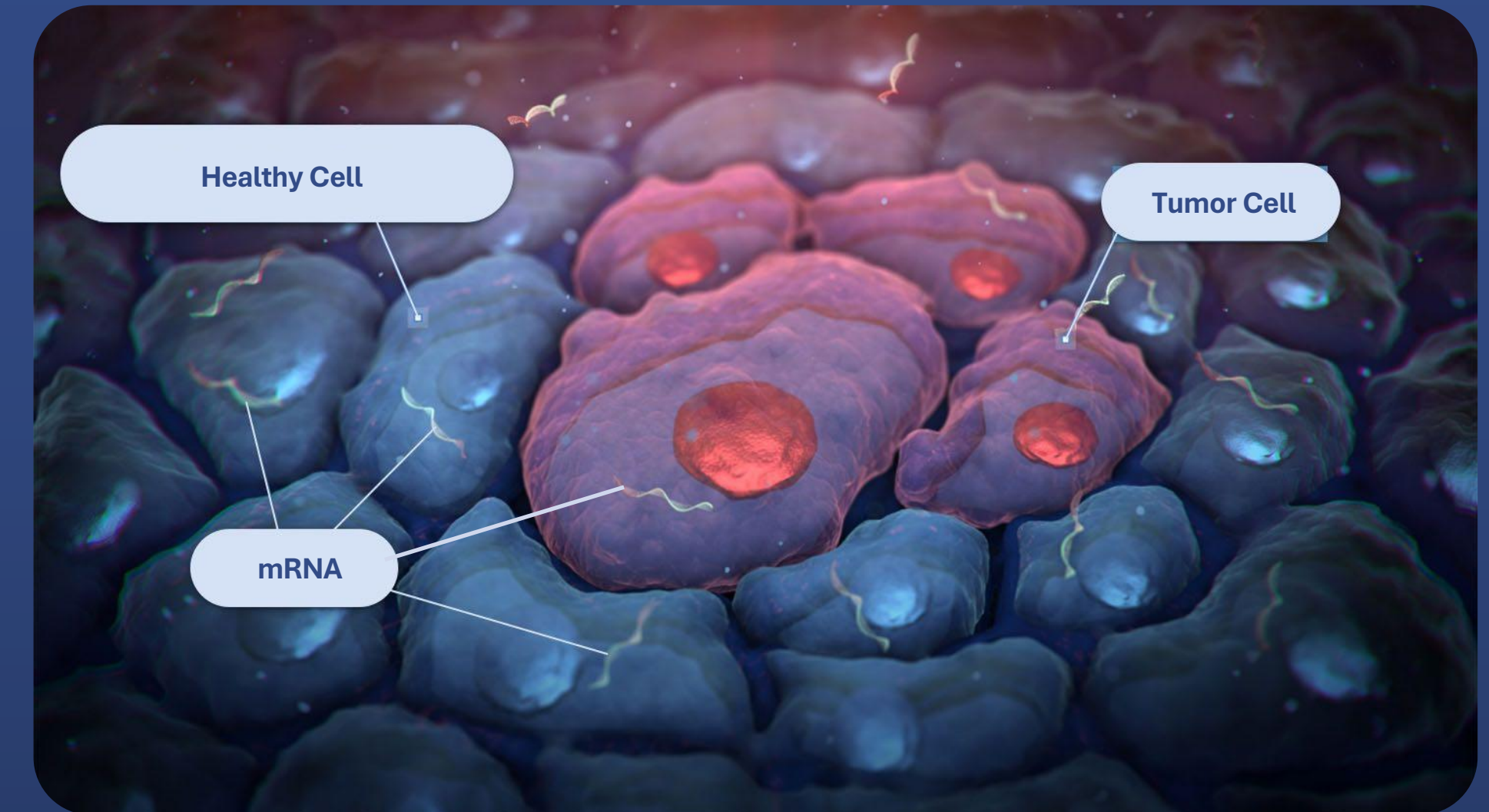
mRNA als Therapeutika: Wo liegt die Herausforderung?



Für die Therapie (z.B. Krebsbehandlung) dürfen mRNA Moleküle NICHT in jeder Zelle aktiv sein



Der Ansatz mRNA/Therapeutika gezielt nur in Krebszellen zu übertragen funktioniert nur begrenzt.

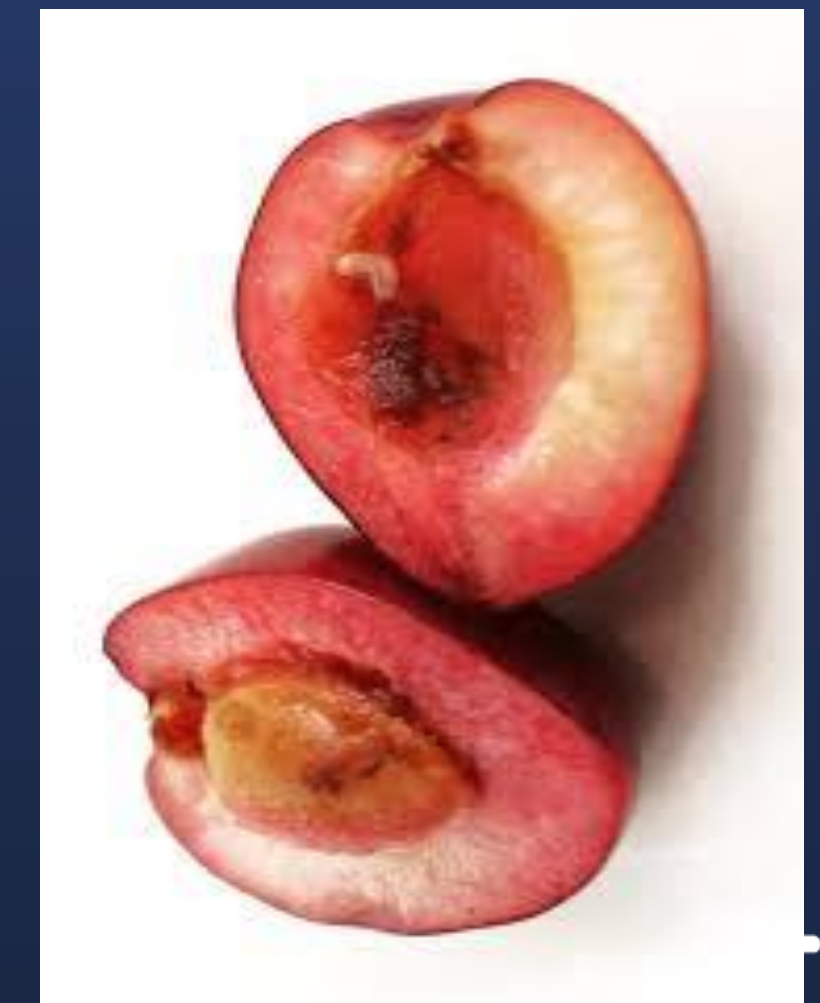


Spezifische Aktivierung durch intrazelluläre Krebsmarker

Welche Kirsche hat den Wurm?



Reinschauen hilft!

