



République Algérienne Démocratique Et Populaire.
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr BELKAID - Tlemcen



Chapitre VIII: Thérapie génique par adénovirus

Dr. Sana TABET-HELAL

Docteur en Biologie Cellulaire & Moléculaire de l'Université d'Evry Val
d'Essonne (France)

Maître de conférences B, Université de Tlemcen

Plan

- I. Introduction
- II. Adénovirus
- III. Thérapie génique & adénovirus
- III.1. Construction des plasmides

Plan

- I. Introduction
- II

Introduction

- De nombreux essais cliniques utilisant des vecteurs de thérapie génique ont été organisés depuis 1989. Ils s'adressent à de nombreuses pathologies et mettent en lumière les avantages et les inconvénients des systèmes vecteurs courants. Ils permettent de préciser le cahier des charges sur lequel s'appuie le développement d'outils améliorés pour le transfert de gène.

Le vecteur doit tout d'abord être capable de compacter les acides nucléiques, car quelques milliers de paires de bases d'ADN (la taille d'un petit gène) occupent en solution un volume comparable à celui d'une cellule.

Introduction

- Les séquences thérapeutiques (transgènes) doivent être protégées de la destruction provoquée par les agents physiques et biologiques (enzymes) actifs dans le milieu. Le vecteur doit aussi assurer le franchissement des multiples membranes de la cellule (plasmique, vacuolaire et nucléaire) et le cheminement efficace de sa « cargaison » jusqu'au noyau.

Plan

- II Adénovirus

Adénovirus

- Près de 20 % des essais de thérapie génique ont été réalisés par les adénovirus.
- Les vecteurs les plus utilisés pour un transfert de gènes *in vivo* dans le traitement des maladies mono géniques.

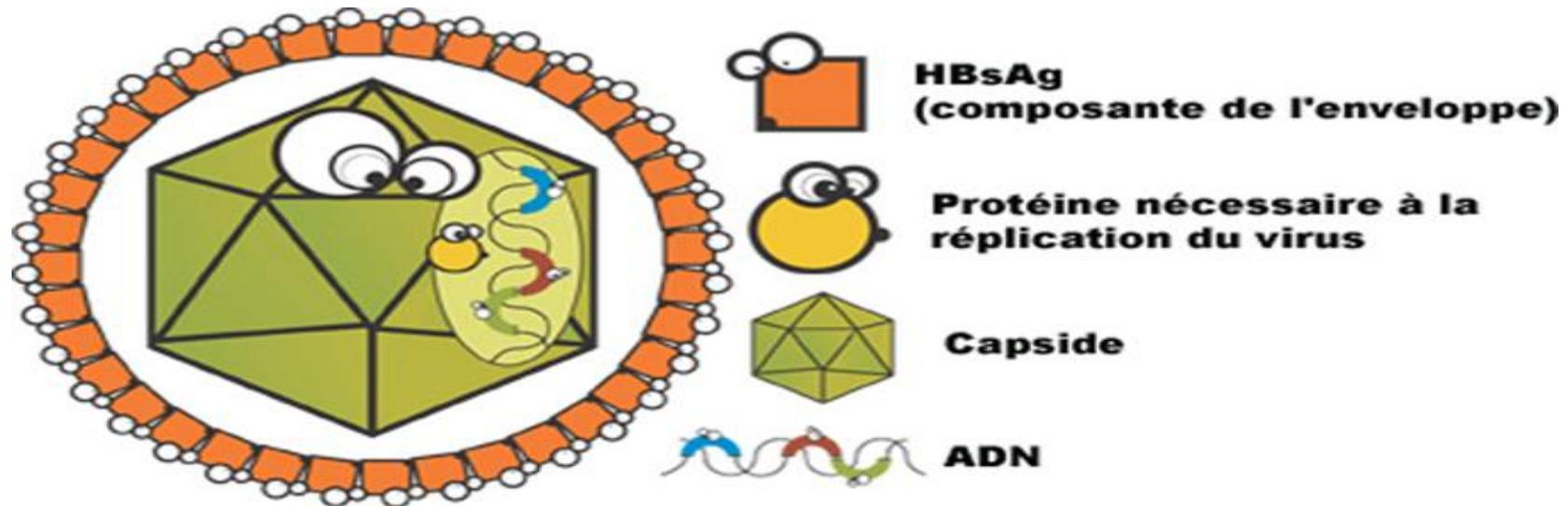


Figure 1: Schéma simplifié d'un adénovirus

Adénovirus: classification

- Les Adénovirus humains sont des virus de taille moyenne (70 à 110 nm), dont le génome est constitué d'ADN bicaténaire (30000 à 38000 paires de bases pour une quarantaine de gènes), à capsidie icosaédrique et non enveloppés. Les principales protéines constitutives de la capsidie sont l'hexon (sur les faces), le penton (sommets) et la fibre (spicules).

