



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



# Chapitre IX: Thérapie génique par l'approche du saut d'exons

**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. Thérapie génique et sauts d'exon
  - II.1. Principes du saut d'exon
- III. Saut d'exon & maladie de Duchenne

# Plan

---

- I. Introduction

# Introduction

---

L'acide désoxyribonucléique ou ADN, le support de l'information génétique, est séquestré dans le noyau. Une succession d'étapes permettra l'expression de cette information sous la forme de protéine dans le cytosol de la cellule.

L'enchaînement des bases de l'ADN est d'abord lu puis transcrit en pré-ARNm, séquence de ribonucléotidique. Le pré-ARNm subit différentes étapes de maturation, qui lui permettent ainsi de sortir du noyau pour atteindre les ribosomes. Ces derniers vont lire la séquence d'ARNm, et la traduire en une séquence d'acides aminés codant pour la protéine.

Des étapes de maturation, de modification vont ensuite moduler, modifier le message génétique et permettre son expression.

# Introduction

---

Trois grandes étapes sont essentielles à la maturation du pré-ARNm en ARNm mature, maturation qui permettra à l'ARNm de se diriger vers le pore nucléaire:

- \* La fixation d'un motif guanylique par une liaison 5'-5' tri phosphate (ou Coiffe) à l'extrémité 5' de l'ARNm permettant sa protection face aux 5'exonucléases.

- \* La reconnaissance du site de polyadénylation et la fixation d'un long motif poly riboadénosique (ou queue polyA), lui conférant ainsi sa demi vie face aux 3'exonucléases. A noter que plus sa séquence est longue plus l'ARNm perdurera. Seul l' ARNm des histones ne subit pas de fixation de la queue polyA .

- \* L'épissage, qui est une étape clé de la maturation des ARNm.

Les transcrits primaires ou pré ARNm sont constitués d'une alternance d'introns (séquences non codantes ne participant pas à la traduction) et d'exons (séquences, codantes ou non, participant à la traduction). Grâce à l'épissage, les introns sont excisés du transcrit primaire et les exons sont joints l'un à l'autre pour former une séquence continue qui sera traduite et codera pour une protéine.

Des mutations génétiques sont à l'origine de défaut d'épissage. Elles peuvent conduire à des rétentions d'intron, des sauts d'exon et des inclusions de séquences introniques appelées pseudo exons ou **sauts d'exon**.

# Plan

---

- II. Thérapie génique et sauts d'exon

# Thérapie génique & sauts d'exon

---

- L'ARN messenger subit d'abord un épissage pour se débarrasser des parties non codantes des gènes à exprimer. Il s'agit de l'étape avant la traduction de l'ARN en protéines, c'est donc un moment privilégié pour supprimer les parties pouvant s'avérer dangereuses d'un gène.
- C'est ici qu'apparaît la technique du saut d'exon : une protéine codée à partir d'un groupe d'exons contenant un exon défectueux sera très souvent inactive, voire dangereuse. On peut cependant supprimer cet exon défectueux : on obtiendra une protéine plus courte mais qui pourra remplir son rôle dans l'organisme.
- Les éléments de biologie moléculaire utilisés pour réaliser cette technique sont appelés oligonucléotides antisens ou morpholinos.