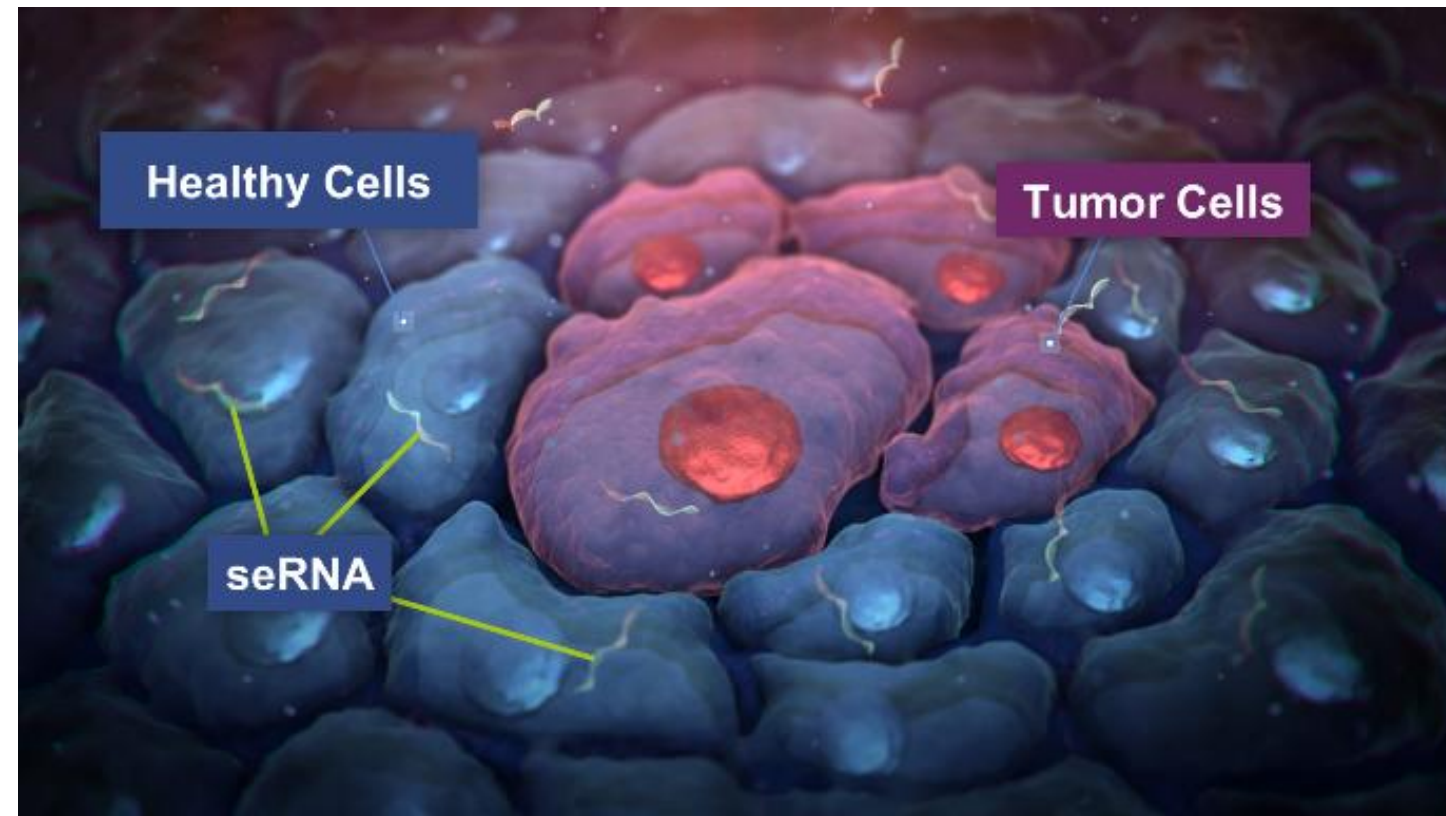


Neue Wege sind notwendig hin zur mRNA Therapie

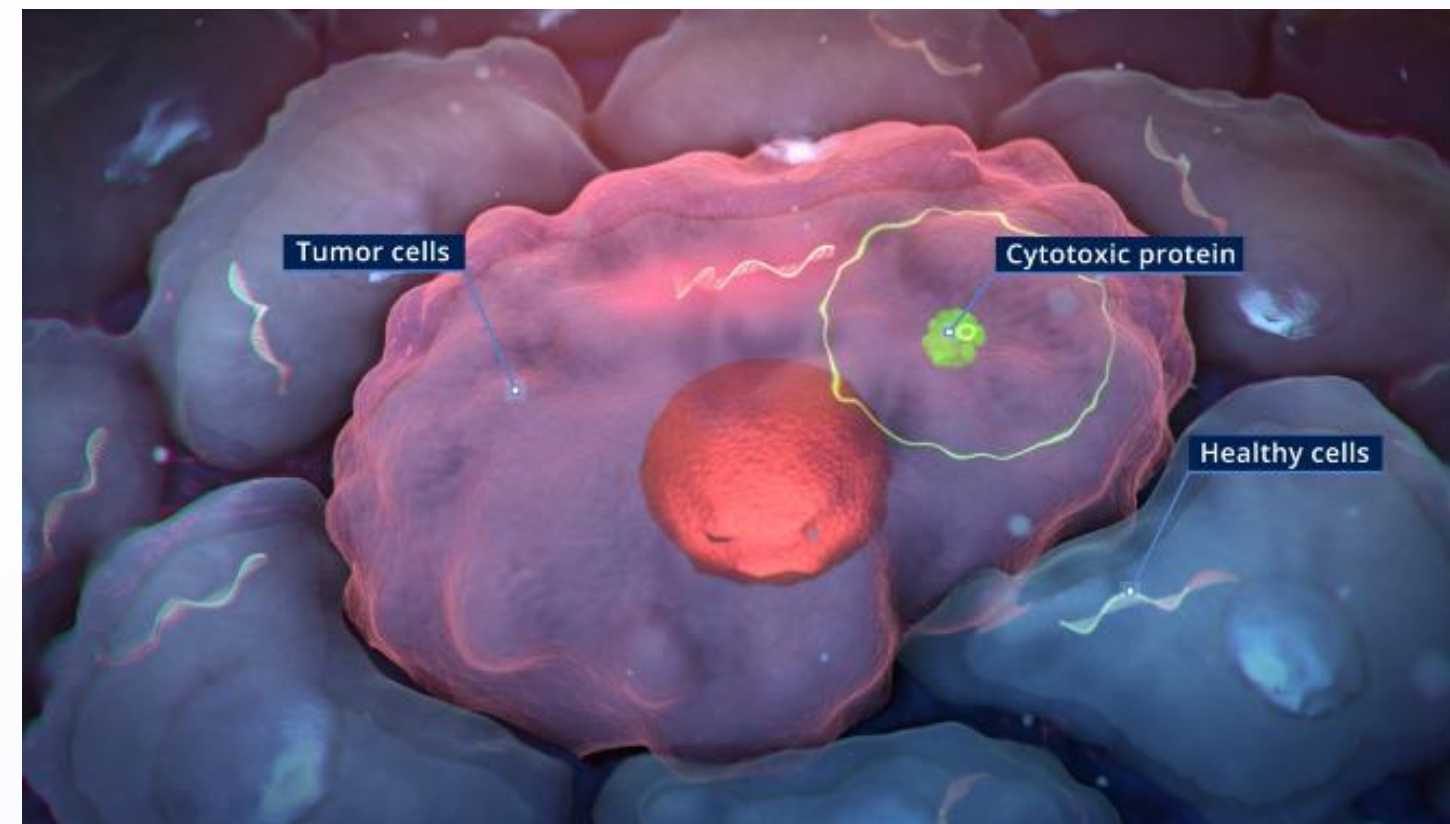


Die seRNA unterscheidet selbständig zwischen gesunder und erkrankter Zelle

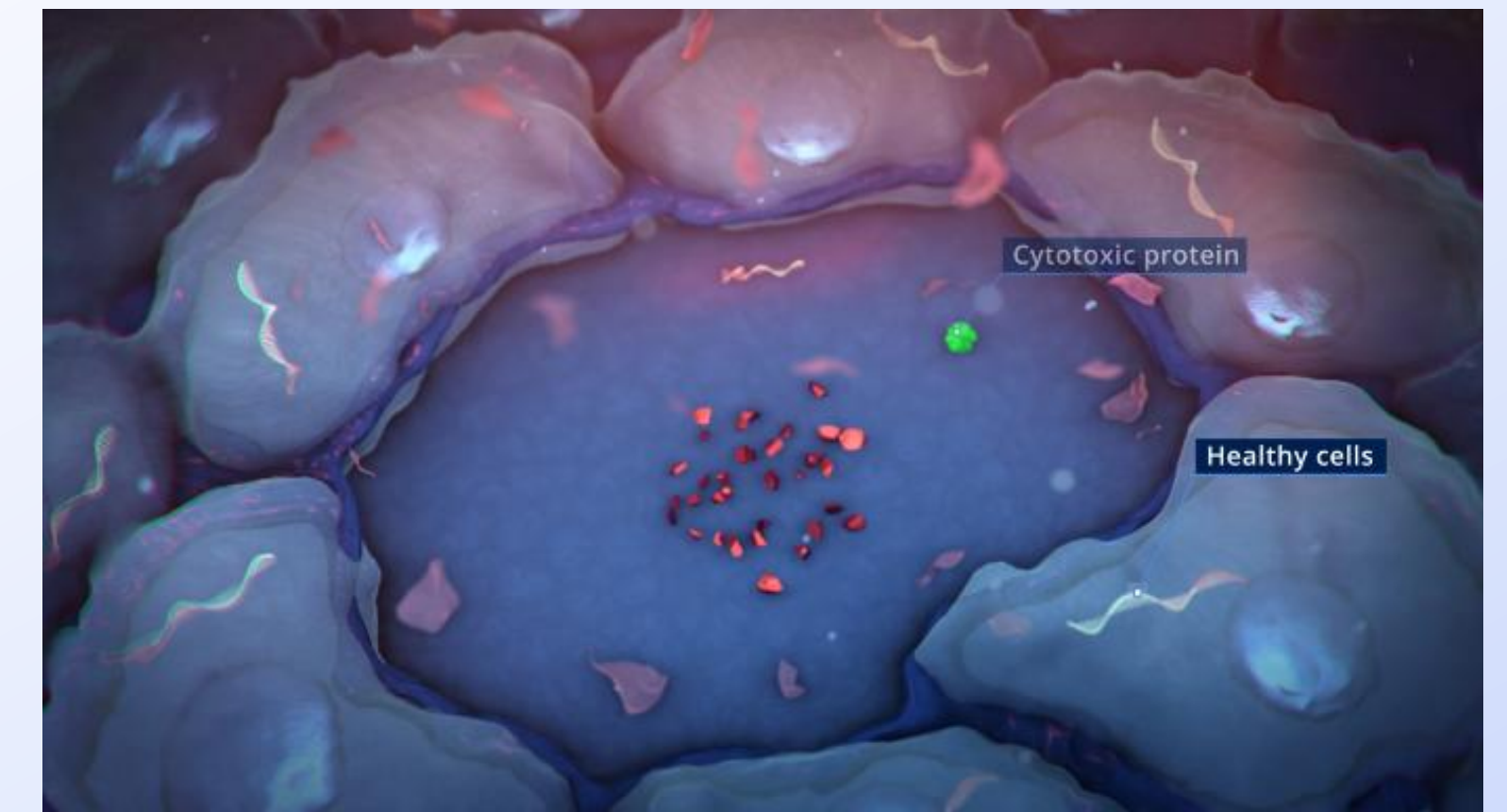
Alle Zellen nehmen die seRNA auf



Nur in der Krebszelle wird die seRNA aktiviert



...und stirbt selektiv



Im Ergebnis: Nur die Tumorzelle wird zerstört, während gesunde Zellen unbeeinflusst bleiben

