



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de L'enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université Constantine 1  
Frères Mentouri  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de : Microiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

# La thérapie par ARN interférence

---

Présenté par : BENALILECHE Ouissam  
MOUNES Kenza

Le : 12/06/2024

Jury d'évaluation :

**Président :** Pr. Alatou Radia (Professeur, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** Dr. Arabet Dallel (MCA, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examineur :** Dr. Derabli Bisma (MCB, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire  
2023 - 2024

## *Remerciements*

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute nos reconnaissances à notre encadrante, *Mme. ARABET Dallel*, pour sa patience, sa disponibilité, son aide précieuse et ses conseils grâce auxquels nous sommes arrivées à réaliser ce mémoire.

Nos vifs remerciements s'adressent à *Mme. Alatou Radia et Mme. Derabli Besma* d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professionnels et les enseignants qui nous ont guidées par leurs enseignements, expériences, conseils et leurs critiques et grâce à qui nous avons acquis les compétences pour mener à bien ce mémoire.

Nos remerciements à nos chers amis qui nous ont apporté la bonne humeur, leur soutien moral et intellectuel tout au long de notre démarche. Merci pour les beaux souvenirs qui restent gravés dans nos esprits. Nous vous souhaitons beaucoup de succès, de réussite et de bonheur.

Enfin, nous tenons à témoigner toute notre gratitude à nos chers parents pour leur confiance, leur amour véritable et leur soutien inestimable.

À toute personne qui, de près ou de loin, a contribué à la réalisation de notre travail.

## Résumé

Notre mémoire se consacre à une exploration approfondie de l'ARN interférent (ARNi), mettant en lumière ses mécanismes d'action et ses applications variées, avec un accent particulier sur son potentiel révolutionnaire en thérapie. L'objectif essentiel de cette recherche est de comprendre le rôle crucial de l'ARN interférence, qui est un mécanisme de défense cellulaire naturel pour la régulation de l'expression génique, en tant que mécanisme d'inhibition post-transcriptionnel. Ces ARN interférents sont des molécules d'ARN double brin qui interfèrent avec l'ARN messenger cible pour inhiber la traduction de gènes spécifiques. La découverte de ce mécanisme en 1998 a révolutionné le monde de la génétique, de la biologie cellulaire et de la médecine. Les applications thérapeutiques de l'ARNi sont vastes et prometteuses. Elles sont particulièrement pertinentes dans le traitement des maladies génétiques et d'infections virales., L'ARNi a également prouvé son efficacité dans la modulation de la prolifération des cellules cancéreuses et dans la suppression de la réplication virale comme dans le cas de l'hépatite B. Ainsi, divers essais cliniques ont été menés pour évaluer l'efficacité et la sécurité des thérapies basées sur l'ARNi et ont démontré une diminution significative des taux de protéines pathologiques et amélioré les symptômes cliniques des patients. Ces résultats ouvrent la porte vers de nouvelles perspectives pour l'utilisation de l'ARN interférence dans la médecine et pour traiter des maladies qui sont jusqu'à présent difficiles à soigner.

**Mots clés :** interférence ARN, ARN double brin, ARN si, régulation de l'expression des gènes, inhibition post-transcriptionnelle, essai clinique.

## Abstract

Our study is based on the exploration of interfering RNA (RNAi), explaining its molecular mechanisms and citing its various applications, with particular accent on its revolutionary potential in therapy. The principal aim of this research is to understand the crucial role of RNA interference, which is a natural cellular defence mechanism for regulating gene expression, as a post-transcriptional inhibition mechanism. Interfering RNAs are *double-stranded RNA* molecules that interfere with the target messenger RNA to inhibit specific gene translation. The discovery of this mechanism in 1998 revolutionised the world of genetics, cell biology and medicine. The therapeutic applications of RNAi are vast and promising. It is particularly useful in the treatment of genetic diseases and viral infections. RNAi has been shown to be effective in modulating the proliferation of tumoral cells and in suppressing viral replication. Like in the case of hepatitis B. Thus, various clinical trials have been performed to test the efficacy and safety of RNAi-based therapies and have demonstrated a significant reduction in pathological protein levels and improved clinical symptoms in patients. These results open the door to new perspectives for the use of RNA interference (RNAi) in medicine and in the treatment of diseases that are often difficult to treat.

**Key words:** RNA interference, double-stranded RNA, siRNA, regulation of gene expression, post-transcriptional inhibition, clinical trial.

## المخلص

أطروحتنا مخصصة لاستكشاف متعمق للحمض النووي الريبي المتداخل، مع تسليط الضوء على آليات عمله وتطبيقاته المتنوعة، مع التركيز بشكل خاص على إمكاناته المبتكرة في العلاج. يتمثل الهدف الأساسي من هذا البحث في فهم الدور الحاسم لتداخل الحمض النووي الريبي، وهو آلية دفاع خلوية طبيعية لتنظيم التعبير الجيني، كآلية تثبيط ما بعد النسخ. وهذه الأحماض النووية الريبية المتداخلة هي جزيئات الحمض النووي الريبي ثنائي السلسلة التي تتداخل مع الحمض النووي الريبي الرسول المستهدف لتثبيط ترجمة جينات محددة. أحدث اكتشاف هذه الآلية في عام 1998 ثورة في عالم علم الوراثة وبيولوجيا الخلية والطب. والتطبيقات العلاجية للحمض النووي الريبي المتداخل واسعة وواعدة. فهي ذات أهمية خاصة في علاج الأمراض الوراثية والعدوى الفيروسية. فقد ثبتت فعالية تقنية تداخل الحمض النووي الريبي في تعديل تكاثر الخلايا السرطانية وفي كبح التكاثر الفيروسي، مثل التهاب الكبد. وقد أجريت العديد من التجارب السريرية لتقييم فعالية وسلامة العلاجات القائمة على الحمض النووي الريبي وأثبتت انخفاضاً كبيراً في مستويات البروتين المرضي وتحسن الأعراض السريرية لدى المرضى. وتفتح هذه النتائج الباب أمام آفاق جديدة للاستخدام في الطب وعلاج الأمراض التي كان من الصعب علاجها.

**الكلمات المفتاحية:** تداخل الحمض النووي الريبي، الحمض النووي الريبي مزدوج السلسلة، الحمض النووي الريبي قصير التداخل، تنظيم التعبير الجيني، تثبيط ما بعد النسخ، التجارب السريرية.

<b>Symbole</b>	<b>Désignation</b>
<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique.
<b>ADNc = cDNA</b>	ADN complémentaire = <i>Complementary DNA</i> .
<b>ARN = RNA</b>	Acide RiboNucléique = <i>RiboNucleic Acid</i> .
<b>ARNi</b>	ARN interférence.
<b>ARNmi = miRNA</b>	Micro-ARN = <i>micro RNA</i> .
<b>ARNpi = piRNA</b>	ARN piwi-interagissant = <i>Piwi-interacting RNA</i> .
<b>ARNsi = siRNA</b>	Petit ARN interférent = <i>Small Interfering RNA</i> .
<b>ARNdb = dsRNA</b>	ARN double brin = <i>double-stranded RNA</i> .
<b>ARNm</b>	ARN messenger.
<b>ARNr</b>	ARN ribosomique.
<b>ARNsn</b>	<i>ARN small Nuclear</i> = petit ARN nucléaire.
<b>ARNsno</b>	Petit ARN nucléolaire.
<b>ARNt</b>	ARN de transfert.
<b>BLT-HCV</b>	<i>Block Lipid Transport-Hepatitis C Virus</i> .
<b>CCR4-NOT</b>	<i>Carbon Catabolite repression 4- Negative On TATA-less</i>
<b>CHS</b>	Chalcone Synthase.
<b>DCP2</b>	<i>Decapping mRNA2</i> .
<b>DPPC</b>	<i>Dipalmitoyl phosphatidylcholine</i> .
<b>DLin-DMA</b>	<i>1,2-Dilinoleyloxy-N,N-dimethyl-3-aminopropane</i> .
<b>DGCR8</b>	<i>DiGeorge Critical Region 8</i> .
<b>DsRBD1 et dsRBD2</b>	<i>Double-stranded RNA binding domain</i> .

<b>ELF4G</b>	<i>Eukaryotic translation initiation factor 4G.</i>
<b>EPFL</b>	Ecole polytechnique Fédérale de Lausanne.
<b>GW182</b>	<i>Glycine-tryptophan of 182 KDa.</i>
<b>HTT</b>	gène de Huntingtin.
<b>IRM</b>	Imagerie par Résonance Magnétique.
<b>KSP</b>	<i>kinesin spindle protein.</i>
<b>LDL-C</b>	<i>Low-Density Lipoprotein Cholesterol.</i>
<b>mPEG</b>	Méthoxy-polyéthylène glycol.
<b>NAH</b>	Neuropathie amyloïde héréditaire.
<b>NPL</b>	Nanoparticules lipidiques.
<b>PABP</b>	<i>PolyAdenylate Binding Protein.</i>
<b>PAZ</b>	<i>PIWI Argonaute Zwillle.</i>
<b>PEG</b>	Polyéthylène glycol.
<b>PIWI</b>	<i>P-element Induced Wimpy testis.</i>
<b>PKN3</b>	Protéine kinase N3.
<b>PLK1</b>	<i>Polo-like kinase 1.</i>
<b>pre-miRNA</b>	<i>Precursor micro RNA.</i>
<b>Pri-miRNA</b>	<i>Primary-microRNA.</i>
<b>RACE</b>	<i>Rapid amplification of cDNA Ends.</i>
<b>RISC</b>	<i>RNA Induced Silencing Complex.</i>
<b>RLC</b>	<i>RNA Loading Complex.</i>
<b>RRM2</b>	<i>Ribonucleotide Reductase M2.</i>

<b>SNAPL</b>	Nanoparticule lipidique stable.
<b>SLA</b>	Sclérose latérale amyotrophique.
<b>SDO1</b>	Superoxyde dismutase.
<b>TNRC6C</b>	<i>Trinucleotide repeat containing adaptor 6C.</i>
<b>TRBP</b>	<i>Trans – activation response RNA binding protein.</i>
<b>TTR</b>	Transthyréline.
<b>VEGFA</b>	<i>Vascular Endothelial Growth Factor A.</i>
<b>VHB</b>	Virus de l'hépatite B.
<b>VHC</b>	Virus de l'hépatite C.
<b>VIH</b>	Virus de l'Immunodéficience Humaine.
<b>XRN1</b>	5'-3'Exoribonuclease 1.