# Plan

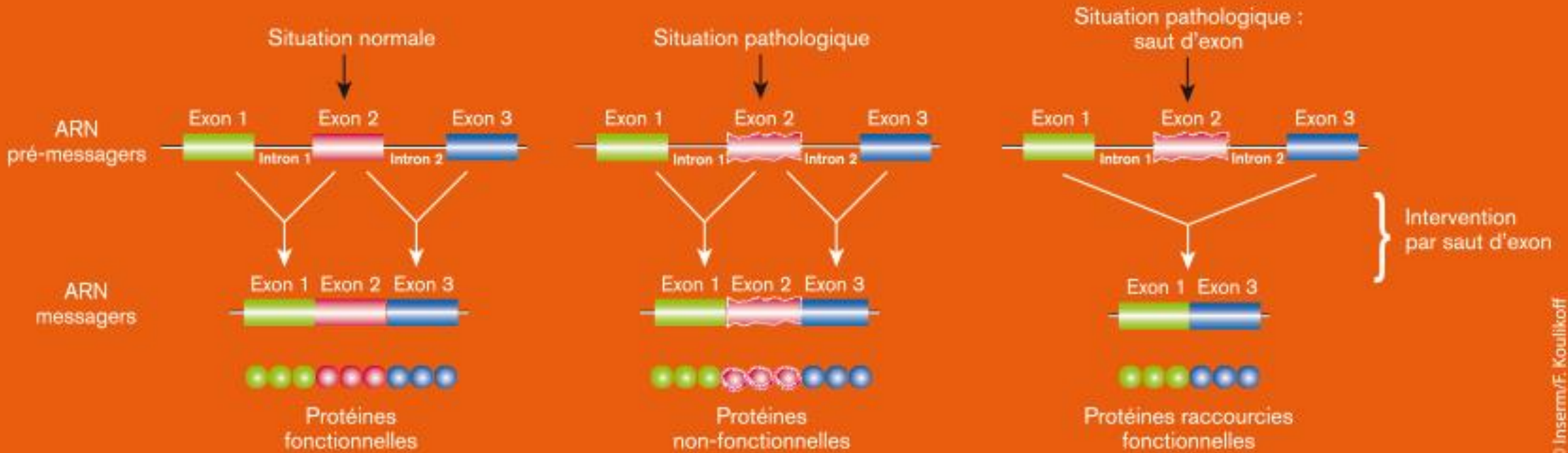
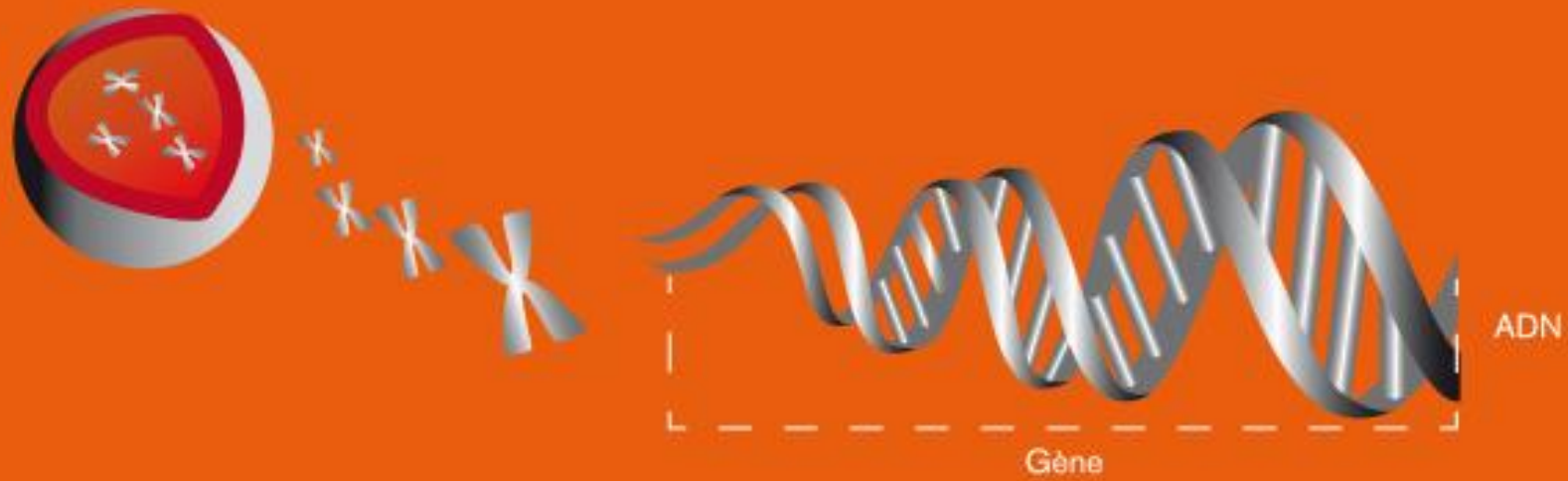
---

- II. Thérapie génique et sauts d'exon
- II.1 Principes du saut d'exon

# Principe du saut d'exon

---

- Modifier l'ARN pour obtenir une protéine fonctionnelle.
- Cette technique consiste à faire produire par la cellule une version modifiée de la protéine qui lui fait défaut. Cela nécessite l'injection de petits oligonucléotides anti-sens (ou AONs) qui se fixent sur l'ARN messenger transcrit à partir du gène muté en modifiant l'épissage, une étape importante avant sa traduction en protéine (figure 1).