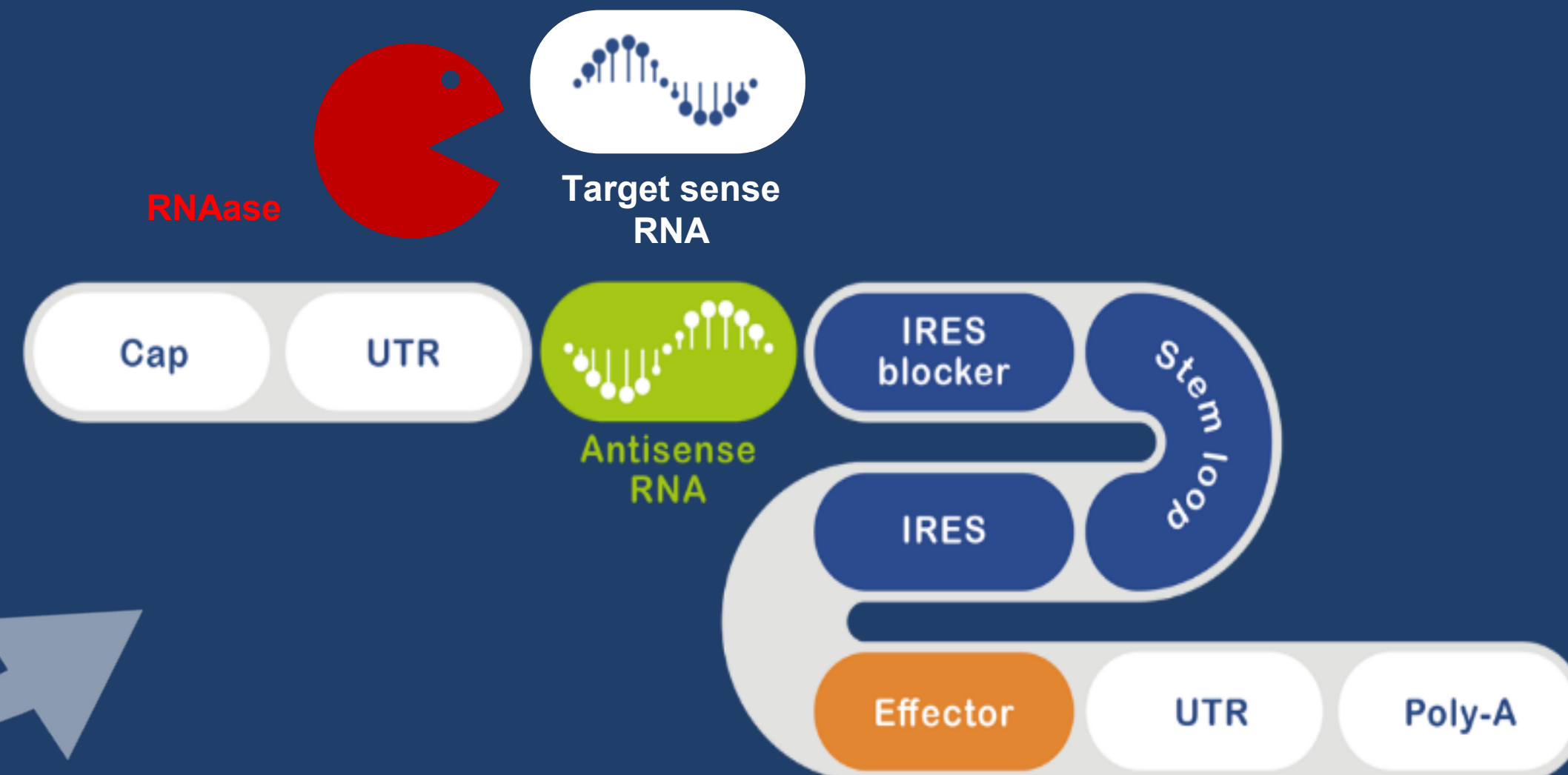
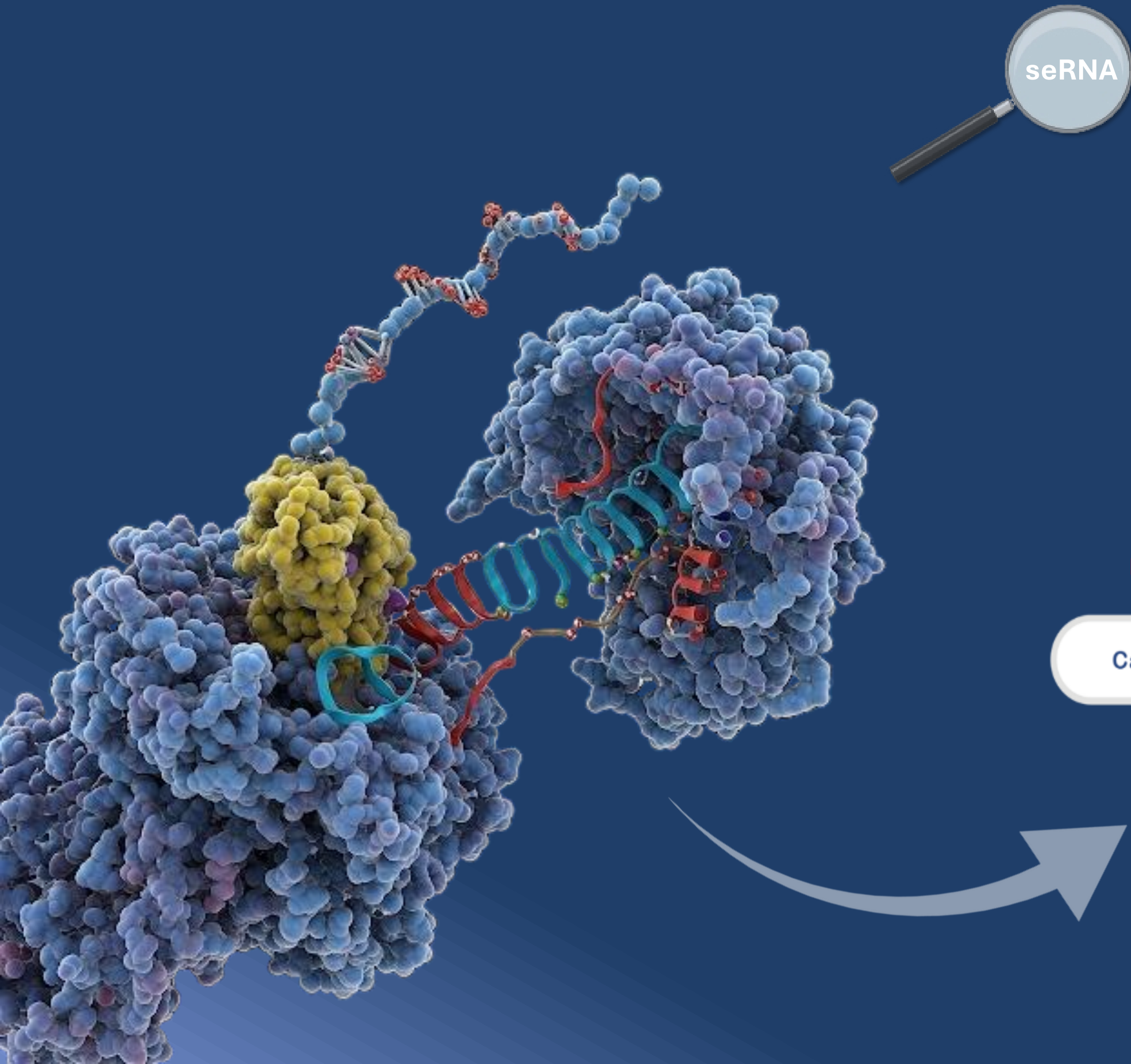


Selektiv exprimierbare mRNA (seRNA)

Eine Molekülklasse zum Verlieben

Ein seRNA Molekül ist aus drei Hauptdomänen aufgebaut:

- 1 **Aktivierungsdomäne:** eine spezifische mRNA/seRNA Bindung aktiviert die seRNA
- 2 **Regulatorische Domänen:** Inaktiv in gesunden Zellen und aktiv in erkrankten
- 3 **Effector domäne**
Verantwortlich für den therapeutischen Effekt



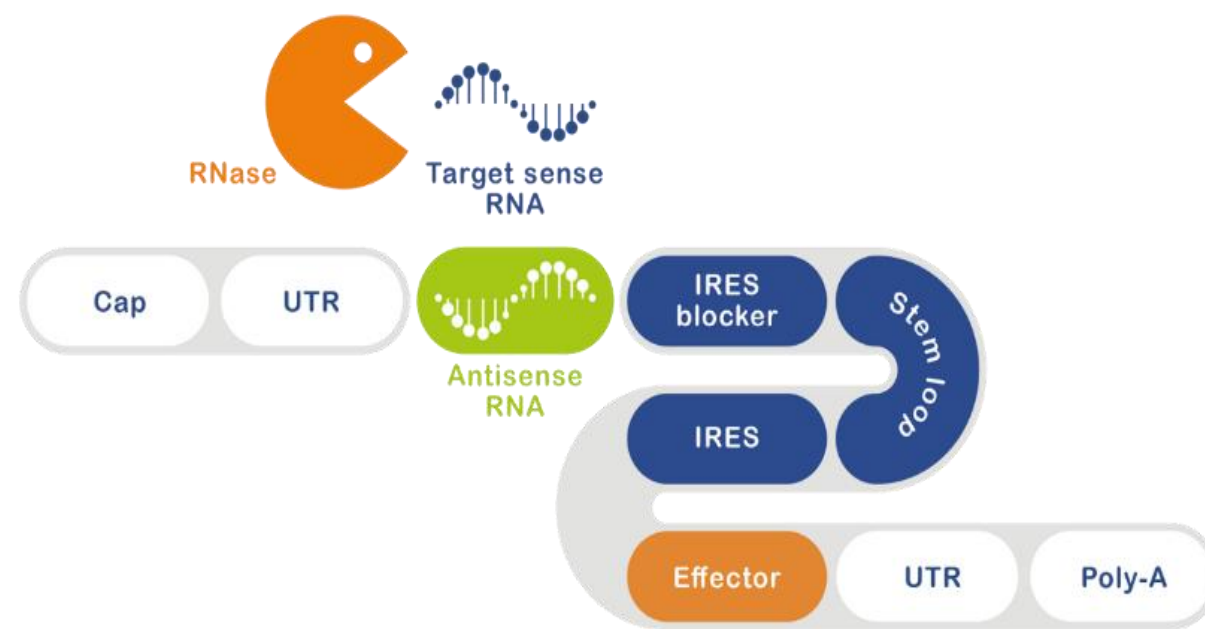


seRNA: Selektiv exprimierbare mRNA

Der Schlüssel der Technologie ist eine neuartige regulatorische Domänenstruktur zur selektiven Expression von therapeutisch aktiven Proteinen/Peptiden

seRNA activation

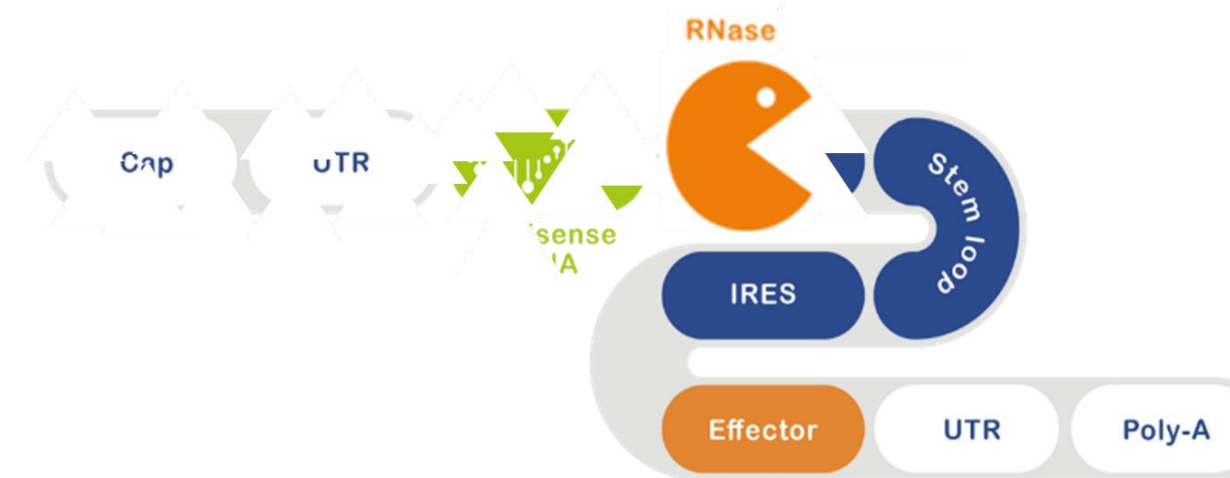
SENSE - ANTISENSE BINDING



- ✓ Target sense RNA is the **RNA marker** naturally and selectively present in target cells
- ✓ When the seRNA enters the cell, **the target RNA binds to the Antisense RNA**, as first domain of the seRNA proprietary construct