<b>N° de figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Les types d'ARN.	4
<b>Figure 2</b>	Le décodage de l'information génétique dans une cellule eucaryote.	6
<b>Figure 3</b>	Résultats des expériences de Jorgensen.	9
<b>Figure 4</b>	La voie des siRNA.	10
<b>Figure 5</b>	Structure de DICER.	11
<b>Figure 6</b>	Organisation des gènes codant la TRBP.	11
<b>Figure 7</b>	Structure des protéines Argonaute chez l'Homme.	12
<b>Figure 8</b>	Synthèse et mode d'action des miRNA.	15
<b>Figure 9</b>	Mécanisme de livraison des ARNi aux hépatocytes et suppression de la protéine TTR médiée par les ARNi.	19
<b>Figure 10</b>	Structure et composition du lipoplexe Atu027.	24
<b>Figure 11</b>	Concentration plasmique en siRNA anti-PKN3.	25
<b>Figure 12</b>	Expression de différentes protéines solubles avant et après injection d'Atu027.	25
<b>Figure 13</b>	La structure de TKM-08030.	26
<b>Figure 14</b>	IRM qui montre une diminution de la taille de la tumeur neuroendocrinienne avant et après injection de TKM-080301.	27
<b>Figure 15</b>	5'RACE qui montre une fragmentation de l'ARNm de PLK1.	28
<b>Figure 16</b>	Structure et composition de CALAA-01.	29
<b>Figure 17</b>	Expression de l'ARNm de RRM2 pré et post-traitement par CALAA-01.	30
<b>Figure 18</b>	5'RACE montrant le clivage de l'ARNm de RRM2.	30
<b>Figure 19</b>	Structure et Composition d'ALN-VSP.	31

**Figure 20** : IRM montrant la régression des métastases hépatiques après 12 et 40 doses d'ALN-VSP à 0.7mg de siRNA/kg. 32

**Figure 21** :5'RACE montrant le clivage de l'ARNm de VEGFA. 33

N° de tableau	Titre	Page
---------------	-------	------

---

**Tableau 1** : Principaux essais cliniques utilisant des siRNA pour le traitement du cancer. 23

**Résumé****Abstract****ملخص**

<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>i</b>
<b>Liste des figures.....</b>	<b>ii</b>
<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>iii</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>

**Chapitre 01 : Généralités sur l'ARN**

1. Définition.....	3
2. La composition.....	3
3. La structure de l'ARN .....	3
4. Les types d'ARN.....	4
4.1. L'ARN codants (ARNm) .....	5
4.2. L'ARN non codants.....	6
a. L'ARNt .....	6
b. L'ARNr.....	6
c. ARNsn.....	7
d. ARNsno.....	7
e. ARNmi.....	7
f. ARNpi.....	7
j. ARNsi.....	7

**Chapitre 02 : ARNi et interférence**

1. Historique.....	8
2. Définition.....	9
3. Les précurseurs de l'ARNi.....	9
3.1. siRNA.....	9
3.1.1. La voie du siRNA.....	10
a. La formation des ARNdb.....	10
b. Complexe DICER-TRBP.....	11
c. Fragmentation des ARNdb en siRNA .....	12

d. RNA Loading Complex (RLC).....	12
e. RNA Induced Silencing Complex (RISC).....	12
3.2. miRNA.....	13
3.2.1. Biosynthèse.....	13
3.2.2. Mode d'action.....	14
3.3. piRNA.....	15
4. Mode d'action de l'ARNi.....	16

### **Chapitre 03 : Applications médicales de l'ARNi**

1. Interférence ARN par thérapie génique.....	17
2. Utilisation de l'ARN interférence dans le traitement de l'amylose héréditaire due à une mutation de la transthyrétine.....	17
3. Utilisation de l'ARN interférence dans le traitement de cancers.....	20
4. Utilisation de l'ARN interférence dans le traitement des maladies virales.....	20
5. Autres maladies.....	21

### **Chapitre 04 : Les essais cliniques**

1. Principaux essais cliniques pour le traitement de cancer.....	23
1.1. Atu027.....	24
1.2. TKM-PLK1 (ou TKM-080301).....	26
1.3. CALAA-01.....	28
1.4. ALN-VSP.....	31
2. principaux essais cliniques pour le traitement de certaines maladies virales.....	33
2.1 NucB-1000.....	33
2.2 Hépatite C.....	33
<b>Conclusion .....</b>	<b>35</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>36</b>

# **Introduction**

Des maladies humaines comme les maladies virales, les cancers, ainsi que les maladies héréditaires et rares, présentent de grands obstacles à la médecine moderne. Actuellement, les traitements disponibles sont principalement composés de molécules ciblant des protéines, des lipides ou des sucres impliqués dans la manifestation de la maladie. Cependant, ces traitements ne sont pas très spécifiques et leur développement est long et incertain. De nos jours, les thérapies géniques sont encore peu avancées. Il y a dix ans, il semblait presque impossible de modifier les gènes sans des manipulations génétiques complexes. De plus, ces techniques étaient réservées aux cellules souches embryonnaires, ce qui les rendait inapplicables à la médecine courante (**Husson, 2011**).

En 2006, Andrew Fire et Craig Mello ont reçu le Prix Nobel de Physiologie et de Médecine pour avoir découvert le mécanisme d'ARNi. Depuis 1998, cette découverte a suscité un grand intérêt chez les scientifiques. L'interférence ARN (ARNi) a révolutionné notre compréhension de la régulation cellulaire et des thérapies futures. Ce processus, bien que très ancien et commun chez les eucaryotes, agit comme un système de défense du génome contre les infections virales.

Grâce à l'induction d'ARN double brin (dsRNA) dans les cellules, on peut utiliser l'ARNi pour inhiber l'expression des gènes après la transcription (**Creusat, 2009**). Contrairement à certaines thérapies géniques, l'ARNi peut fonctionner chez un organisme vivant sans modifier son génome. Cela signifie que la thérapie par interférence ne provoque pas de mutations dans le génome de l'individu traité mais seulement une modification de l'activité de certains gènes. Ce mécanisme utilise de petits ARN interférents double brin, comme les siRNA, qui se lient à un complexe enzymatique intracellulaire pour dégrader l'ARN messager cible (**Rosbach, 2010**).

L'utilisation de l'ARNi est une excellente façon de créer de nouveaux traitements, comme pour le cancer ou les virus. Ce processus, naturellement présent dans notre corps, est super efficace pour bloquer l'activation de certains gènes, bien plus que d'autres méthodes comme les vaccins ou les molécules antigènes. Pour que l'ARNi fonctionne dans nos cellules, on peut utiliser des sortes de véhicules qui transportent des brins d'ARN (les vecteurs plasmidiques), ou alors utiliser directement des brins d'ARN. Le premier moyen ressemble un peu à la thérapie génique, avec des risques comme l'introduction d'ADN dans le noyau des cellules. La deuxième façon est souvent préférée, car les petits ARN ne doivent agir qu'à l'intérieur du cytoplasme des cellules sans avoir besoin d'aller jusqu'au noyau (**Creusat, 2009**).

Les recherches scientifiques sur le mécanisme d'ARNi ont conduit au développement de traitements testés sur des humains dans des études cliniques (**Creusat, 2009**). Ce mémoire vise à expliquer en détail comment fonctionne l'ARNi et de récapituler le déroulement des différents tests cliniques qui ont eu lieu et leurs taux de réussite respectifs.

Dans notre démarche, nous avons entretenu une synthèse bibliographique qui comprend quatre chapitres. Le premier chapitre de ce manuscrit présente les généralités sur les ARN. Le second expose le mécanisme cellulaire de l'ARNi et présente une vue d'ensemble des divers types d'ARN interférents identifiés jusqu'à présent. L'avant dernier chapitre explore les diverses applications médicales du mécanisme de l'ARN interférence. Enfin, le dernier chapitre de ce manuscrit passe en revue les principaux essais cliniques déjà fait ou actuellement en cours pour bloquer spécifiquement certains gènes en utilisant le processus de l'ARN interférence.

Le manuscrit finit par une conclusion, dans laquelle nous récapitulons les principales idées ressorties de notre travail et nous proposons des perspectives d'applications futures.



**Chapitre 1**  
**Généralités**  
**sur les ARN**

## 1. Définition

L'ARN abréviation d'acide ribonucléique, est une molécule essentielle à la vie et joue de nombreuses fonctions dans la cellule.

L'ARN est une copie d'une région de l'un des deux brins de l'ADN et constitué d'une chaîne de nucléotides (sous forme simple brin) plus ou moins longues (**Blanchet, 2020; Fontaine et al., 2013**).

## 2. La composition

L'élément constitutif de l'ARN c'est les nucléotides, chaque nucléotide est composé de trois éléments fondamentaux : (**Fontaine et al., 2013; Nabiha & Ali, 2021**)

- Un sucre a une composition différente selon le type d'acide nucléique (le ribose pour l'ARN).
- Un groupe phosphate qui a une composition constante pour tous les acides nucléiques.
- Et quatre bases azotées différentes : l'adénine (A), la cytosine (C), la guanine (G) et l'uracile (U) qui donnent quatre types de nucléotides. Ces bases azotées se divisent en deux groupes : les purines composées d'adénine + guanine et les pyrimidines composées de cytosine + uracile.