Plan

- III. Thérapie génique & adénovirus

Thérapie génique & Adénovirus

- Les adénovirus sont très utilisés en thérapie génique car ils présentent un fort pouvoir infectieux associé à un large spectre de cellules cibles, quiescentes ou en prolifération, ils ont une réplication extra-chromosomique de leur génome (minimise le risque de mutations insertionnelles), il existe une possibilité d'insérer de longs fragments d'ADN exogènes et enfin la facilité de manipulation et de production à des titres élevés.

Plan

- III. Thérapie génique
- III.1. Construction des plasmides

Construction d'un ADN recombinant

- Elle consiste à insérer un fragment d'ADN (nommé insert), c'est le gène thérapeutique d'intérêt, dans un adénovirus, le nouvel ADN recombinant ainsi créé (adénovirus + ADNc du gène thérapeutique) sera ensuite introduit dans une cellule hôte, une bactérie compétente comme *Escherichia coli*. Celle-ci sera alors sélectionnée et multipliée afin d'obtenir une grande quantité du vecteur d'intérêt, enfin ce dernier sera transfecté à la cellule eucaryote qu'on souhaite guérir par thérapie génique.

Etapes de la Construction d'un ADN recombinant

- 1/ Amplification de l'ADNc (ADN donneur), gène thérapeutique par PCR (Polymerase Chain Reaction) qui permet d'amplifier *in vitro* une séquence d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et étudier son expression.
- 2/ Coupure de l'ADN donneur (ADNc) et l'adénovirus à l'aide d'enzymes de restrictions (de coupure). Ce sont des enzymes qui clivent l'ADN en reconnaissent des séquences nucléotidiques spécifiques (sites de restriction).
- 3/ Ligation des molécules d'ADN (ADNc-adénovirus). Cette technique consiste à lier l'ADNc (l'insert) avec le vecteur (adénovirus) pour obtenir un ADN recombinant (fig. 2).