seRNA regulation mechanism

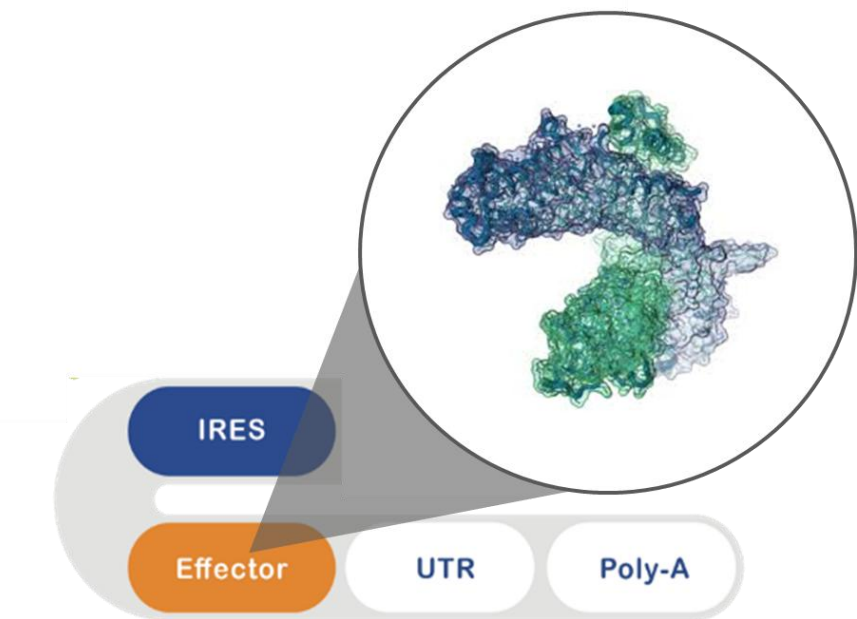
IRES SELECTIVE EXPOSURE



- ✓ The RNase cleaves the double-stranded construct, triggering the **partial degradation of the regulatory part**
- ✓ **IRES is exposed** and can exert its **translation function** and synthesize the protein encoded in the effector domain

Effector expression

THERAPEUTIC EFFECT



- ✓ The translated protein exclusively exerts its **therapeutic function** inside the target cell
- ✓ Lead asset: **caspase-induced cell-death** mechanism
- ✓ Pipeline: potential other therapeutic strategies such as **protein replacement** or **homeostatic re-balance**

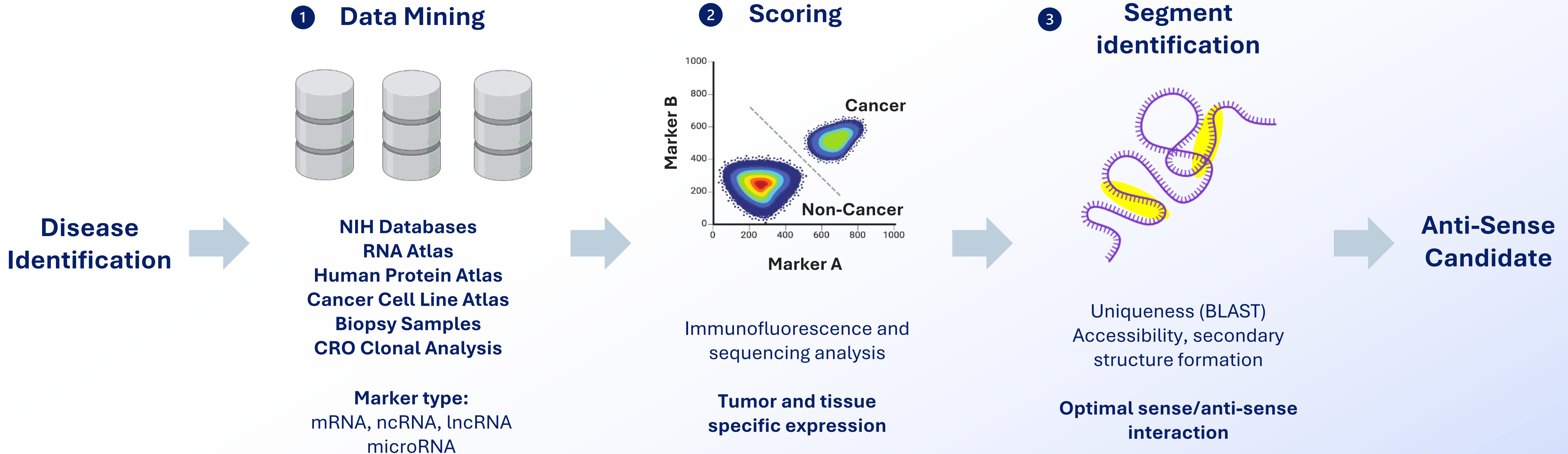
An unprecedented way to use mRNA as a therapeutic

- 1 Activation in target cells only via specific sense/anti-sense interaction
- 2 Partial degradation induces cell type specific effector expression



Die “Hessen-Power” aus Darmstadt zur Identifizierung der optimalen Ziel-RNA

AI-getriebene Plattformtechnologie zum Aufbau Krebs-spezifischer seRNA Therapeutika

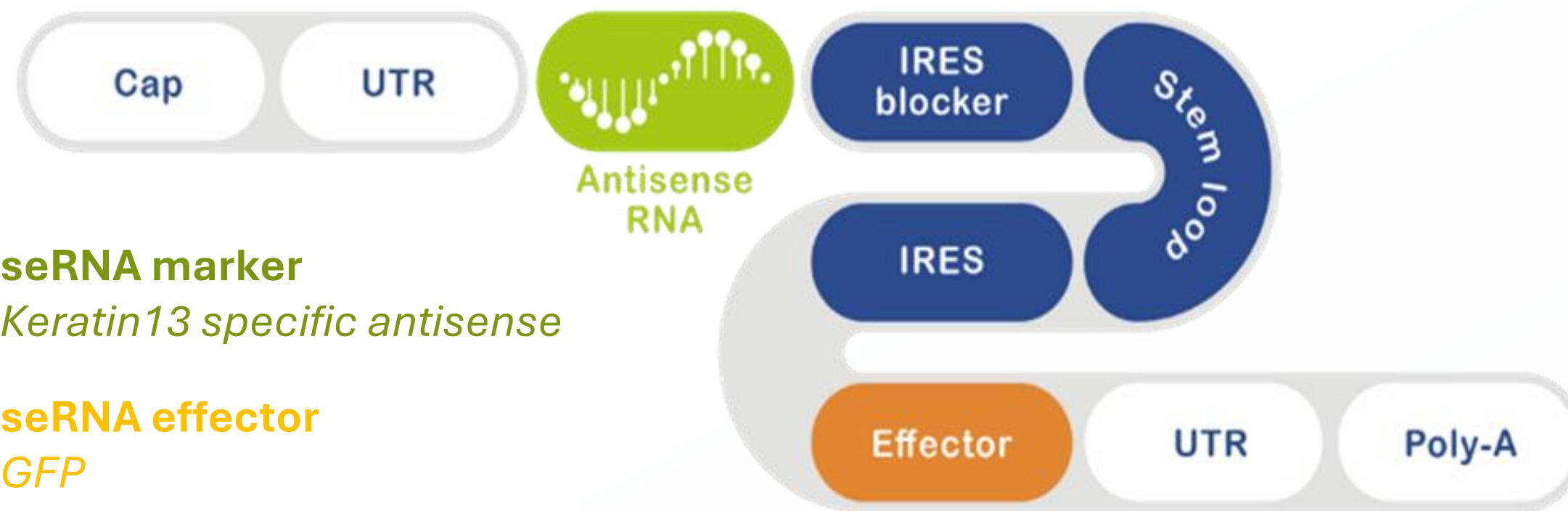


- ✓ Systematic identification of disease-specific RNA markers
- ✓ Optimal combination of markers for higher specificity or for patient-heterogeneity



seRNA: in-vitro Proof of concept

Zelltyp-spezifische Expression des Effektors ausschließlich in Krebszellen



 **seRNA marker**
Keratin13 specific antisense

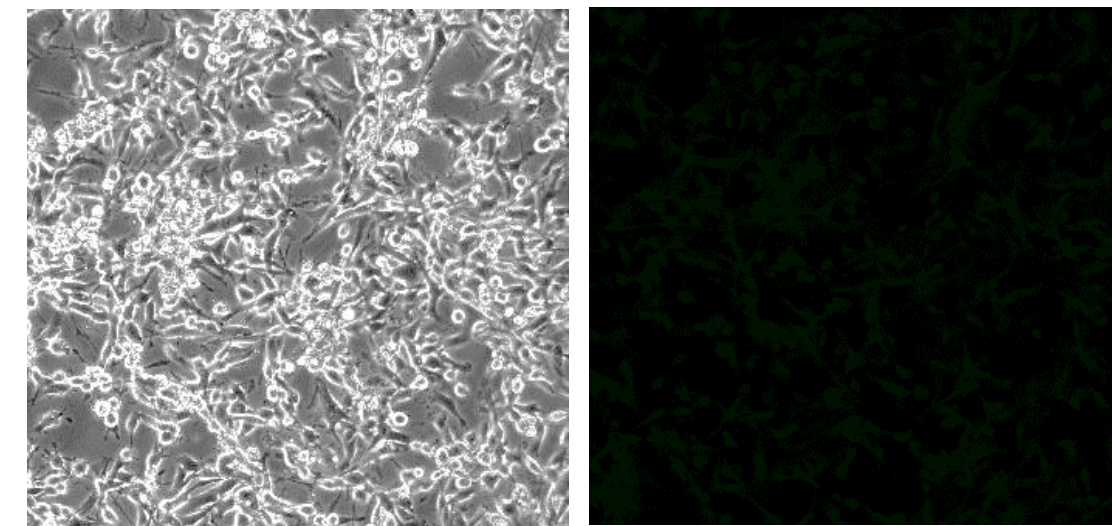
 **seRNA effector**
GFP

In vitro evidence: summary

- 1 Selectivity**
seRNA achieved 100% cell-type specific activation
- 2 Cell lines**
In vitro testing based on different cancer cell lines - glioblastoma, hepatocellular carcinoma – fluorescence and cell-killing properties tested
- 3 MoA validation**
seRNA construct lacking key regulatory targeting modules was used as negative control and exhibited aspecific activation