L'alternance du groupe phosphate et des sucres forme le squelette des acides nucléiques (ARN) auquel se lient les bases azotées. Cette molécule formée est appelée brin et possède deux extrémités différentes 5' phosphate et 3' OH en raison de la géométrie de sucre (**Fontaine et al., 2013**).

La base azotée se lie avec le sucre (ribose) par une liaison covalente spécifique appelée la liaison N-glycosidique et forme un nucléoside.

## 3. La structure de l'ARN

L'ARN est généralement simple brin sauf chez certains organismes comme les rétrovirus. Dans ce cas, il est plus flexible ce qui permet de se replier sur lui-même et de permettre l'appariement des bases qui le constituent. Ces appariements se font de manière adjacente pour former des tiges et les régions non appariées forment alors des boucles (**Fontaine et al., 2013**).

- La structure primaire c'est la séquence simple orientée de 5' phosphate vers 3' OH.
- La structure secondaire consiste à des appariements directs entre les bases créant des tiges alignées ou juxtaposées.
- La structure tertiaire englobe tous les appariements en plus des appariements de la structure secondaire.
- La structure spatiale fait référence à la manière dont la molécule est arrangée dans l'espace.

La stabilité d'une molécule d'ARN est évaluée à partir de son énergie libre, autrement dit, une structure est considérée comme plus stable lorsque son énergie libre est plus faible. Les tiges renforcent une structure alors que les boucles la fragilisent (Fontaine et al., 2013).

#### 4. Les types d'ARN

L'ARN est un acide ribonucléique divisé en deux types (figure 1) :

- L'ARN codant (messenger)
- L'ARN non codant

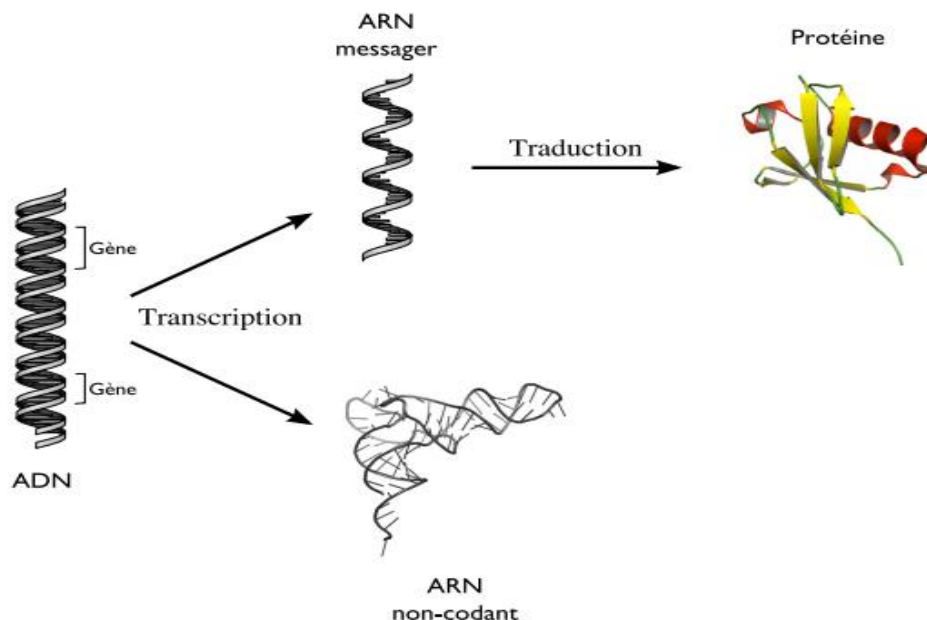


Figure 1 : Les types d'ARN (Fontaine et al., 2013).

#### 4.1 L'ARN codant (ARNm)

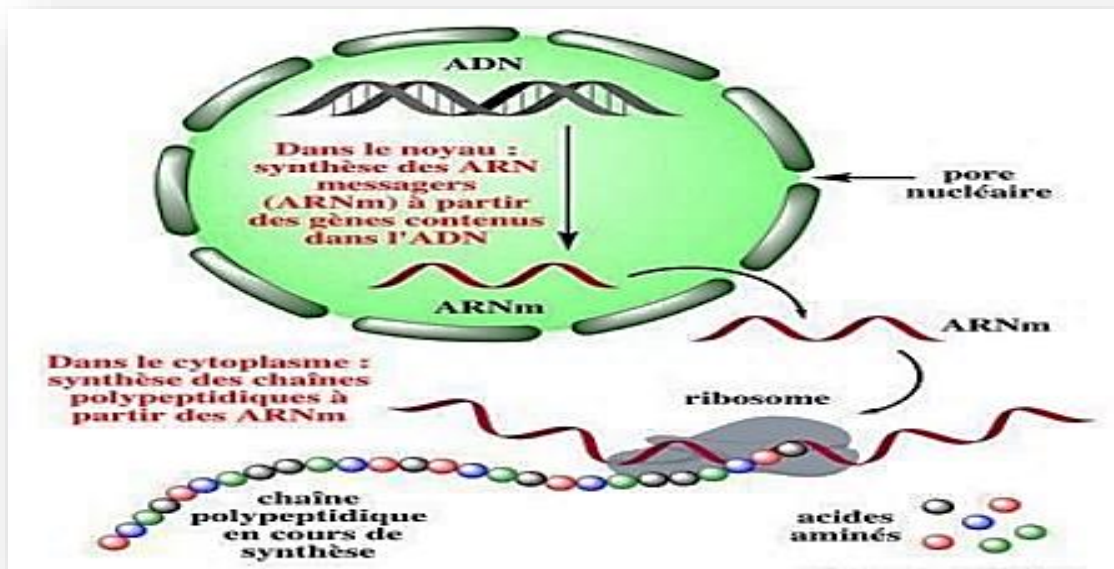
L'ARNm ou l'ARN messager est un acide nucléique simple brin contrairement à l'ADN qui est double brin. L'ARNm est une copie d'une portion de l'ADN ;le gène (**Blanchet, 2020**).

La transcription c'est la première étape du découpage de l'information génétique (figure2), qui consiste à copier l'information de courts segments du génome (gènes) en fragments d'acide ribonucléique messager (ARNm). Ces fragments sont similaires à l'ADN mais comporte un atome d'oxygène supplémentaire sur chaque nucléotide de l'ARN parce que le ribose remplace le désoxyribose ce qui confère une grande flexibilité à la molécule d'ARN par rapport à celles de l'ADN (**Monestier, 2017**).

Ce processus se réalise en trois phases : l'initiation, l'élongation et la terminaison. Durant l'étape d'initiation de la transcription, l'ARN polymérase se fixe sur un endroit spécifique de l'ADN qui est le promoteur (région située en amont du gène à transcrire). Cette liaison permet d'ouvrir le double brin d'ADN et aussi l'insertion des ribonucléotides pour synthétiser le brin d'ARN. Ensuite l'élongation de la transcription permet l'ajout des nucléotides de manière complémentaire grâce à l'action de l'ARN polymérase qui avance sur le brin de l'ADN codant de l'extrémité 3' vers l'extrémité 5'. Enfin la terminaison de la transcription se fait grâce à des séquences signales variables d'une espèce à l'autre (**Fontaine et al., 2013**).

Chez les eucaryotes, l'ARNm comporte des régions codantes appelées exons et des régions non codantes appelées introns. Ces ARNm nouvellement transcrit sont des ARNm primaires qui doivent subir une maturation. Cette dernière passe par trois étapes : l'addition d'une coiffe au niveau de l'extrémité 5', l'addition d'une queue poly A en 3' et l'épissage qui permet l'élimination des régions non codantes (les introns) et la liaison des régions codantes (les exons) (**Fontaine et al., 2013; Monestier, 2017**).

La deuxième étape du décodage de l'information génétique consiste à traduire les ARNm matures en protéines (figure 2). Ce processus permet de passer à partir d'un code à quatre lettres (quatre bases) vers un code à vingt lettres correspondant aux acides aminés constitutifs des protéines (**Monestier, 2017**).



**Figure 2: Le décodage de l'information génétique dans une cellule eucaryote (Nabiha & Ali, 2021).**

## 4.2 L'ARN non codant

### a. ARNt

Acide ribonucléique de transfert, transporteur de petite dimension, contient 70 à 90 nucléotides. Il intervient lors de la synthèse des protéines, en joignant les acides aminés aux ribosomes. Il contient un triplet (codon) de l'ARN messager et un triplet de bases complémentaires (anticodon), ainsi, chaque acide aminé possède l'ARNt qui lui correspond (**Blanchet, 2020**). À partir d'une séquence complémentaire d'ADN les ARNt sont synthétisés par l'action d'une ARN polymérase III (**Blanchet, 2020**).

### b. ARNr

Les ARN ribosomiques, sont définis comme étant des acides ribonucléiques monobrin qui peuvent contenir des régions hélicoïdales résultant de l'union de bases complémentaires. Les ARNr sont les principaux composants des ribosomes. Ils sont présents aussi bien chez les eucaryotes que chez procaryotes. On trouve quatre ARN ribosomiques chez les eucaryotes : ARN18S qui est présent dans la petite sous unité du ribosome et les ARN5,8S ; ARN28S et l'ARN5S qui sont présents dans la grande sous unité du ribosome. Chez les procaryotes, le gène codant l'ARNr 16S est l'un des gènes les plus conservés au niveau de l'espèce. Il rentre dans

la composition de la petite sous-unité du ribosome. Ces molécules sont nécessaires pour la production des protéines (**Blanchet, 2020**).

#### c. ARNsn

Est un petit ARN nucléaire non codants, présent dans le noyau des cellules eucaryotes. Composé de 60 à 450 nucléotides, cet ARNsn aide à l'épissage des ARN messagers (**Blanchet, 2020**).