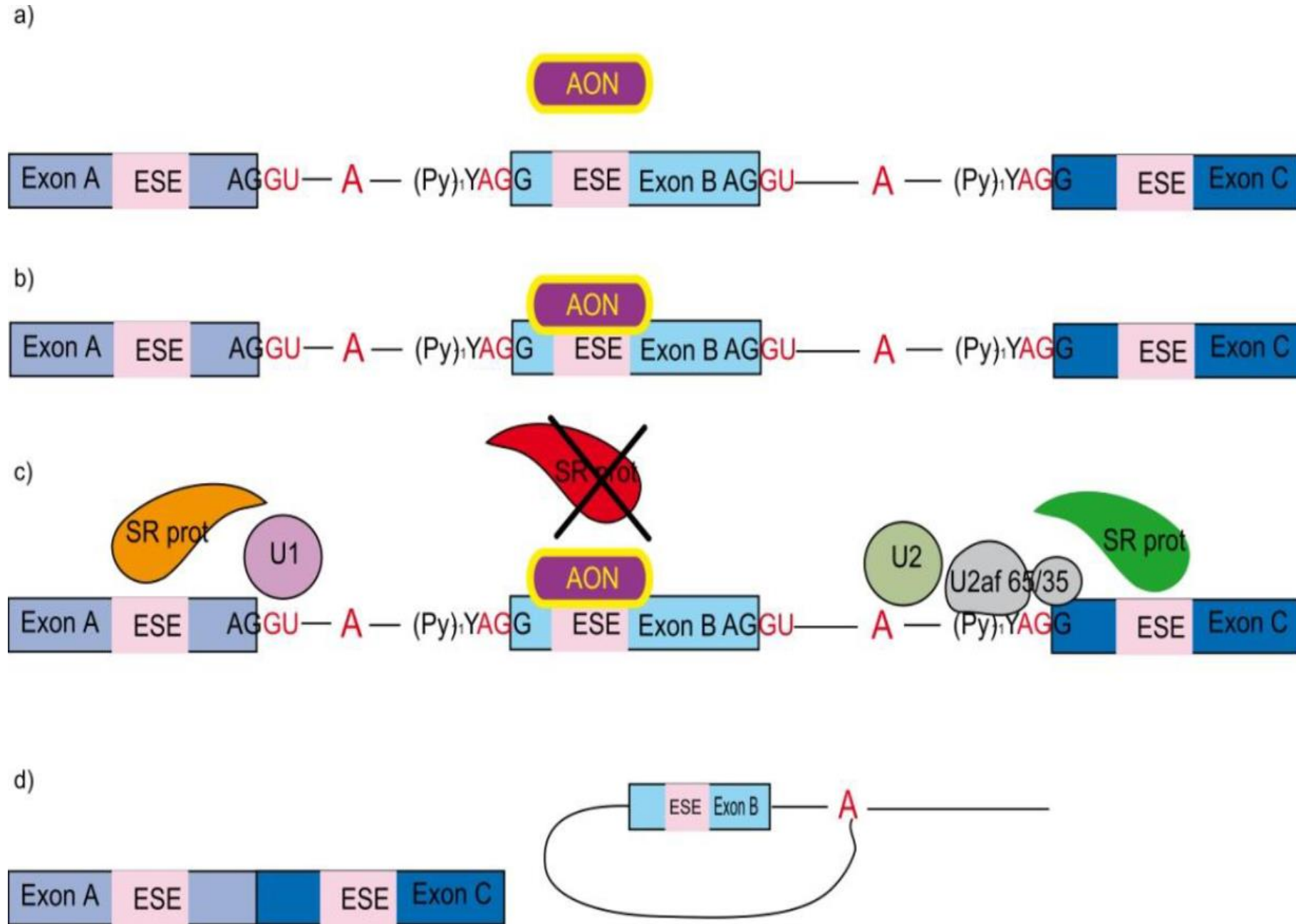


**Figure 1:** Principe simplifié du saut d'exon.

# Principe du saut d'exon (suite)

---

- L'utilisation des AONs permet de moduler la reconnaissance des sites d'épissage en se fixant au niveau du transcrit primaire par appariement. Par encombrement stérique, les AONs ainsi fixés sur des sites d'épissage bloquent la fixation des effecteurs de l'épissage (SR protéine) ou les sites donneurs et accepteurs. Ainsi, ils empêchent l'inclusion de l'exon ciblé dans l'ARNm final. Le but de cette modulation du pré-ARNm est de cibler l'exon à l'origine d'une pathologie, et de l'exclure de l'ARNm mature (figure 2).



**Figure 2:** Un exemple du saut d'exon (Rendu, 2014).

# Principe du saut d'exon (suite)

---

- L'AON utilisé se fixera sur la séquence ciblée (ici un ESE de l'exon B). La protéine SR (protéine riche en Sérine et en Arginine) ne pourra plus se fixer à