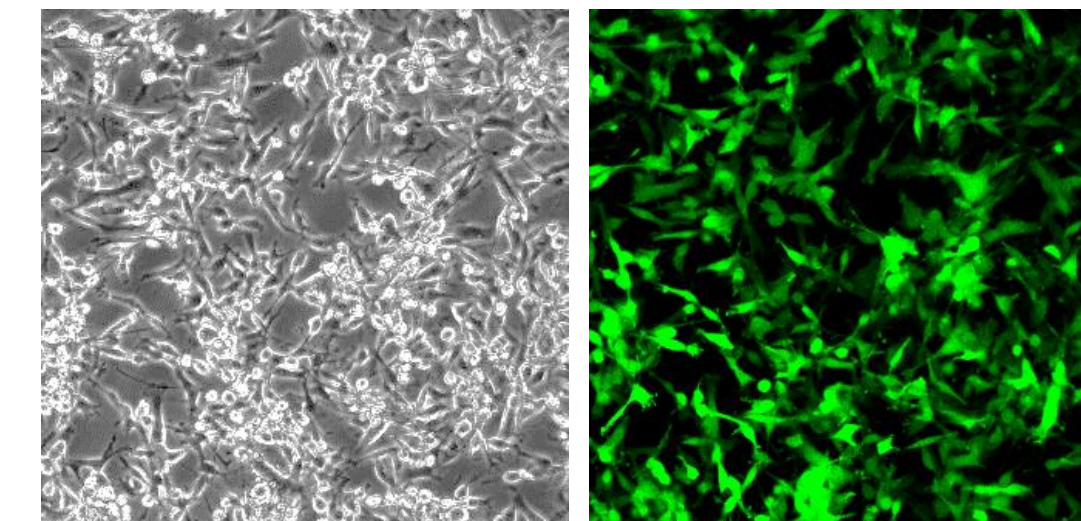
Fluorescence data

eGFP expression was blocked almost completely in keratin-free primary cortical neurons while stable eGFP expression in U87 transfected cells in the presence of the keratin target mRNA was induced



Healthy cells

 **No effector protein expression**



Cancer cells

 **GFP protein expression**

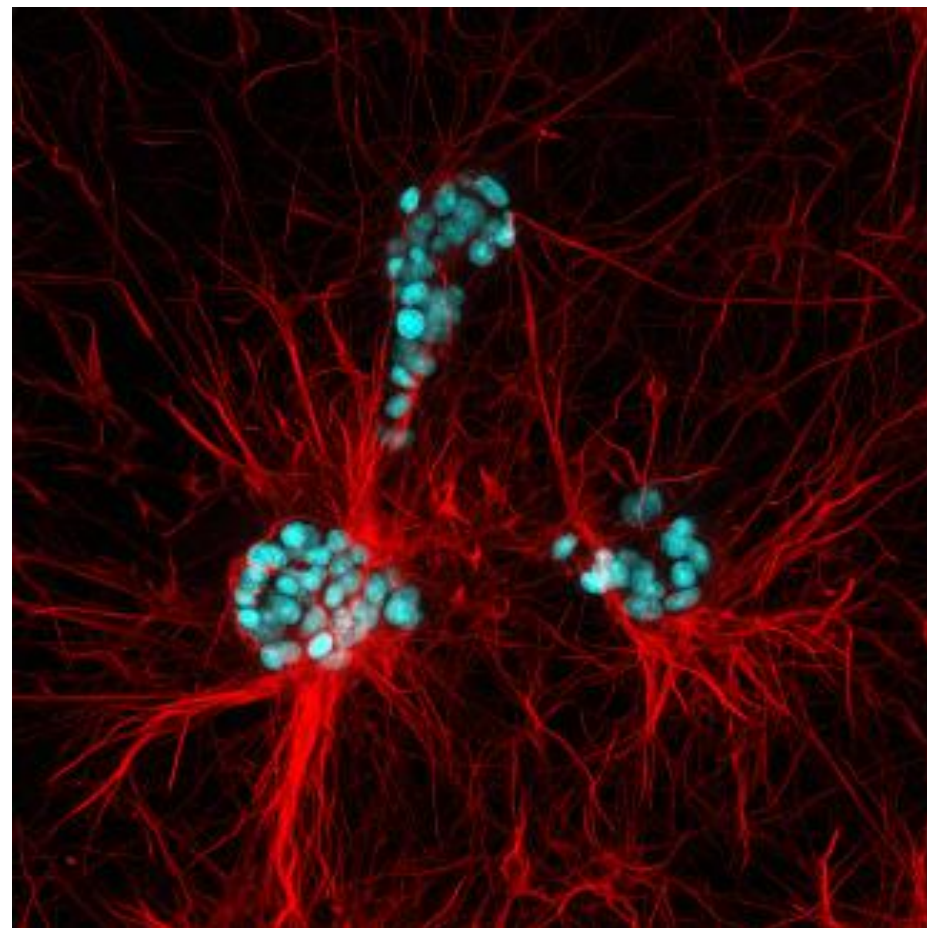


seRNA: Analyse der Biokompatibilität

Funktionalität und Effizienz

Target vs Non-Target Cells

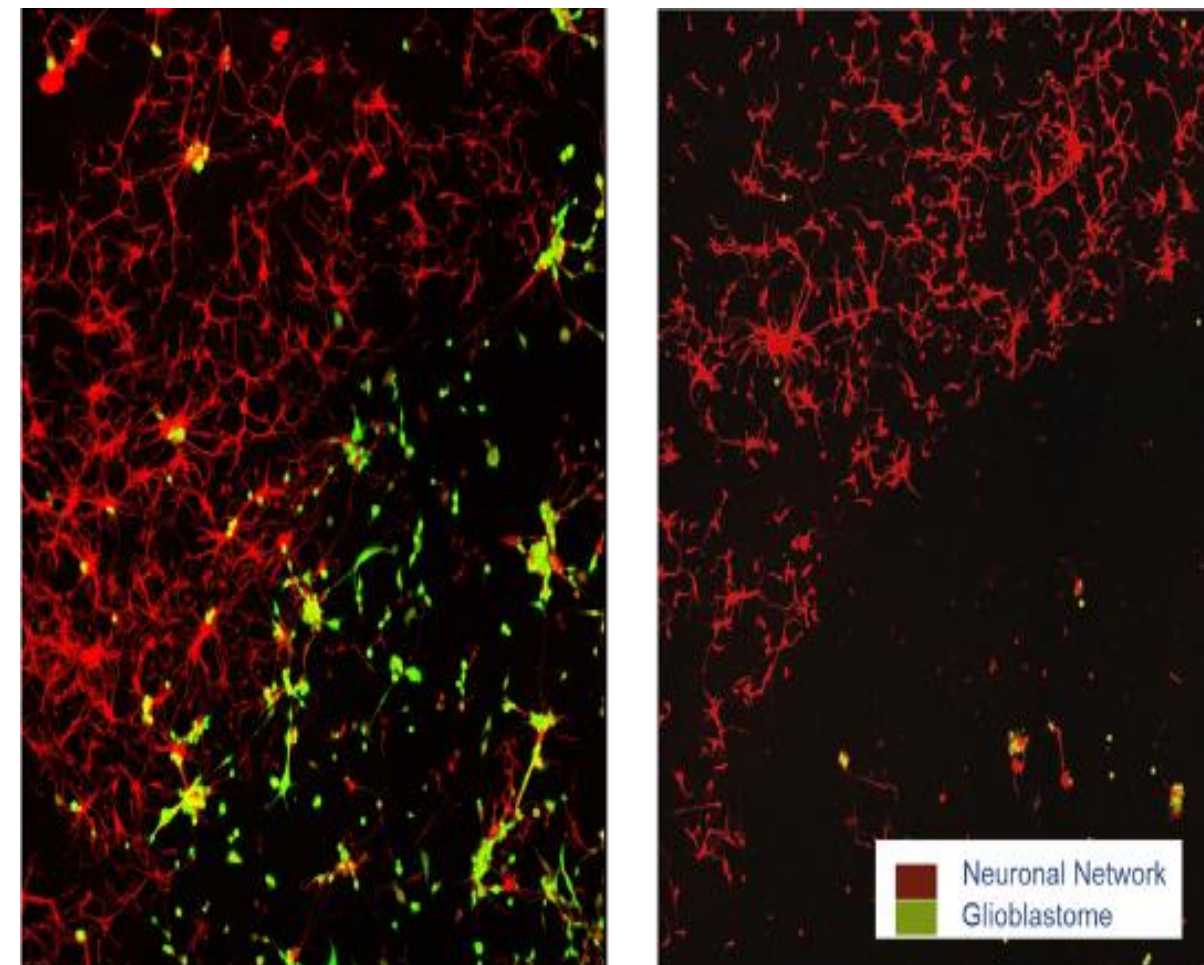
To validate the MoA, a model with neurons as target cells (red) and glioblastoma cells as non target (blue) was chosen.



✓ **Primary neurons and GBM cells** form a close network. It is virtually impossible to dissect GBM cells without affecting the functionality of neuronal networks.

Ex-vivo efficacy

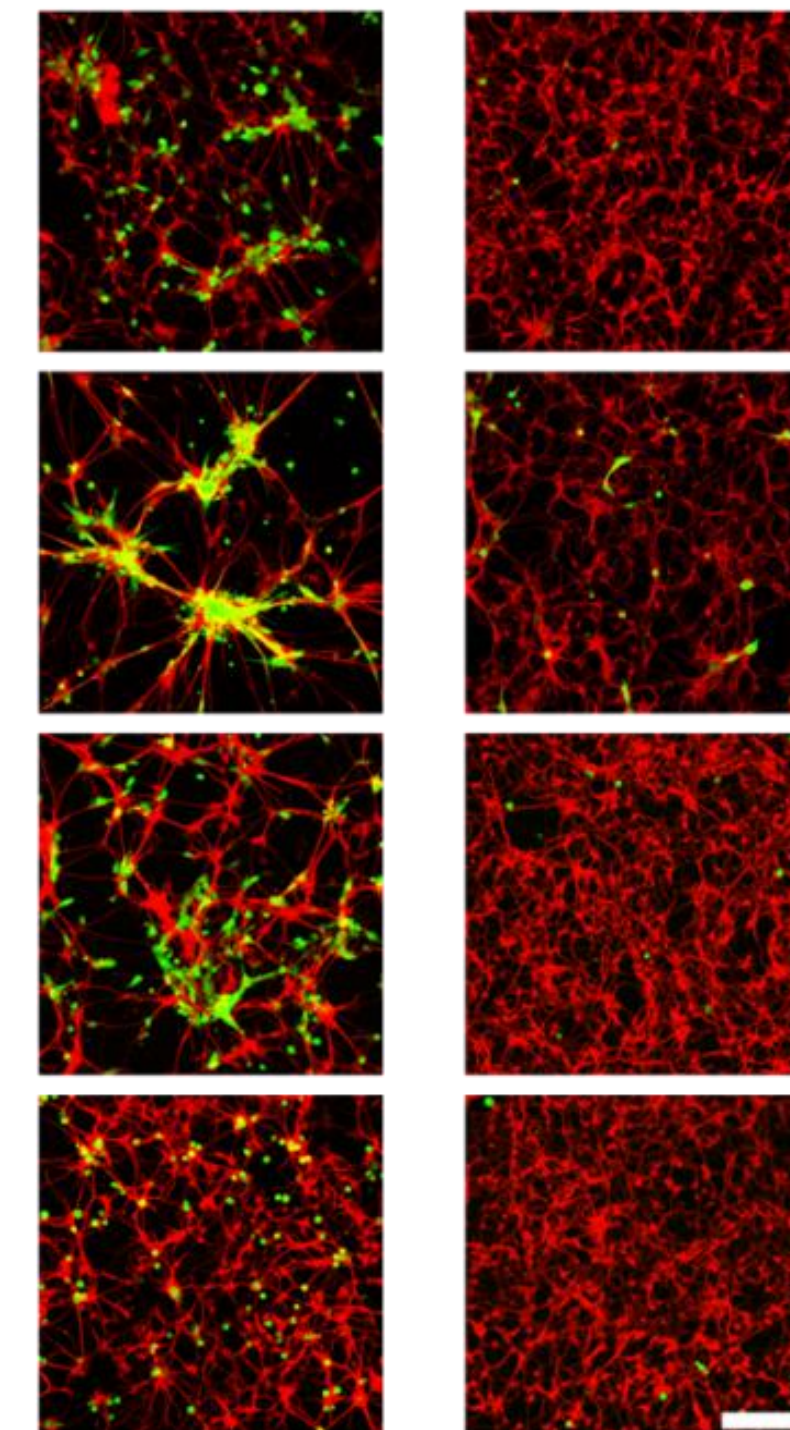
seRNA administered in co-culture of neurons (red) and glioblastoma cells (green)