#### d. ARNsno

Petits ARN nucléolaires, sont des ARN trouvés dans le nucléole des cellules eucaryotes et qui permettent la maturation des ARNr (**Blanchet, 2020**).

#### e. ARN mi

Nommé les micro-ARN. Petits acides ribonucléiques simples brin, non codants, de 22 nucléotides en moyenne. Ils jouent le rôle de régulateurs post-transcriptionnels capables de stopper l'expression d'un gène (**Blanchet, 2020**).

#### f. ARN pi

Sont définis comme des courts ARN présents dans les cellules germinales et l'embryon précoce chez les animaux et sont connus comme des ARN interagissant avec la molécule PIWI pour (*P-element Induced Wimpy testis in Drosophila*) (**Blanchet, 2020**).

PIWI est définie comme une protéine de la famille « ARGONAUTE / PIWI », protéine de liaison à l'ARN régulateur nucléaire. Cette famille de protéines joue un rôle primordial dans la différenciation des cellules germinales et souches (**Han et al., 2017**).

#### j. ARN si

ARN simple brin connu sous le nom de petit ARN interférent. Il contient de 21 à 25 nucléotides et peut bloquer l'expression des gènes cibles en orientant le clivage de leurs ARN messagers complémentaires. Il peut aussi induire une modification de la conformation de la chromatine qui entoure le gène cible et entraîner l'arrêt de sa transcription (**Blanchet, 2020**). Dans notre travail, on va s'intéresser particulièrement aux ARN si, à leurs mécanismes d'action et leur potentielles utilisations dans les différents domaines et notamment la thérapie.

**Chapitre 2**

**ARNi et**

**interférence**

## 1. Historique

Les premières découvertes concernant l'ARNi ont été faites par des botanistes au cours de l'étude des mécanismes moléculaires de coloration de la fleur de pétunia. En 1990, le chercheur Jorgensen essaie d'augmenter la coloration violette de ces fleurs en introduisant des copies du gène de la chalcone synthase (CHS), responsable de la coloration des fleurs dans le génome de la plante. Il obtient des fleurs soit totalement blanches, soit décolorées, soit blanches avec des taches violettes (figure 3). L'ARNm codant pour la CHS avait provoqué chez la plante hôte un phénomène de « Co-suppression » qui consiste à rendre silencieux non seulement l'ADN injecté mais aussi l'ADN endogène codant pour la CHS (**Napoli et al., 1990**).

Plus tard, grâce aux études du groupe d'Andrew Fire, en 1998, chez le nématode *Caenorhabditis elegans*, ce phénomène a été observé dans le règne animal (**Cogoni & Macino, 2000; Fire et al., 1998**). Chez les plantes, ce processus d'annulation de l'expression d'un gène par l'introduction d'ARN homologue est appelé *Post Transcriptional Gene Silencing* et interférence ARN chez les animaux. Le même groupe découvre également que la fonction d'un gène endogène pouvait chevaucher avec l'ARN quand il entre dans les cellules ce qui provoquerait la diminution de l'expression des protéines en question.

D'après Tuschl en 2001, l'ajout de petits ARN double brin (ARNdb) de séquence homologue à celle d'un ARN endogène dans les cellules mammifères conduit à la dégradation de ces séquences. Lors du processus d'ARNi, les grands ARNdb sont clivés en oligoribonucléotides qui sont d'une taille d'une vingtaine de nucléotides. Ils sont surnommé *Small Interfering RNA* (siRNA ou ARNsi). L'arrêt de l'expression d'un gène par des ARNdb est un mécanisme qui a lieu chez les mammifères, les plantes et les eucaryotes (**Kennerdell & Carthew, 2000**).





(a)

(b)

(b)

**Figure 3: Résultats des expériences de Jorgensen (a) phénotype de la plante sauvage (b et c) phénotype des plantes transgéniques obtenues après l'internalisation du gène CHS (Bas, 2016).**

## 2. Définition

L'ARN interférence (ARNi) est un mécanisme de régulation de l'expression des gènes par inhibition du processus post-transcriptionnel. Cette inhibition est réalisée par l'introduction d'ARNdb dans la cellule (Bas, 2016).

Environ 70 % du génome humain est transcrit en ARN non codant qui joue un rôle important dans la régulation de plus de 60 % des gènes. Trois méthodes sont utilisées dans le mécanisme de l'ARN interférence : les *short interfering RNA* (siRNA), les micro RNA (miRNA) et les *piwi interacting RNA* (piRNA). L'ARN interférence (ARNi) est impliquée dans plusieurs processus de développement, de régulation du métabolisme et de la prolifération (Hamelin, 2017).

## 3. Les précurseurs de l'ARNi

### 3.1 siRNA

Les siRNA sont des ARNdb de petites tailles soit endogènes ou exogènes. Les siRNA endogènes ont été décrits la première fois chez *Caenorhabditis elegans* et chez certaines plantes. Les siRNA sont les produits finaux d'enzyme ARN polymérase ARN dépendante qui catalyse la formation de longs ARNdb au sein du noyau (les endos siRNA). Le rôle des siRNA a été mentionné pour la première fois chez les plantes comme mécanisme de défense contre les virus ou une réponse à un stress (Hamelin, 2017).

Chez les mammifères, l'ARN polymérase ARN dépendante est absente et pour cela, l'hypothèse de la présence d'endo siRNA était refusé jusqu'à la découverte des séquences d'ARN endogènes répétées et qui ont la capacité de se déplacer (les rétrotransposons). Un ARN bidirectionnel est synthétisé par les rétrotransposons en utilisant un promoteur sens et antisens (Piatek & Werner, 2015).

Les siRNA peuvent être aussi d'origine exogène synthétisés par des ARN poly ARN dépendant lors d'une infection virale ou d'une introduction expérimentale ou thérapeutiques (Hamelin, 2017).

### 3.1.1 La voie du siRNA

**a. Formation des ARNdb :** Les ARN précurseurs des siRNA sont appariés de manière complémentaire qu'ils soient endogènes ou exogènes. Ces ARNdb sont reconnues par le complexe DICER-TRBP (*Trans-activation response ARN binding protein*) dans le cytoplasme et fragmentés en petits ARNdb de 19 à 22 nucléotides (siRNA) ayant une extrémité 3'OH et une extrémité 5' phosphate ainsi que deux nucléotides non appariés. (figure 4) (Costa et al., 2012a).

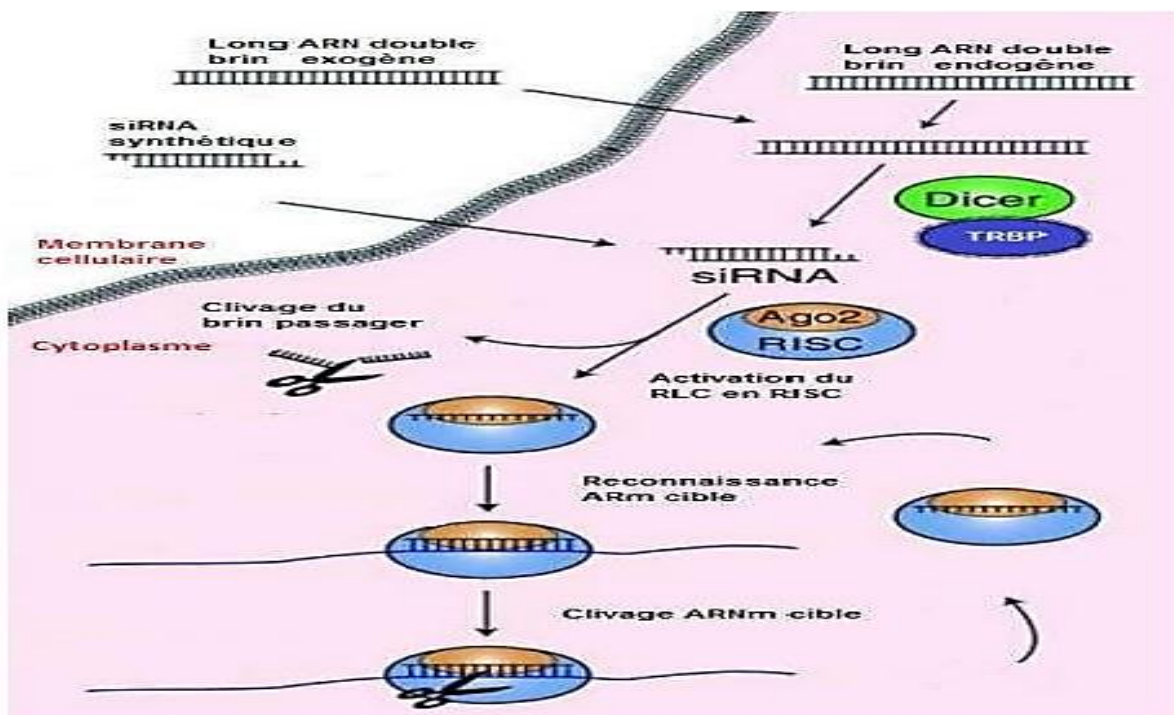


Figure 4: la voie des siRNA (Hamelin, 2017)

### b. Complexe DICER-TRBP

DICER est une enzyme de type RNase III retrouvée chez tous les eucaryotes (Costa et al., 2012a) (figure 5). Elle a été identifiée la première fois pour cliver les ARNdb en siRNA (ARN interférent) (Connerty et al., 2016). Elle se compose de quatre domaines : un domaine PAZ (PIWI Argonaute Zwiile), deux domaines catalytique RNase III a et RNase III b, deux domaines hélicases/ATPase situés dans la région N-terminal et deux domaines de *dsRNA* (pour se lier à un ARNdb).