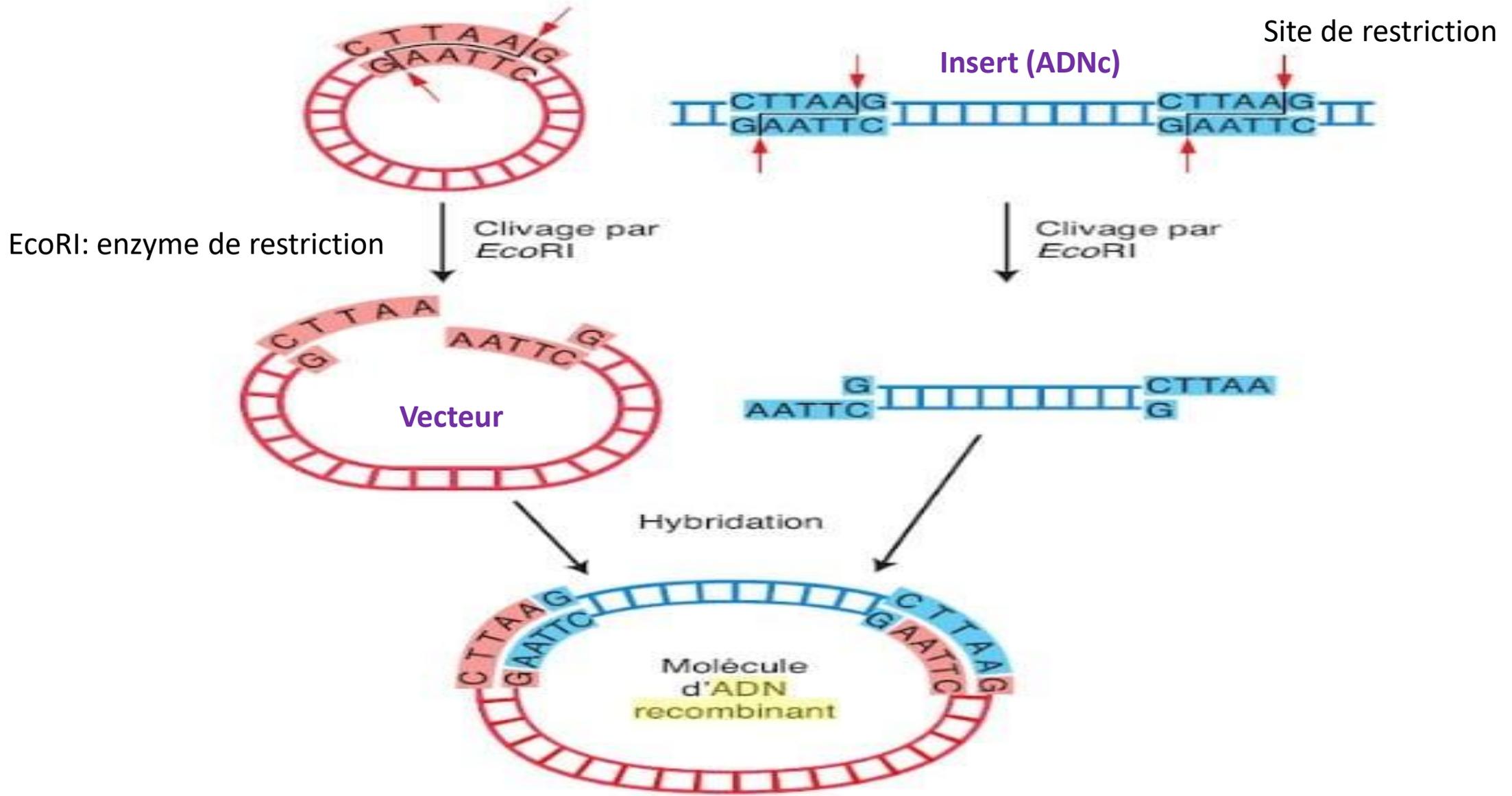


Figure 2: Etapes de formation d'ADN recombinant

Etapes de la Construction d'un ADN recombinant

- 4/Amplification de l'ADN recombinant à l'aide de la machinerie bactérienne (transformation bactérienne dans une bactérie compétente).
- 5/ Adsorption: la fixation spécifique du virus sur la cellule hôte.
- 6/ Pénétration : l'entrer du virus souvent par endocytose.
- 7/ Décapsidation: libération du contenu viral dans la cellule.
- 8/ Réplication ou Synthèse : la transcription des gènes viraux en ARNm puis la traduction de la protéine souhaitée (figure 3).

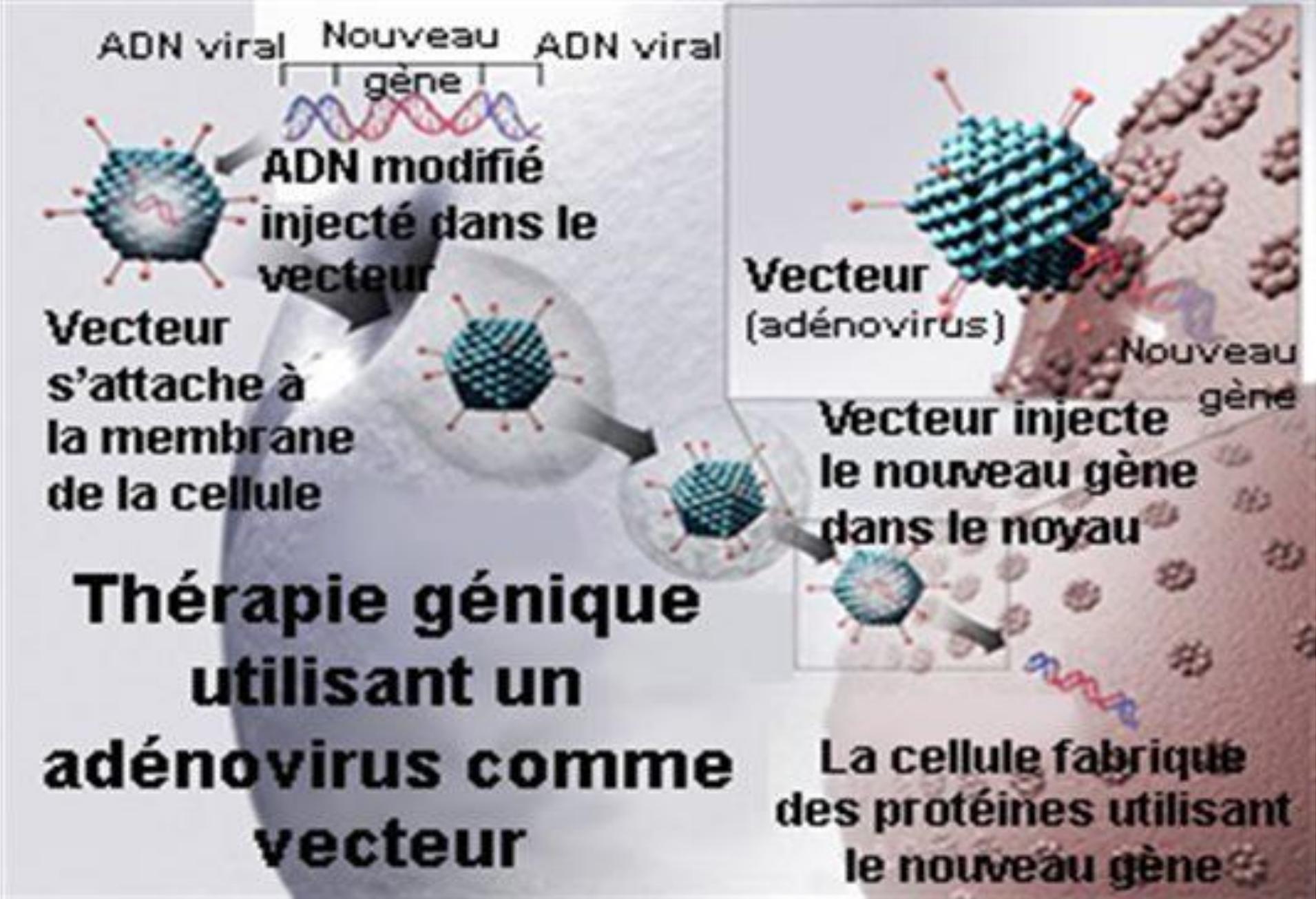


Figure 3: Thérapie génique par l'adénovirus.