✓ seRNAs **kill GBM tumor cells** by penetrating dense organoid systems, whilst sensitive **neuronal networks remain functionally connected**

Broad applicability

Different cancer cell lines and types (green) in co-culture with healthy neurons (red).



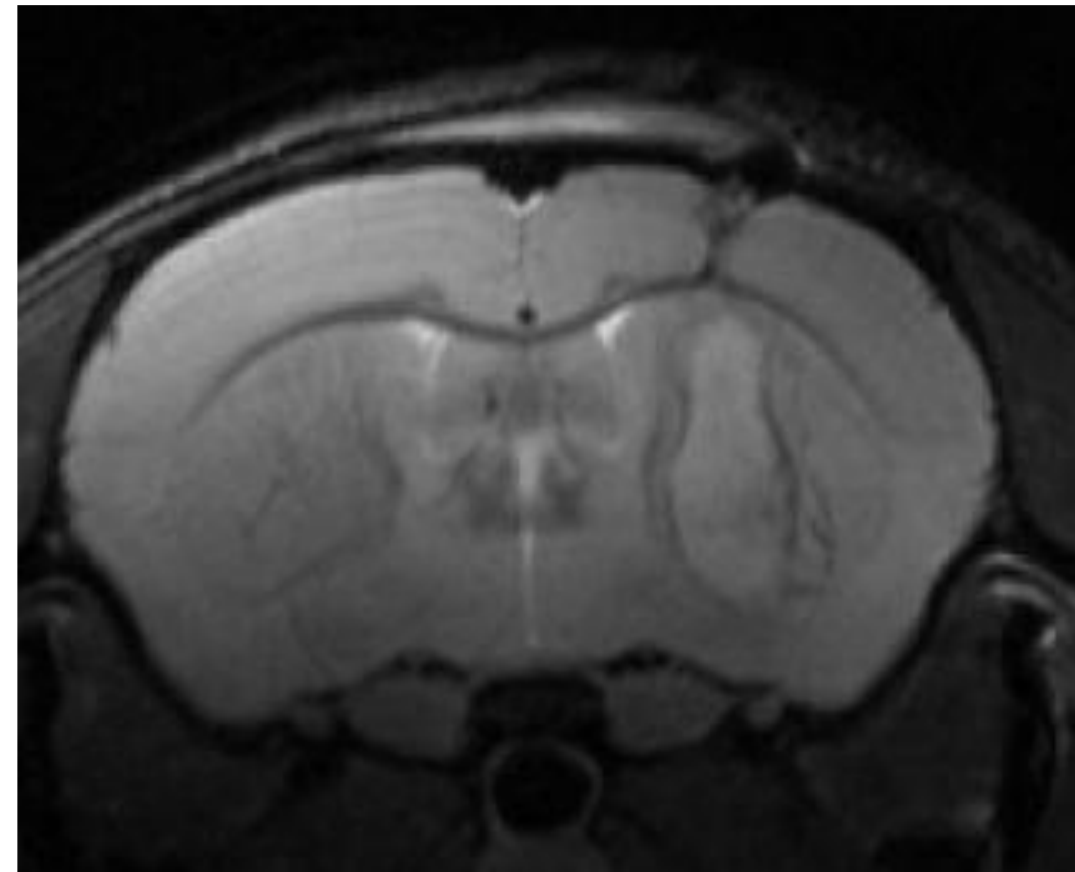
✓ seRNA is always **specifically killing cancer cells** without affecting healthy cells. Almost **complete cancer removal** after just one day.



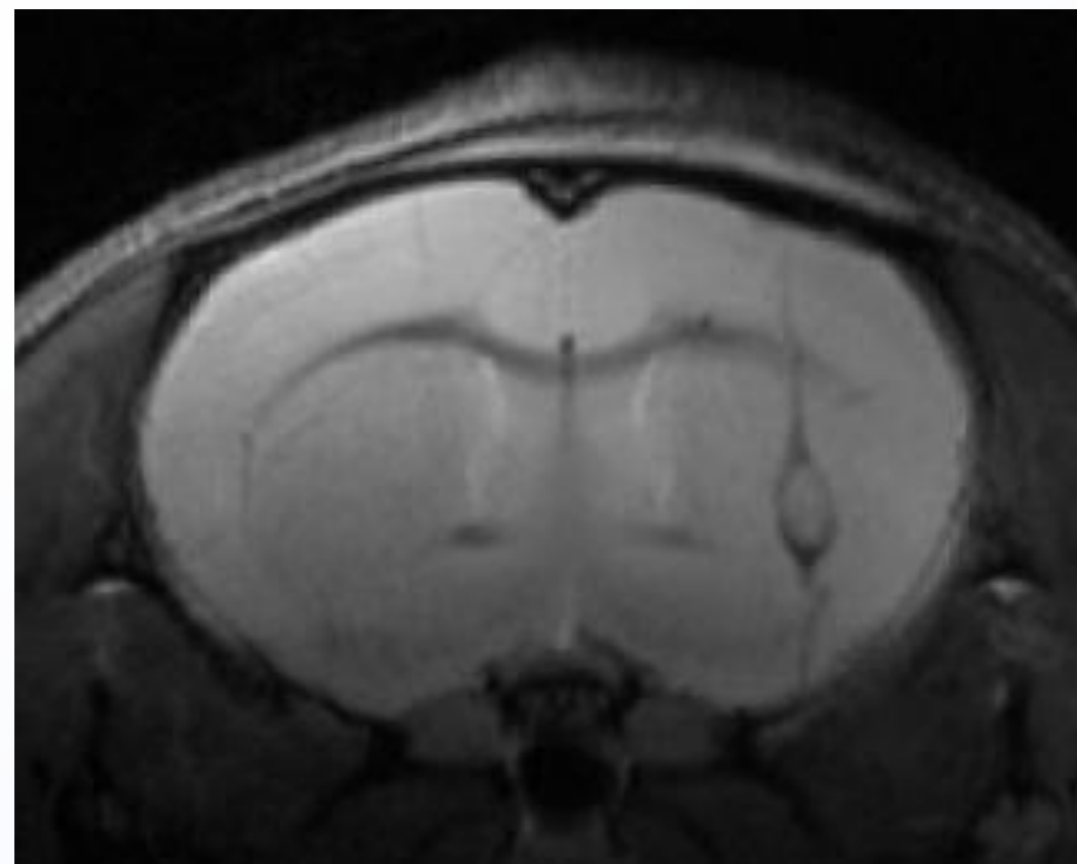
seRNA Therapeutika: In Glioblastomerkrankungen hochfunktional