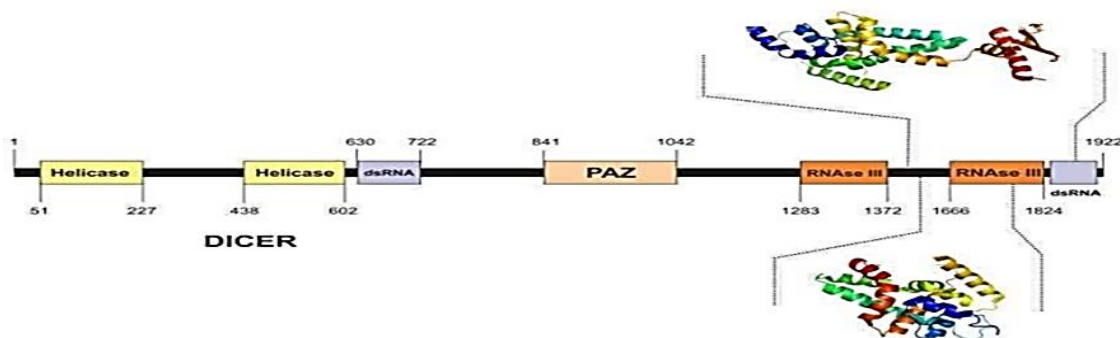


Figure 5 : Structure de DICER (Costa et al., 2012a).

TRBP (*Trans – activation response RNA binding protein*) (figure 6) est une protéine qui s'attache à l'ARNdb elle se compose de : deux domaines nommés dsRBD1 et dsRBD2 (*double-stranded RNA binding domain*) et un domaine de liaison à DICER au niveau de son domaine hélicase/ATPase (Connerty et al., 2016).

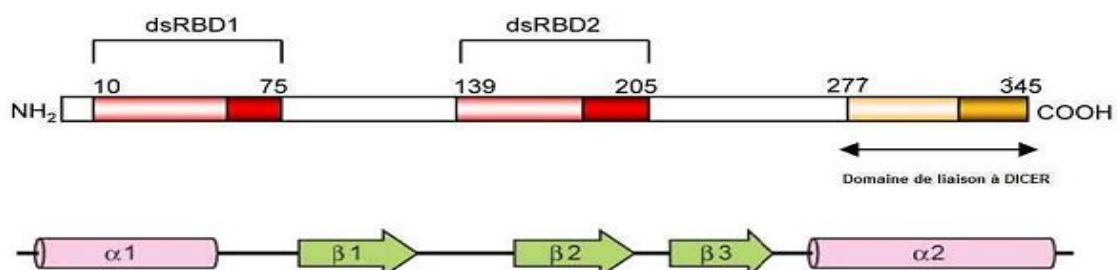


Figure 6 : Organisation des gènes codant la TRBP (Daniels & Gatignol, 2012).

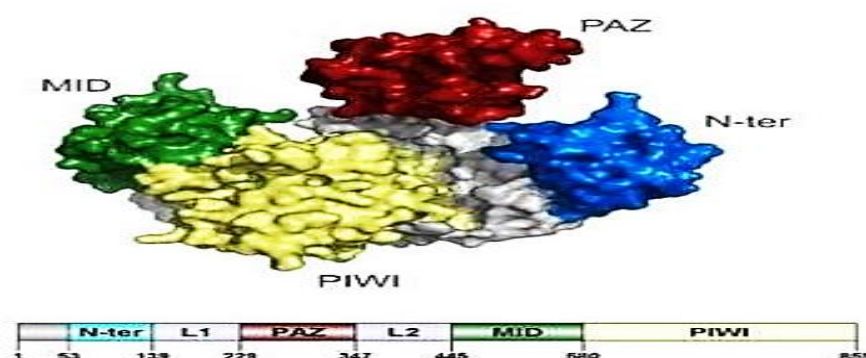
Ainsi, la fonction de TRBP est la reconnaissance et la fixation spécifique des siRNA et miRNA pour assurer leur prise en charge par DICER (Daniels & Gatignol, 2012).

**c. Fragmentation des ARNdb en siRNA :** Les deux domaines RNase III a et RNase III b de DICER contiennent deux sites actifs permettant la fragmentation des précurseurs des siRNA en siRNA double brin (Jinek & Doudna, 2009).

**d. RNA Loading Complex (RLC) :** Les siRNA restent attachés au complexe DICER – TRBP. Ce complexe est appelé RLC et reste inactif jusqu'à la dissociation des deux brins du siRNA, le brin guide (brin antisens du siRNA) reste lié à la protéine Argonaute et active le RLC en RISC (RNA Induced Silencing Complex) mais le brin passager (brin sens du siRNA) est dégradé (Hamelin, 2017).

**e. RNA Induced Silencing Complex (RISC)**

Le RISC est un complexe multiprotéique se fait par le recrutement d'une protéine argonaute via le complexe DICER-TRBP (Connerty et al., 2016). La protéine argonaute (figure 7) se compose : D'un domaine PAZ (se lie à l'extrémité 3'OH du brin antisens du siRNA), d'un domaine MID, d'un domaine PIWI (dirige le siRNA vers l'ARNm cible) et d'un domaine hélicase (permettant le déroulement des deux brins du siRNA dans le but de conserver le brin guide au sein du RISC) (Costa et al., 2012a).



**Figure 7 : Structure des protéines Argonaute chez l'Homme (Costa et al., 2012a).**

Chez l'homme, il y a quatre protéines Argonautes (Ago 1, Ago 2, Ago 3, Ago 4) qui sont utilisées dans le mécanisme d'interférence ARN mais la protéine Ago 2 est de type RNase

qui donne au RISC la capacité de cliver l'ARNm qui est complémentaire au brin guide de siRNA (Wilson & Doudna, 2013).

### 3.2 miRNA

Les ARNmi sont définis comme des petits ARN en grande quantité impliqués dans le control de l'expression génique. En 1993, Lee et Ambros ont caractérisé cette classe d'ARN lors de l'étude du gène *lin-14* impliqué dans l'évolution larvaire de *Caenorhabditis elegans* (Lee, 1993).

#### 3.2.1 Biosynthèse

La biosynthèse des miRNA se déroule en deux étapes de maturation dans le noyau et le cytoplasme (figure 8) (Treton, 2015 ; Connerty et al., 2016).

- Dans le noyau, un gène spécifique d'miRNA est transcrit par une ARN polymérase II.
- La transcription donne naissance au précurseur « *primary-microRNA* » (pri-miRNA) composé de plus de 1000 nucléotides.
- Une structure en épingles à cheveux est formée localement à partir de ces pri-miRNA en se repliant sur eux-mêmes.
- Les structures en épingles à cheveux sont reconnues et libérées par le « microprocesseur », un complexe protéique DROSHA-DGCR8, celui-ci possède deux protéines de liaison à l'ARN double brin (DGCR8) et une ribonucléase de type III (DROSHA)
- Ce complexe (DROSHA-DGCR8) clive les structures en épingles à cheveux et conduit à la formation des « *precursor micro RNA* » (pre-miRNA).
- Les pre-miRNA sont migrent du noyau vers le cytoplasme par l'exportine 5 à travers des pores nucléaires.
- Dans le cytoplasme, les pre-miRNA sont clivés par DICER en oligonucléotides double brin de 18 à 24 paires.
- Une hélicase sépare l'ARN double brin et l'un des deux brins devient le micro-ARN mature.
- Le micro-ARN mature est incorporé dans le complexe RISC.

- Le micro-ARN va se fixer par une complémentarité totale ou partielle à son ARNm cible à l'intérieur du complexe RISC pour faire sa décomposition d'ARNm ou l'inhibition de sa traduction.

### 3.2.2 Mode d'action

Plusieurs régions des ARNm réglés peuvent être ciblées par le brin guide du miARN quand il est chargé sur le RISC. Contrairement aux siRNA, les miARN s'accouplent de manière incomplète avec l'ARNm cible, pourtant la complémentarité entre la séquence correspondante de l'ARNm cible et la région localisée du 2ème au 8ème nucléotide sur le miARN (*seed sequence*) est obligatoire pour acquérir une dégradation de cet ARNm et une répression de la traduction (**Hamelin, 2017**).

Un recrutement d'une protéine de la famille GW182 (*Glycine-tryptophan of 182 KDa*) appelée TNRC6C (*Trinucleotide repeat containing adaptor 6C*) produit une inhibition de la traduction selon les étapes suivantes : (**Connerty et al., 2016; Makarova et al., 2016**)

- TNRC6C s'associe au domaine PIWI de la protéine argonaute du miRISC (*micro-RNA Induced Silencing Complex*).
- Cet ensemble (TNRC6C-PIWI) migre vers une région du cytoplasme impliquée dans le turn-over des ARNm appelée : PBODIES.
- Le TNRC6C recrute la protéine PABP « *PolyAdenylate Binding Protein* » qui se lie à la queue polyadénylée de l'ARNm ciblé par le miARN.
- L'interaction TNRC6C-PABP-ARNm bloque la fixation du complexe d'initiation de la traduction eIF4G (*Eukaryotic translation initiation factor 4G*).
- La traduction de l'ARNm cible est inhibé.
- Le TNRC6C s'associe à l'hélicase DEAD box DDX6 et au complexe déadénylase CCR4-NOT (*Carbon Catabolite repression4-Negative On TATA-less*).
- La protéine argonaute du miRISC liée à cet ensemble clive la queue polyadénylée.
- Enfin, la protéine argonaute se lie à DCP2 (*Decapping mRNA2*) afin de retirer la coiffe de l'ARNm.
- La coiffe de l'ARNm sera ainsi décomposée par l'exoribonucléase XRN1 (5'-3'Exoribonuclease 1).

