

Puissants promoteurs spécifiques des cellules musculaires issus du gène codant l'isoforme lente de la troponine I

RÉSUMÉ

Les éléments génétiques régulant l'isoforme lente de la troponine I (TnIS) peuvent être modifiés de façon à produire de puissants promoteurs spécifiques des cellules musculaires pouvant servir à la production de protéines recombinantes dans les cellules musculaires squelettiques. Après leur production dans les cellules musculaires, ces protéines recombinantes peuvent être libérées dans le sang pour traiter des maladies causées par l'absence ou la présence insuffisante de certaines protéines, comme l'hémophilie, la glycogénose cardiaque, la maladie de Fabry, l'anémie, l'emphysème et l'hypercholestérolémie familiale. La TnIS modifiée peut également être utilisée pour traiter des maladies causées par la mutation d'un gène codant une protéine musculaire essentielle, comme dans le cas de la myopathie de Duchenne, des myopathies des ceintures et du syndrome de McArdle. La valeur du marché des technologies associées à la découverte de médicaments était estimée à 17 G\$US en 2005, et le taux de croissance annuel, à 17 %.

APPLICATIONS

- Expression d'une protéine thérapeutique dans des cellules musculaires pour le traitement des maladies décrites ci-dessus.
- Étude des propriétés de protéines recombinantes produites dans des cellules musculaires, par exemple, leur fonction, leur valeur thérapeutique, leurs effets indésirables.

CONCEPT

Le gène codant la TnIS, une protéine musculaire présente en quantités abondantes, contient une séquence stimulatrice de 160 pb en amont appelée USE ou SURE, qui confère une expression spécifique aux fibres musculaires à contraction lente. Si l'on retranche un segment de 100 pb à l'extrémité 5' de l'USE, la séquence stimulatrice résultante (Δ USE) demeure spécifique aux cellules musculaires, mais assure l'expression aussi bien dans les fibres musculaires à contraction lente que dans ceux à contraction rapide. Dans le but de développer des éléments régulateurs qui pourraient conférer une expression à la fois puissante et spécifique des cellules musculaires, une série de gènes hybrides contenant plusieurs copies de l'USE (p. ex. 3 copies chez USEx3) et de sa version tronquée, Δ USE, a été étudiée. La multimérisation de l'USE et de la Δ USE en amont du promoteur minimal du gène de la TnIS procure des constructions géniques efficaces et spécifiques des cellules musculaires, dont l'activité dans des cultures cellulaires est plus importante que celle de la puissante séquence stimulatrice/promotrice précoce du cytomégalovirus (voir Figure).

CARACTÉRISTIQUES ET AVANTAGES

Production accrue de protéines

L'utilisation d'un promoteur puissant réduit le nombre de vecteurs (thérapie génique) et la proportion de cellules musculaires nécessaires à l'obtention de quantités suffisantes de protéines en vue d'une utilisation thérapeutique.

Innocuité accrue

L'utilisation de promoteurs spécifiques des cellules musculaires peut

permettre de réduire la réponse immunitaire contre le produit du gène thérapeutique et de prolonger l'expression de la protéine.

Spécificité vis-à-vis des types de fibres musculaires

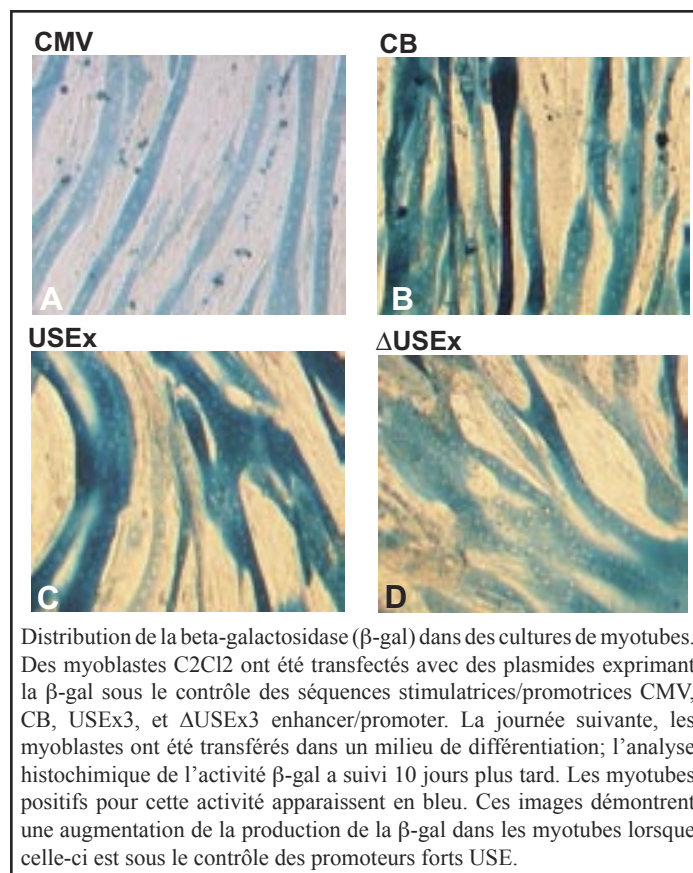
La plupart des promoteurs spécifiques des cellules musculaires sont actifs soit dans les fibres musculaires à contraction rapide, soit dans les fibres musculaires à contraction lente. Cependant, certains des promoteurs issus du gène codant la TnIS étaient actifs à la fois dans les fibres musculaires à contraction rapide et dans les fibres musculaires à contraction lente, tout en étant inactifs dans les cellules non musculaires.

Grande puissance et petite taille

Les nouveaux promoteurs spécifiques des cellules musculaires sont utiles au domaine de la thérapie génique en raison de leur petite taille et de leur puissance sans précédent.

PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

Constructions génétiques pour accroître l'expression de gènes dans les muscles (no CNRC 11887).



Distribution de la beta-galactosidase (β -gal) dans des cultures de myotubes. Des myoblastes C2C12 ont été transfectés avec des plasmides exprimant la β -gal sous le contrôle des séquences stimulatrices/promotrices CMV, CB, USEx3, et Δ USEx3 enhancer/promoter. La journée suivante, les myoblastes ont été transférés dans un milieu de différenciation; l'analyse histochemique de l'activité β -gal a suivi 10 jours plus tard. Les myotubes positifs pour cette activité apparaissent en bleu. Ces images démontrent une augmentation de la production de la β -gal dans les myotubes lorsque celle-ci est sous le contrôle des promoteurs forts USE.

CONTACTS

Yves Quenneville

Tél. : (514) 496-8507

Agent de développement des affaires

Courriel : yves.quenneville@cnrc-nrc.gc.ca

Daniel Desmarceaux

Tél. : (514) 496-5300

Agent de développement des affaires

Courriel : daniel.desmarceaux@cnrc-nrc.gc.ca

D^r Bernard Massie

Tél. : (514) 496-6131

Chef de groupe, Vecteurs de génomique et de thérapie génique

Courriel : bernard.massie@cnrc-nrc.gc.ca