Intratumorale Gabe als Erfolgsrezept gegen Glioblastomerkrankungen

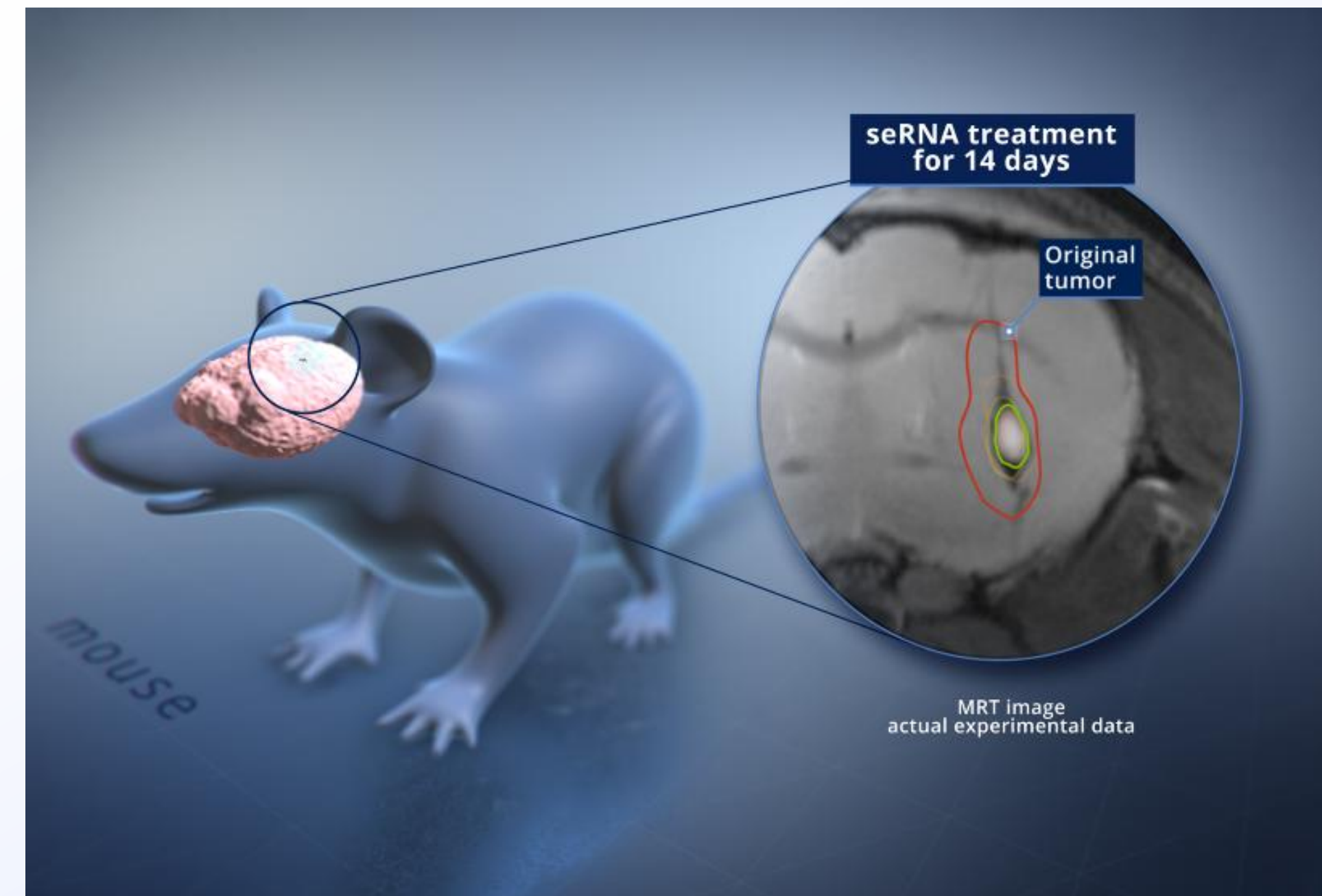
Vor seRNA Gabe



14 d nach seRNA Gabe



Intratumorale Gabe von seRNA



Eine einzige Gabe reduziert im Mittel den Tumor um 60% bereits nach 14 Tagen



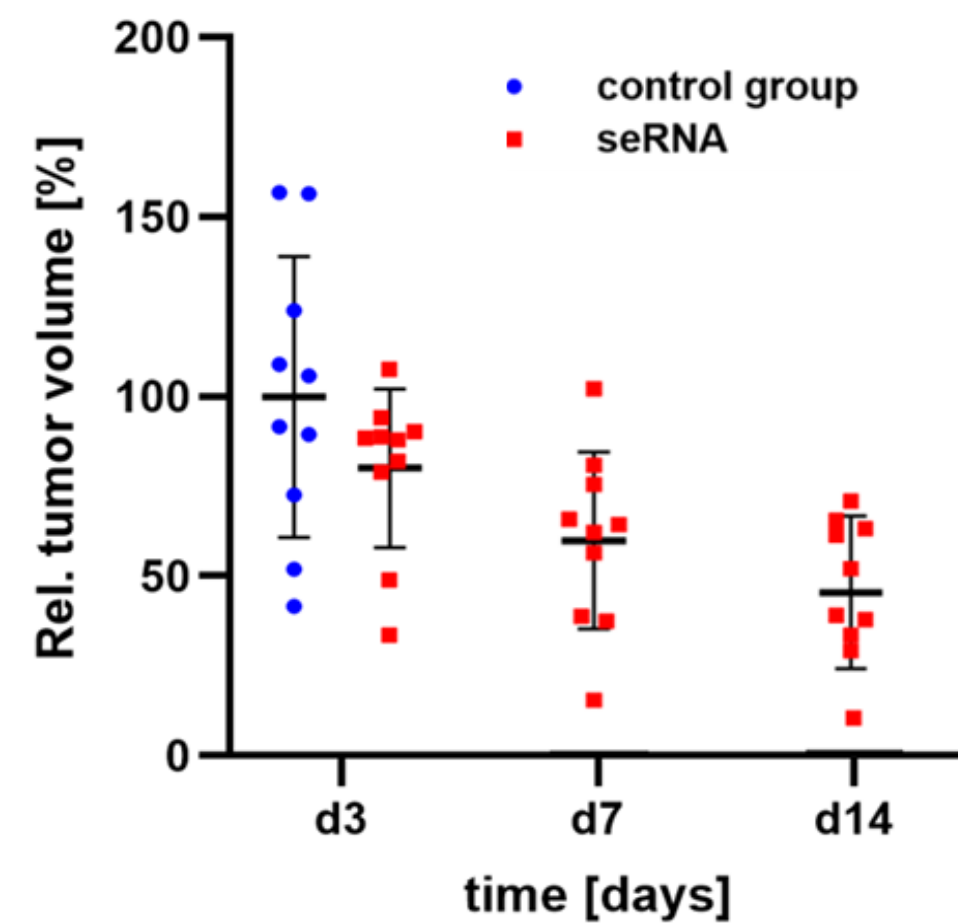
seRNA: Eine breite Analysegrundlage im Tier

Funktionalitätsbeweis in drei verschiedenen Tiermodellen

1

Glioblastoma

Immunodeficient mouse model, with human **U87 glioblastoma** cells being injected into the striatum, $n=10$.

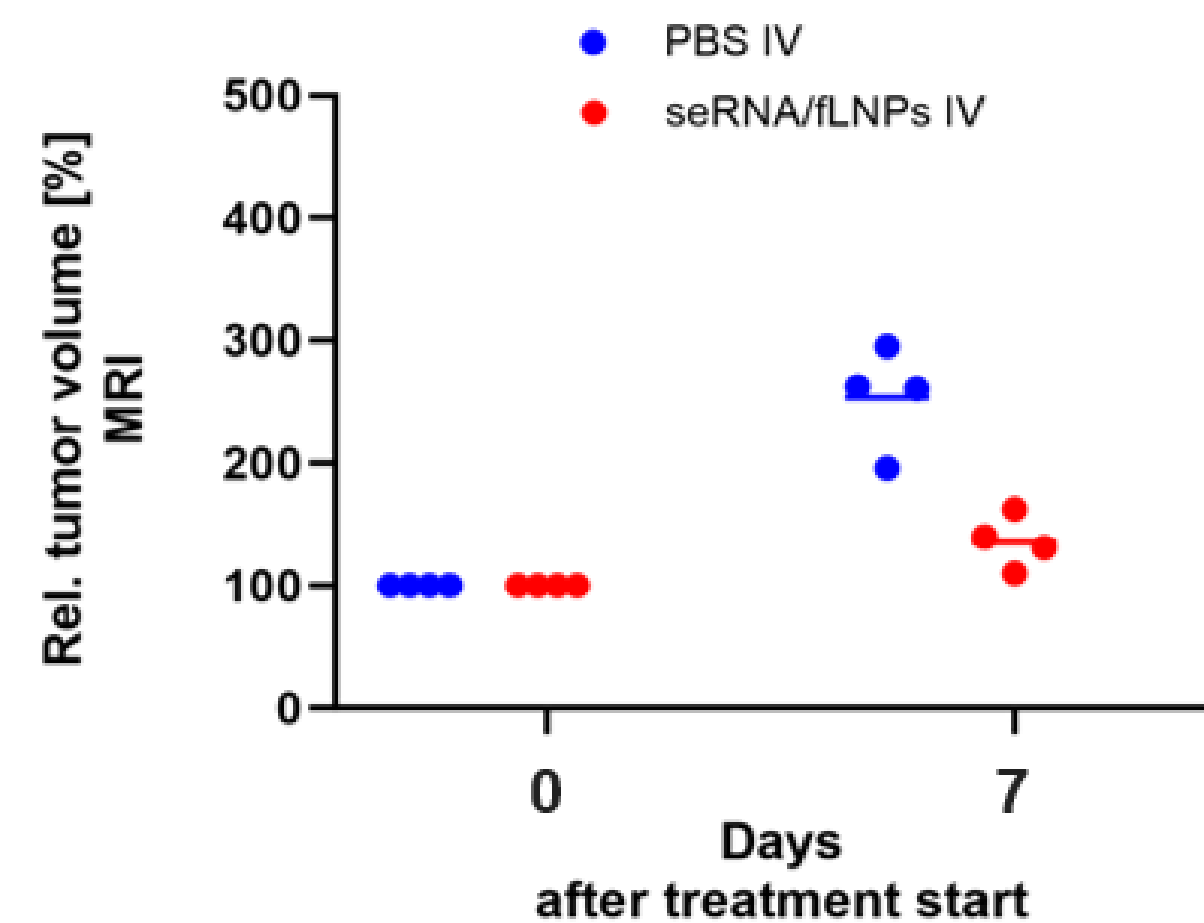


✓ seRNAs destroy GBM tumors, whilst sensitive **neuronal networks** remain **functionally connected**

2

Breast Cancer

Breast cancer **xenograft model** with MCF-7 cell line. Keratin13 was used as selective seRNA marker activator.

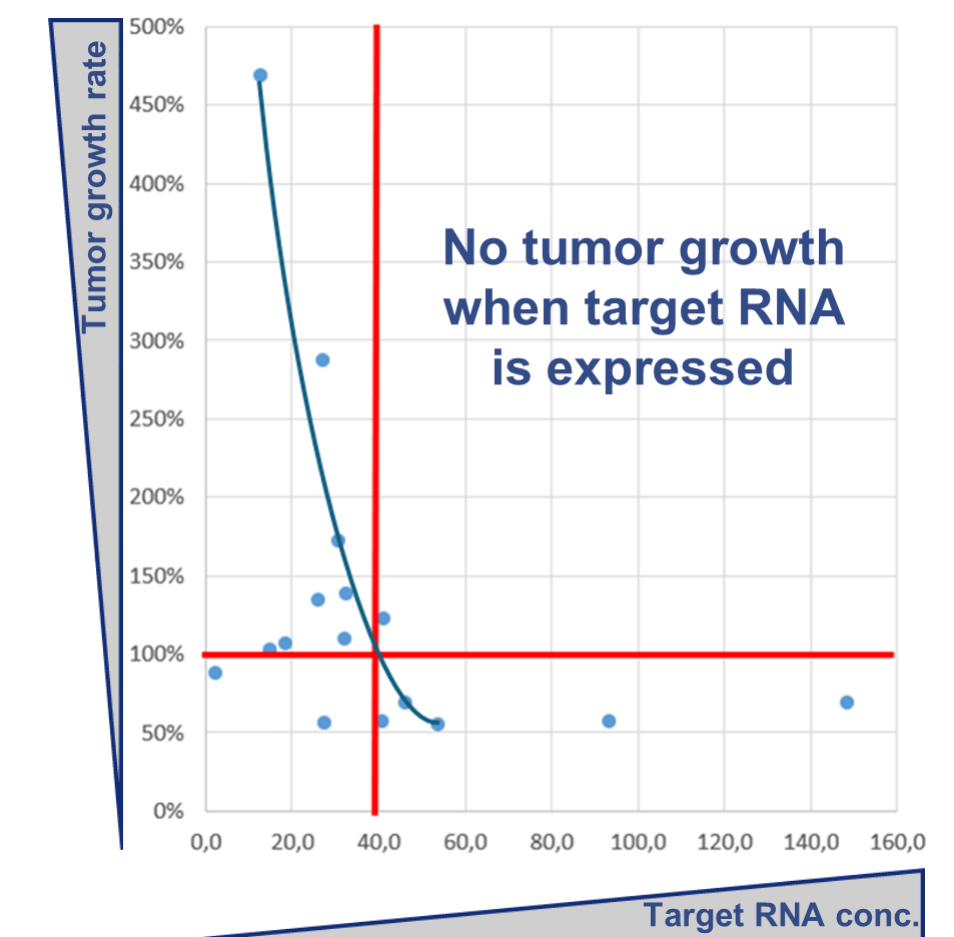


✓ IV administration was able to show tumor growth control after 7 days post-treatment

3

Hepatocellular Carcinoma

TGF α /c-myc transgenic mouse model. Mice treated after **16 weeks post tumor induction** with **repeated seRNA administrations**.