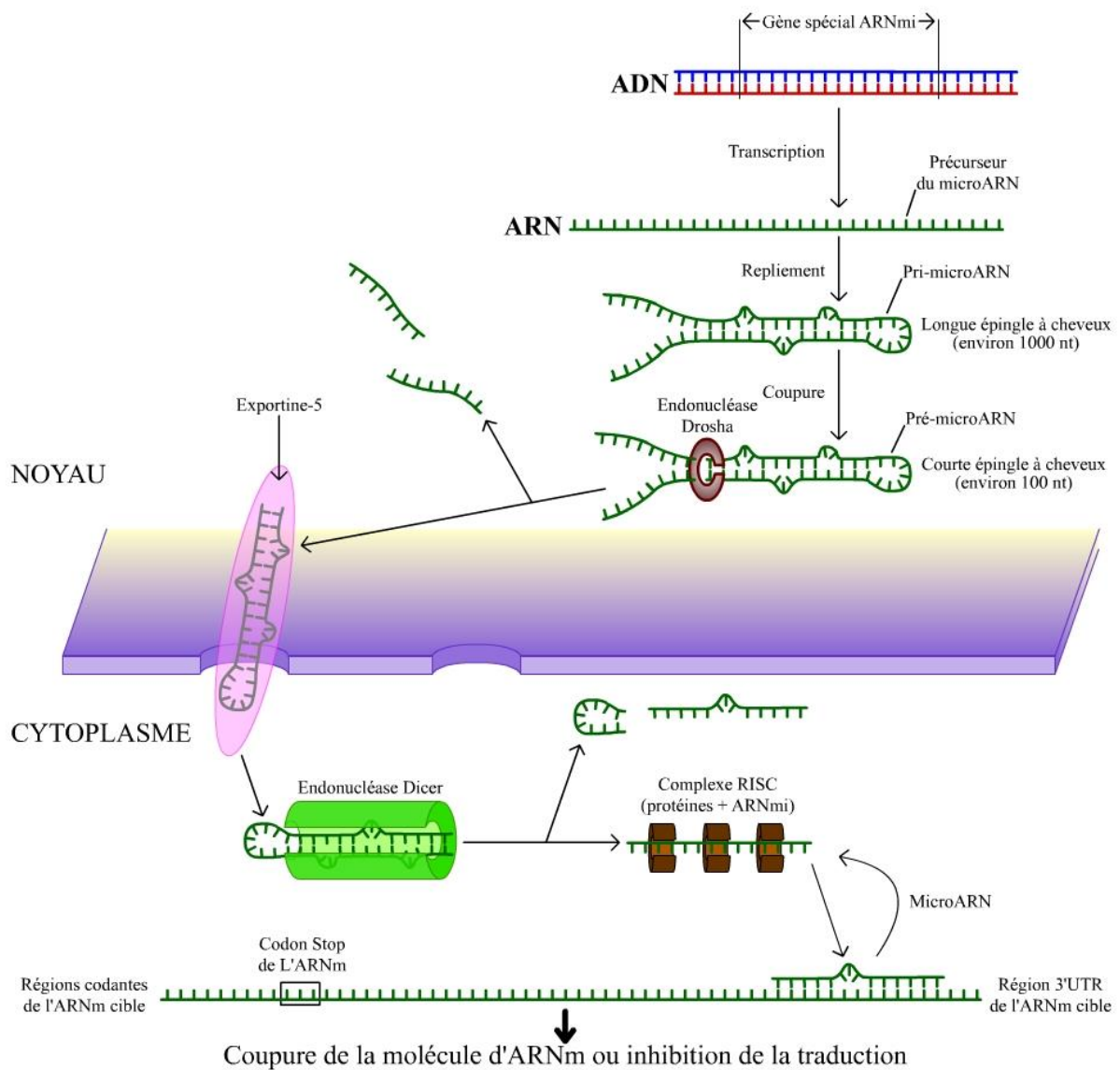


Figure 8 : Synthèse et mode d'action des miRNA (Treton, 2015)

### 3.3 piRNA

Les piRNA pour « *piwi interacting RNA* », sont des ARN simple brin contenant 24 à 32 nucléotides. Ils garantissent le mécanisme d'ARNi majoritairement au niveau des cellules germinales pour réduire l'expression des transposons qui peuvent provoquer des mutations délétères (Costa et al., 2012b).

La transcription des gènes répartis dans le génome (appelées clusters), résulte de l'apparition des précurseurs des piRNA ; les pri-ARN. Elle génère des fragments de séquences issus de transposons qui apparaissent sous forme de longs ARN simples brin de plusieurs nucléotides et qui seront ensuite déplacés vers le cytoplasme où ils deviennent des piRNA primaires par clivage à l'aide d'endonucléase Zucchini qui est responsable de la maturation des transcrits portant les clusters de piRNA (Voigt et al., 2012).

les piRNA mature se lient à des protéines de la famille PIWI (comme PIWI, Aubergine ou argonaute 3) formant ainsi des complexes piRNA PIWI (Brennecke et al., 2007).

#### 4. Mécanisme d'action de l'ARNi : (Fattal, 2020)

- L'introduction des ARNdb dans la cellule cible.
- Ces ARNdb sont transformés en ARNi au sein de la cellule par une enzyme DICER.
- Ces ARNi sont associés à un complexe protéique cytoplasmique appelé RISC (*RNA Induced Silencing Complex*) et les deux brins sont séparés (brin guide et brin passager).
- Le brin passager est dégradé et le brin guide reste attaché au complexe RISC et se lie à une protéine argonaute (Ago 2 chez l'homme).
- La protéine Ago 2 dirige le brin guide vers une séquence complémentaire spécifique de l'ARNm cible appelé région seed constituée des six premiers nucléotides à l'extrémité 5' du brin guide.
- Une fois l'appariement établi, l'ARNm cible est clivé par l'activité enzymatique portée par le domaine PIWI de l'Ago 2.
- En clivant l'ARNm cible, l'ARNi empêche la synthèse des protéines entraînant ainsi une réduction voire un arrêt de l'expression génique.



**Chapitre 3**  
**Applications**  
**médicales de**  
**l'ARNi**

## 1. Interférence ARN par thérapie génique

La technologie d'interférence ARN est utilisée avec succès par les chercheurs de l'EPFL (Ecole polytechnique Fédérale de Lausanne) dans les premiers traitements d'une maladie neurodégénérative chez la souris. Grâce à ce mécanisme d'inhibition spécifique de la synthèse des protéines, un groupe de chercheurs dirigée par le président de l'EPFL « Patrick Aebischer », ont réussi à retarder l'apparition des premiers symptômes ensuite la progression de l'une des formes de la sclérose latérale amyotrophique. Une disparition progressive des motoneurones caractérise la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Quand la maladie est familiale 1/10 de cas s'accompagne par une mutation génétique au niveau d'une enzyme ubiquitaire c'est la Cu/Zn superoxyde dismutase (SOD1). Les souris qui expriment excessivement d'une forme mutante de cette enzyme, présentent la majorité des manifestations de la SLA, ce qui indique que la SOD1 mutée est nuisible aux motoneurones. Une réussite marquée de l'inhibition de la synthèse de SOD1 normale et mutée *in vivo* par l'équipe de chercheurs lausannois à travers d'interférence ARN et des techniques de thérapie génique (Vonnez, 2005).

Comme nous l'avons mentionné précédemment au deuxième chapitre, l'interférence ARN est assurée par des siRNA « petits ARN interférents ». La présence du siRNA entraîne une dégradation des ARN messager par un mécanisme immémorial de défense, la production de la protéine s'arrête (Vonnez, 2005). Ce mécanisme naturel a été utilisé en thérapie génique.

- La technique utilisée :

Une équipe de chercheurs lausannois a provoqué la production d'siRNA dans des cellules malades. En effet, ils ont introduit des gènes codant pour deux siRNA dans le génome de la cellule à l'aide d'un vecteur viral dérivés du VIH. Au niveau des deux extrémités du gène, les deux séquences complémentaires sont positionnées symétriquement pour permettre au transcrit d'ARN primaire de se replier en épingle à cheveux et de produire un ARN interférent double brin (Vonnez, 2005).

## 2. Utilisation de l'ARN interférence dans le traitement de l'amylose héréditaire due à une mutation de la transthyréine

Les neuropathies amyloïdes à transthyréine (NAH-TTR) sont une maladie causée par une mutation du gène *ttr*. Elles sont classifiées comme une maladie rare héréditaire de l'adulte, autosomique dominante.

Les NAH-TTR sont très dangereuses et conduisent à une altération progressive des fonctions motrices, sensorielles, dysautonomiques et des lésions cardiaques. La synthèse du TTR se déroule au niveau du foie, l'œil et les plexus choroïdes (Adams et al., 2014).