cette séquence, l'AON bloquant stériquement sa fixation (a-b-c). Il n'y aura pas le recrutement des effecteurs de l'épissage ici une SR protéine (SR protéine), l'exon B ne sera plus reconnu comme tel, il sera « sauté », permettant la jonction entre l'exon A et C (d).
- ESE: Exonic Splicing Enhancer, est un motif de séquence d'ADN composé de 6 bases nucléotidiques dans un exon et qui dirige, ou améliore, l'épissage du pré-ARNm en ARN messager (ARNm).

# Plan

---

- III. Saut d'exon & maladie de Duchenne

# Saut d'exon & maladie de Duchenne

---

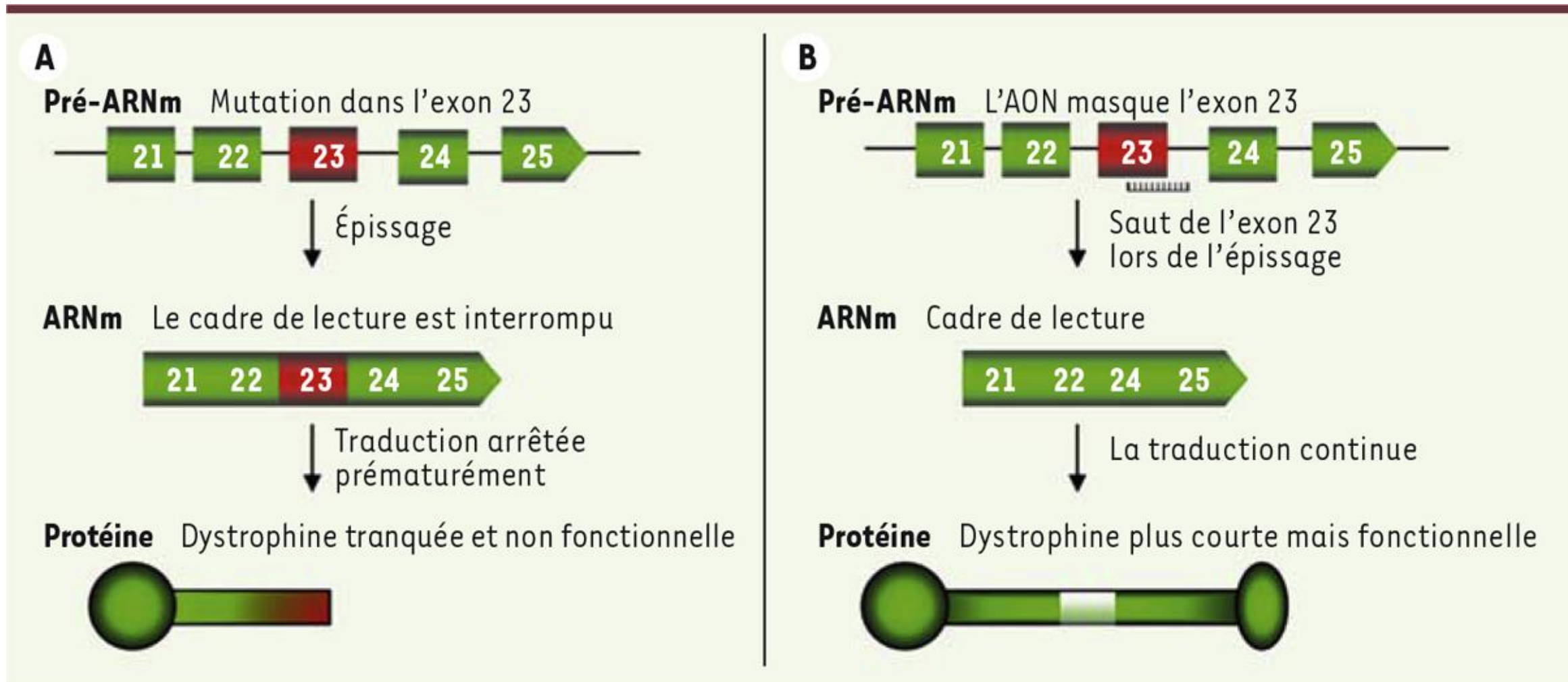
La myopathie de Duchenne, ou dystrophie musculaire de Duchenne, est une maladie génétique provoquant une dégénérescence progressive de l'ensemble des muscles de l'organisme. Elle est liée à une anomalie du gène DMD, responsable de la production d'une protéine impliquée dans le soutien de la fibre musculaire, dystrophine.