✓ Tumor seRNA marker was quantified and correlated to tumor growth: **seRNAs kill tumor cells effectively when the mRNA marker is present**

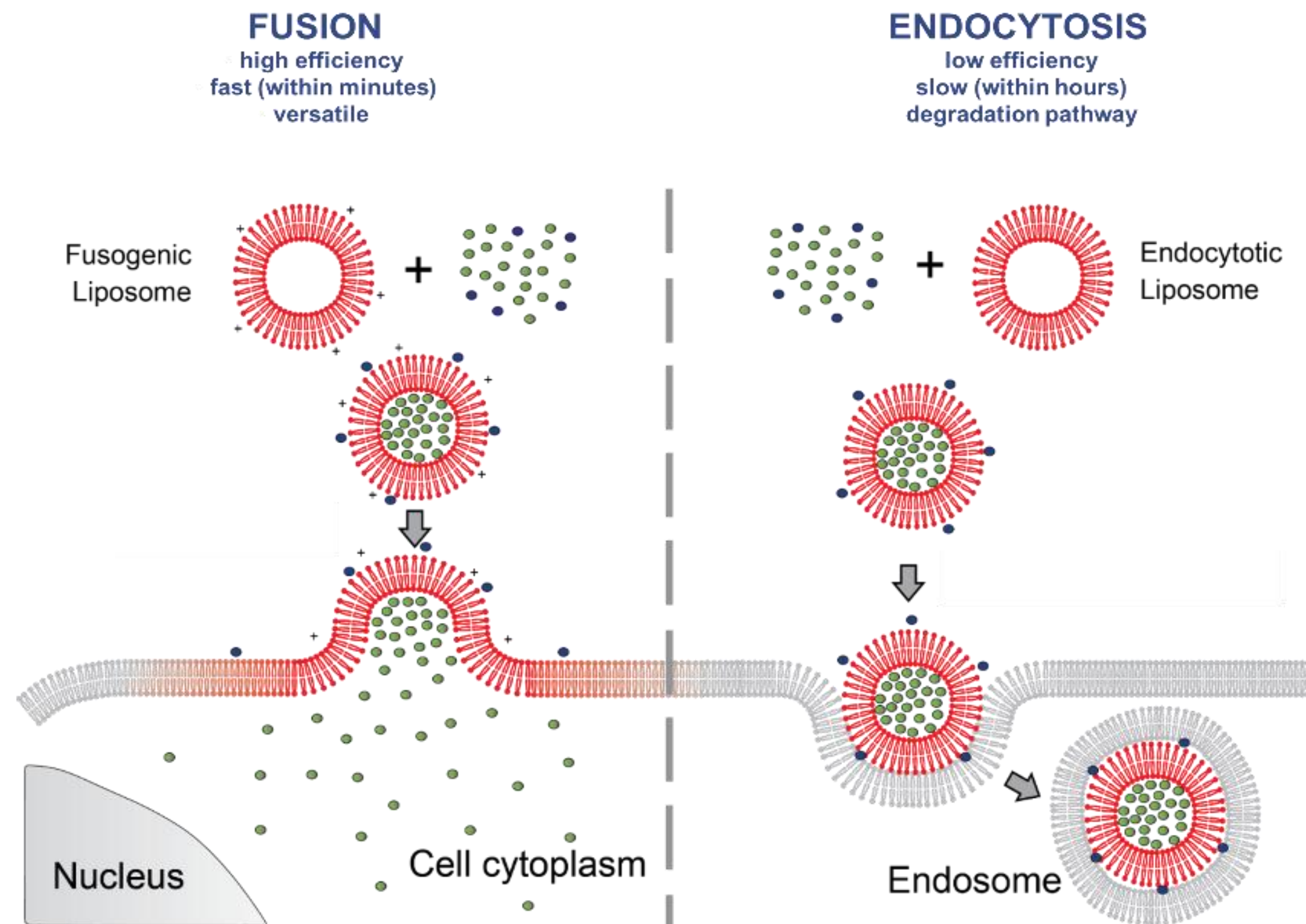


fLNPs: ein vorteilhaftes Übertragungsreagenz in vivo

Fusogene LNPs transportieren die RNA genau dorthin wo sie gebraucht wird.

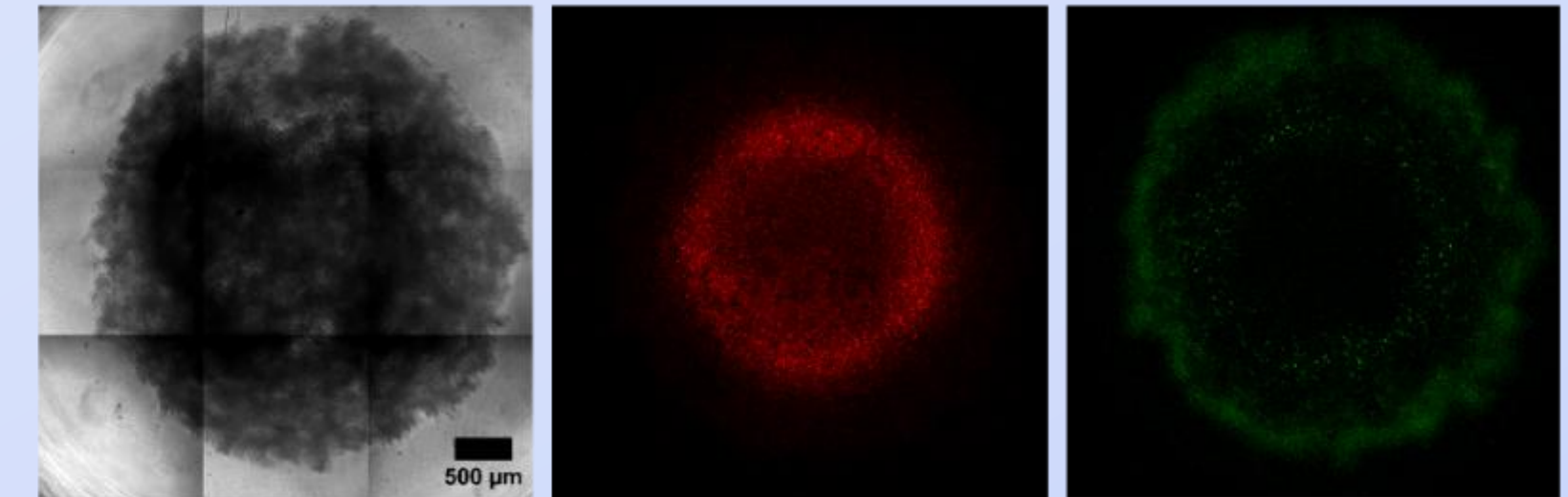
Mode of action

Fusogenic liposomes are a **molecular carrier system** that when brought into contact with mammalian cells, **efficiently fuses with the cellular plasma membrane**

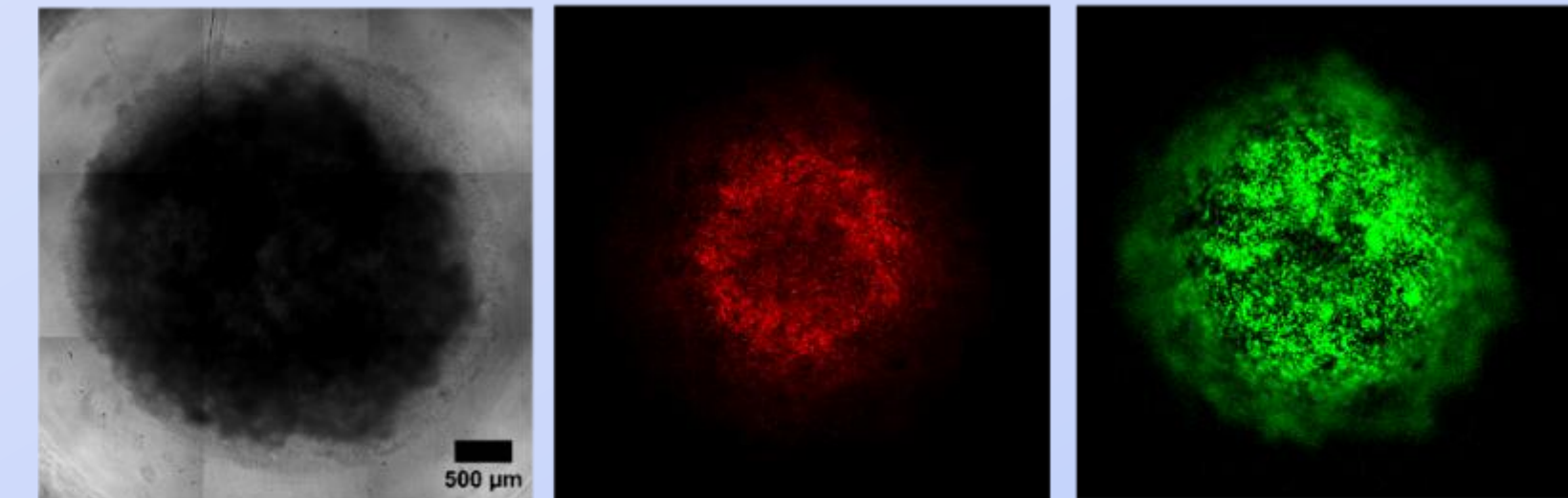


Cancer sphere delivery

Lipofectamine 3000
(„gold“ standard)



Fusogenic Liposomes



Nuclear stain

RNA-GFP



Liposomal content delivered directly to the cytoplasm **without the usual degradation** of standard LNP, with a **strong impact on endosomal destruction** and **cell immune response**

Fusogenic LNPs show better biocompatibility compared to conventional LNPs



Wir ermöglichen die selektive Aktivierung von mRNA und eröffnen damit neue Wege für den Einsatz von mRNA als Therapeutikum.

Das proprietäre mRNA-Konstrukt von SRTD eröffnet neue Marktchancen, die heute noch unvorstellbar sind.





SRTD
biotech

Interested in getting involved?

For more information please contact Bernd Hoffmann
at b.hoffmann@srt-d-biotech.com or +49 1578 0393499