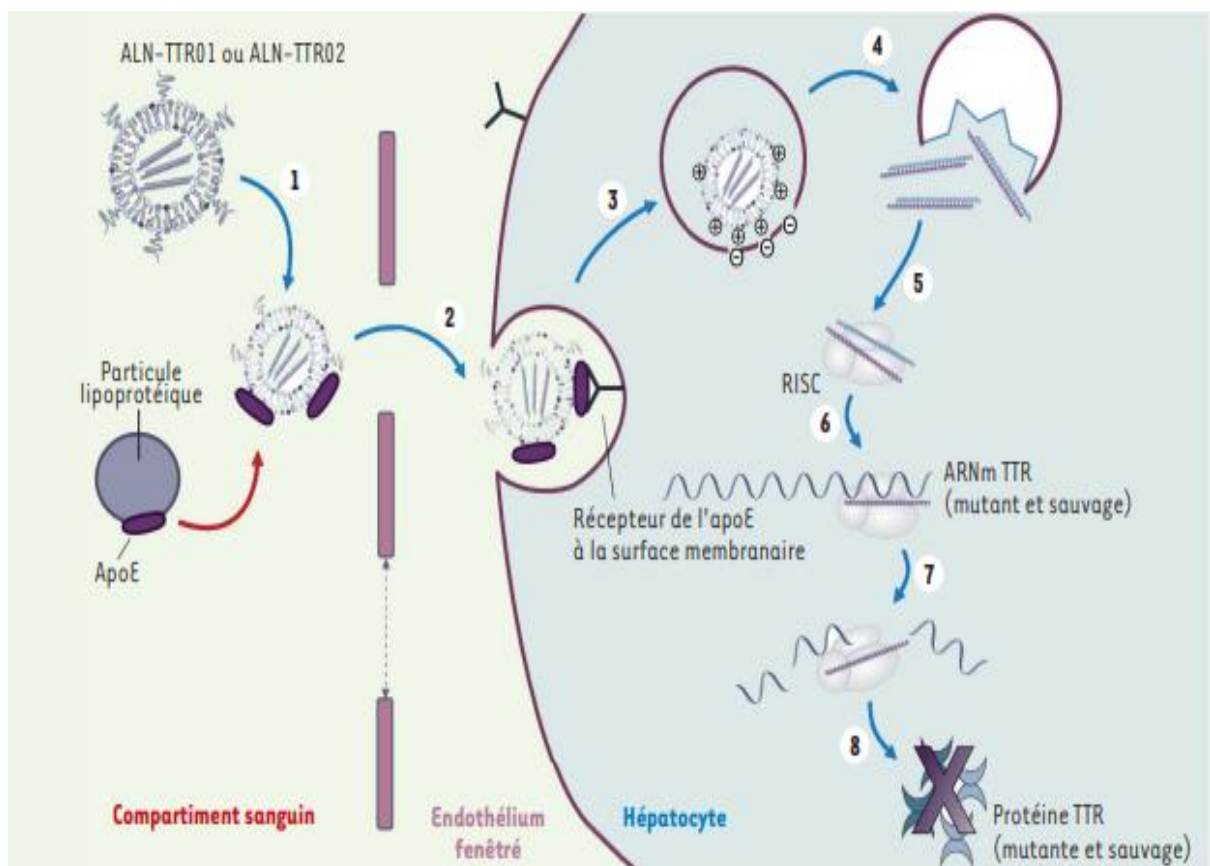
Depuis plus de vingt ans, les chercheurs s'appuient sur un seul traitement des NAH-TTR où plus de 2000 cas ont été traités dans le monde par transplantation hépatique. Ce traitement permet d'inhiber la production du TTR et d'arrêter la progression de la maladie uniquement chez certaines patients (<50 ans). Après la transplantation hépatique une progression de la neuropathie et de la cardiopathie, associées à l'accumulation de la TTR sauvage (WT-TTR) sont observées après l'âge de 50 ans (Adams et al., 2014).

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'interférence ARN contrôle l'expression des gènes et joue un rôle dans la dégradation d'ARNm cible et l'empêchement de sa traduction. Dans le cas de la NAH-TTR, l'ARNi cible la région 3' non transcrite de l'ARNm TTR où il agit sur les formes mutées et non mutées de la protéine. Une injection intraveineuse d'ARNi agit à la faveur des formulations de nanoparticules lipidiques, en se distribuant sur le foie, les yeux et le système nerveux central. Un petit ARNi fort anti-TTR a été déterminé et encapsulé en ALN-TTR01 et ALN-TTR02 qui sont reconnus comme des formulations de NPL (nanoparticules lipidiques) de première et deuxième génération du même ARNi qui cible l'ARNm des TTR sauvages et mutés (Adams et al., 2014).

❖ **Mécanisme de livraison des ARNi aux hépatocytes et suppression de la protéine TTR médiée par les ARNi (figure 9) (Adams et al., 2014)**

- Une injection intraveineuse (IV) de l'une des formulations, NPL (nanoparticule lipidique) est réalisée.
- Elle pénètre dans le foie depuis la circulation via des vaisseaux fenêtrés et se lie aux récepteurs à la surface des hépatocytes.
- À travers l'endocytose, les NPL sont intégrées ainsi que le pH acide de la vésicule endocyttaire mené à une protonation du composant lipidique ionisable du NPL.
- L'ARNi sort dans le cytoplasme grâce à un fusionnement de NPL d'une charge positive avec la membrane endosomale d'une charge négative.
- Au niveau du complexe inducteur du silence d'ARN (RISC), l'ARNi est chargé.

- Les brins d'ARN sont dissociés, puis le brin antisens installé au RISC s'associe sur la même séquence au niveau de la région non-transcrite des ARNm de la TTR sauvage et mutée.
- Un clivage d'ARNm se produit grâce à l'endonucléase argonaute 2 dans le complexe RISC.
- L'ARNm de la TTR mutée et sauvage devient inactivé et la protéine TTR est supprimée.



**Figure 9 : Mécanisme de livraison des ARNi aux hépatocytes et suppression de la protéine TTR médiée par les ARNi (Adams et al., 2014).**

De plus à leur efficacité, ces traitements se distinguent par leur facilité d'application et leurs coûts de production réduits par rapport aux outils thérapeutiques qui utilisent les protéines ou les anticorps (Creusat, 2018).

### 3. Utilisation de l'ARN interférence dans le traitement de cancer

Les cellules cancéreuses présentent des protéines distinctes, tant en termes de qualité que de quantité, par rapport à celles retrouvées habituellement chez les cellules non cancéreuses. Dans certains cas, ces cellules tumorales peuvent produire des protéines absentes dans les cellules normales donc, l'importance de cibler spécifiquement des protéines dans le traitement du cancer devient ainsi évidente. Par ailleurs, des études réalisées *in vitro* (en dehors d'un organisme vivant) ont montré l'absence de certains micro ARN spécifiques dans les cellules cancéreuses, montrant que l'introduction de ces micro ARN absents pourrait bloquer la progression du cancer (**Creusat, 2018**).

L'utilisation de l'ARN interférent a arrêté la croissance des cellules tumorales en ciblant plusieurs oncogènes et gènes promoteurs de tumeurs essentiels tels que les facteurs angiogéniques et de croissance, ainsi que leurs récepteurs, tels que le facteur de croissance endothélial vasculaire et le récepteur du facteur de croissance épidermique (**Friedrich et al., 2004**). On a aussi confirmé cette capacité à inhiber la croissance des tumeurs lors des études sur des organismes vivants (**Creusat, 2018**).

#### ✓ Le cancer de la peau (mélanome)

En 2010, le premier essai clinique utilisant l'interférence à ARN a été réalisé sur des patients atteints d'un cancer de la peau (mélanome) qui ont reçu par voie systémique un siRNA lié à des nanoparticules lipidiques. Après administration, une réduction des niveaux d'ARNm et de protéines tumorales spécifiques a été observée dans les biopsies des patients démontrant ainsi pour la première fois l'effet hautement spécifique des siRNA (**Kim et al., 2020**).

### 4. Utilisation de l'ARN interférence dans le traitement des maladies virales

Lorsque l'ARN interférent a été un mécanisme de défense antiviral ancestral chez les mammifères, bloquer la multiplication virale est un bon point pour évaluer le potentiel thérapeutique de ce mécanisme (**Creusat, 2018**).

L'utilisation de l'ARN interférent pour bloquer la multiplication des virus a été prouvée expérimentalement dans différentes études pour différents virus comme des virus à ADN tels que le papillomavirus et le virus de l'herpès, ainsi que des virus à ARN comme le VIH, le virus de la grippe, le rotavirus et le virus respiratoire syncytial (**Gitlin & Andino, 2003**).

Le processus de l'ARN interférent s'est aussi montré performant pour bloquer la multiplication des virus de l'hépatite B et de l'hépatite C (**Creusat, 2018**).

La majorité de ces études ont été menées en laboratoire, elles ont donné des résultats prometteurs qui ont été observés chez la souris en ce qui concerne l'arrêt de la propagation des virus notamment le virus de l'hépatite B (**Giladi et al., 2003**), le virus de la grippe (**Tompkins et al., 2004**) et d'autres virus respiratoires (**Bitko et al., 2005**).

### ✓ VIH

Parmi de nombreuses maladies virales, l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) se distingue comme un défi majeur pour les chercheurs. Malgré le développement de plusieurs molécules antivirales on assiste à une nette augmentation de la résistance des souches aux médicaments (**Creusat, 2018**). Il est donc impératif d'insister dans la recherche de nouvelles thérapies. Depuis sa découverte, le phénomène de l'ARNi donne espoir.

Dans un premier temps, les siARN peuvent entraver diverses phases de la réplication virale au sein de la cellule (**Creusat, 2018**). Cependant, le phénomène de l'ARNi comporte également ses limites en raison du comportement du virus. En effet, une variation d'une paire de bases entre la séquence cible et le siARN peut réduire l'effet de l'ARN interférent alors que la transcriptase inverse du VIH présente un taux d'erreur élevé estimé à 1/1000 par cycle de réplication. En outre, il existe une grande variété de séquences parmi les personnes infectées, ce qui rend la conception de siARN efficaces, particulièrement complexe.

## 5. Autres maladies

L'utilisation de l'ARN interférent pour cibler des séquences géniques, représente un mécanisme prometteur pour bloquer l'expression de gènes impliqués dans le développement de maladies neurodégénératives tels que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Huntington (une maladie neurodégénérative héréditaire qui affecte le cerveau, elle est causée par une mutation dans le gène HTT qui code une protéine huntingtine).

Cette mutation permet la production d'une forme anormale de la protéine qui se rassemble dans le cerveau et altère les cellules nerveuses et provoque des symptômes tels que des problèmes de concentration et de mémoire) pour lesquelles il n'existe pas encore de traitements efficaces **(Creusat, 2018)**.

Récemment, un siRNA a été approuvé en Europe pour traiter l'hypercholestérolémie primaire. Ce siRNA améliore l'absorption hépatique de LDL-C (pour *Low-Density Lipoprotein Cholesterol* ou cholestérol lié aux lipoprotéines de basse densité) et diminue ainsi les taux sanguins de LDL-C. L'objectif de cette thérapie est de diminuer les complications de l'athérosclérose (la formation de plaques dans les artères) liées à l'hypercholestérolémie tel que les évènements cardiovasculaires **(Kim et al.,2020)**.