Les approches de « saut d'exon » consistent à corriger le cadre de lecture du gène qui porte la mutation à l'origine de la maladie et restaure l'expression de la protéine, entraînant la conversion du DMD en une forme cliniquement plus douce (figure 2).



# Saut d'exon & maladie de Duchenne

- Les mutations entraînant une DMD provoquent généralement une perte de cadre de lecture lors de la traduction (délétion, non sens, etc...). La dystrophine est absente chez les malades DMD, le muscle ne résiste pas à la contraction, et de lésions en lésions, le muscle ne se régénère plus.



**Figure 2:** Stratégie de réparation de la mutation de l'exon 23 par « saut d'exon ». A. Conséquences de la mutation sur la production de dystrophine. B. Mécanisme d'action de l'AON. AON : oligonucléotide antisens (d'après Goyenevalle et al., 2005).

# Conclusion

---

- L'objectif principal de la thérapie génique par saut d'exon est d'obtenir un taux suffisant de transcrits lisibles afin d'aboutir à une quantité de protéines fonctionnelles et de contrecarrer le processus pathologique.
- Un des problèmes de cette thérapie est le manque de polyvalence pour une molécule correspond un exon à corriger. Ce type de thérapie ne s'adresse qu'à des pathologies ayant des mutations récurrentes. Les thérapies personnalisées sont à ce jour trop peu développées de par leur coût et de par le travail avant la commercialisation d'une molécule qui ne sera utilisable que par une famille de patient.

# Références bibliographiques

---

- Goyenvalle A, Griffith G, Avril A, et al. Functional correction and cognitive improvement in dystrophic mice using splice-switching tricyclo-DNA oligomers. *Med Sci (Paris)* 2005; Volume 31, Number 3.
- Kohler M, Clarenbach CF, Boni L, et al. Quality of life, physical disability, and respiratory impairment in Duchenne muscular dystrophy. *Am J Respir Crit Care Med* 2005 ; 172 : 1032-6.
- Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ, et al. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell* 1987 ; 50 : 509-17.
- Rendu J. Thérapie génique par saut d'exon: application à une Myopathie à Core et à un cas de syndrome OculoCérébro Rénale de Lowe. *Biotechnologies*. Université de Grenoble, 2014. Français. NNT: 2014GRENV014. tel-01555445.