# **Chapitre 4**

## **Les essais cliniques**



## 1. Principaux essais cliniques pour le traitement du cancer

Au cours des deux dernières années, la compréhension des mécanismes de l'ARN interférent (ARNi) et l'identification de ses cibles potentielles en cancérologie ont conduit à de nombreuses études. Ces recherches, réalisées sur des cellules en laboratoire et sur des animaux, ont décrit différentes méthodes pour délivrer des petits ARN interférents (siRNA). Ces avancées ont permis de lancer des essais cliniques chez l'homme (Creusat, 2018).

**Tableau 1 : Principaux essais cliniques utilisant des siRNA pour le traitement du cancer (Creusat, 2018).**

Agent thérapeutique	Compagnie	Cible	Vecteur	Phase de l'essai
Atu027	Silence Therapeutics	PKN3	Nanoparticule lipidique	Phase I terminée
TKM-PLK1	Tekmira Pharmaceuticals	PLK-1	Nanoparticule lipidique	Phase I terminée
CALAA-01	Calando Pharmaceuticals	RRM2	Cyclodextrine	Phase I terminée
ALN-VSP	Alnylam Pharmaceuticals	VEGFA et KSP	Nanoparticule lipidique	Phase I terminée

Quatre essais cliniques, portant sur l'utilisation de siRNA en oncologie, ont jusqu'à présent terminé la phase I : Atu027, TKM-PLK1, CALAA-01, ALN-VSP. Ces études ont été réalisées en administrant systématiquement des siRNA transportés par des nanovecteurs.

## 1.1 Atu027

Atu027 est un siRNA synthétique qui permet la dégradation de l'ARNm codant pour la protéine kinase N3 (PKN3). On trouve PKN3 dans les tissus fortement vascularisés (**Aleku et al., 2008**). Atu027 agit comme un médicament qui protège les vaisseaux sanguins, réduit l'inflammation dans la région de la tumeur et empêche les cellules cancéreuses de se propager (**Schultheis et al., 2014**). Atu027 est présenté sous forme de petites particules de graisse (lipoplexes-siRNA ou AtuPlex) pour être administré dans tout le corps. Dans l'organisme, ces lipoplexes transportent les siRNA ciblant la protéine PKN3 directement jusqu'au cytoplasme des cellules des vaisseaux sanguins. Les lipoplexes se forment lorsque des liposomes chargés positivement se lient à des siRNA chargés négativement (**Santel et al., 2006**). Les composants de l'Atu027 sont les suivants : les lipides cationiques (AtuFECT01), les lipides neutres (DphyPE), les lipides PEGylés (DSPE-PEG) (figure 10) (**Santel et al., 2006**). Bloquer le PKN3 semble à renforcer les vaisseaux sanguins (diminue la perméabilité des vaisseaux sanguins tumoraux) et réduire l'inflammation (**Schultheis et al., 2014**).

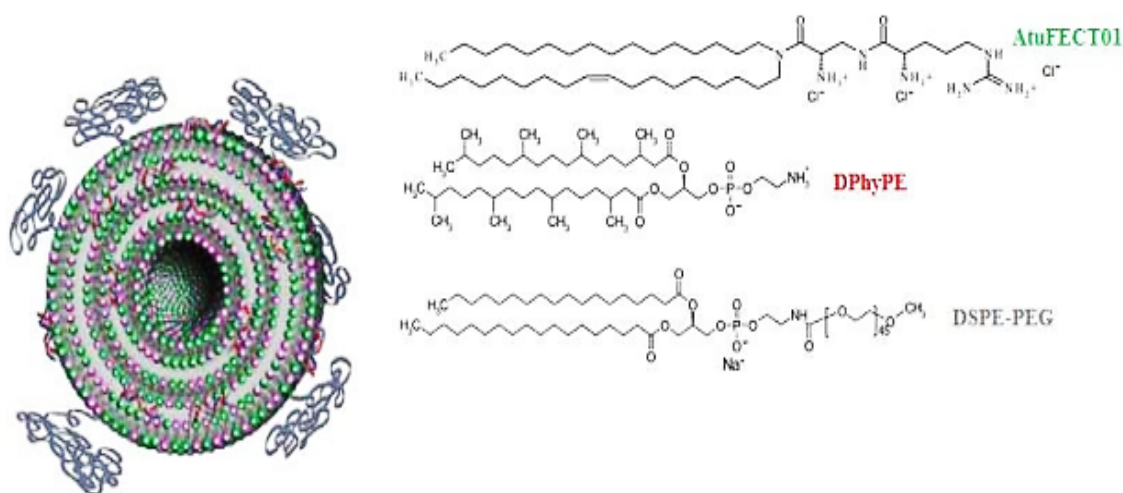


Figure 10 : structure et composition du lipoplexe Atu027 (Strumberg et al., 2012).

Un essai clinique de phase I a été réalisé avec des patients ayant des tumeurs solides avancées pour vérifier la sécurité, la tolérance et l'efficacité anti tumoral d'Atu027. Il a été bien toléré jusqu'à une dose de 0,336 mg de siRNA par kg, ce qui est le double de la dose minimale nécessaire pour une activité anti tumorale (figure 11) (Schultheis et al., 2014).

L'évaluation des niveaux de 102 protéines dans le sang avant et après plusieurs injections a révélé une diminution de la concentration du récepteur soluble du VEGF (sVEGFR1) chez 12 des 20 patients analysés (figure 12). sVEGFR1, déjà connu comme un indicateur de résistance aux traitement anti angiogéniques, pourrait aussi servir de marqueur pour mesurer la réponse au traitement Atu027 (Jain, 2013).

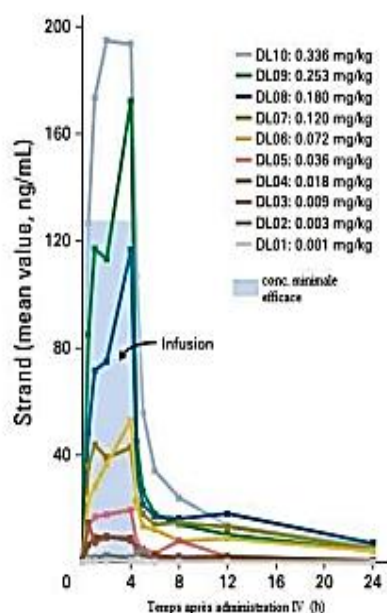


Figure 11 : concentration plasmique en siRNA anti-PKN3 (Schultheis et al., 2014).

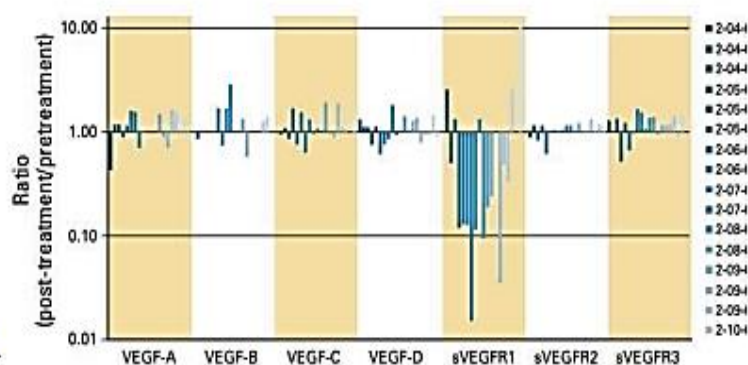


Figure 12 : expression de différentes protéines solubles avant et après injection d'Atu027 (Schultheis et al., 2014).

L'administration d'Atu027 deux fois par semaine pendant quatre semaines a stabilisé la maladie chez 14 des 24 patients. Chez 11 patients, on a observé une réponse des métastases (tumeurs secondaires : indique une progression avancée du cancer) : six ont eu une réduction partielle des métastases au foie, aux poumons ou aux os, et un a eu une dégradation complète des métastases pulmonaire.

Les résultats obtenus sur les métastases et l'absence d'effets secondaires importants comme la fatigue et les troubles gastro-intestinaux ont conduit au lancement d'un essai clinique de phase I/II. Cet essai vise à évaluer l'association de l'Atu027 avec un chimiothérapeutique standard à base de gemcitabine (un médicament de chimiothérapie utilisé pour traiter les cancers en inhibant la croissance des cellules cancéreuses, peut être utilisé seule ou en combinaison avec l'Atu027 pour améliorer son efficacité). Cette association a pour but d'améliorer l'activité antitumorale de la gemcitabine grâce à l'Atu027 (Creusat, 2018).

## 1.2 TKM-PLK1 (ou TKM-080301)

TKM-PLK1 est développé par *Tekmira pharmaceuticals* depuis 2015, et est une nanoparticule lipidique stable (SNAPL) d'environ 80 nm pour qu'il puisse bien fonctionner dans le corps (figure 13) (Zuckerman & Davis, 2015). Ce médicament cible une protéine appelée PLK1 (*Polo-like kinase 1*) qui est trop présente dans les cellules cancéreuses et surexprimée dans plusieurs cancers tels que les mélanomes. Cette protéine aide les cellules à se reproduire rapidement. L'inhibition de cette protéine permet l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose (Liu, 2015).

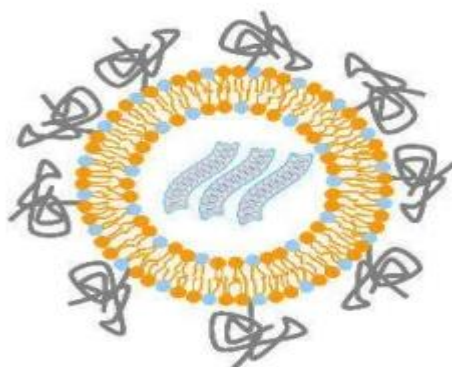
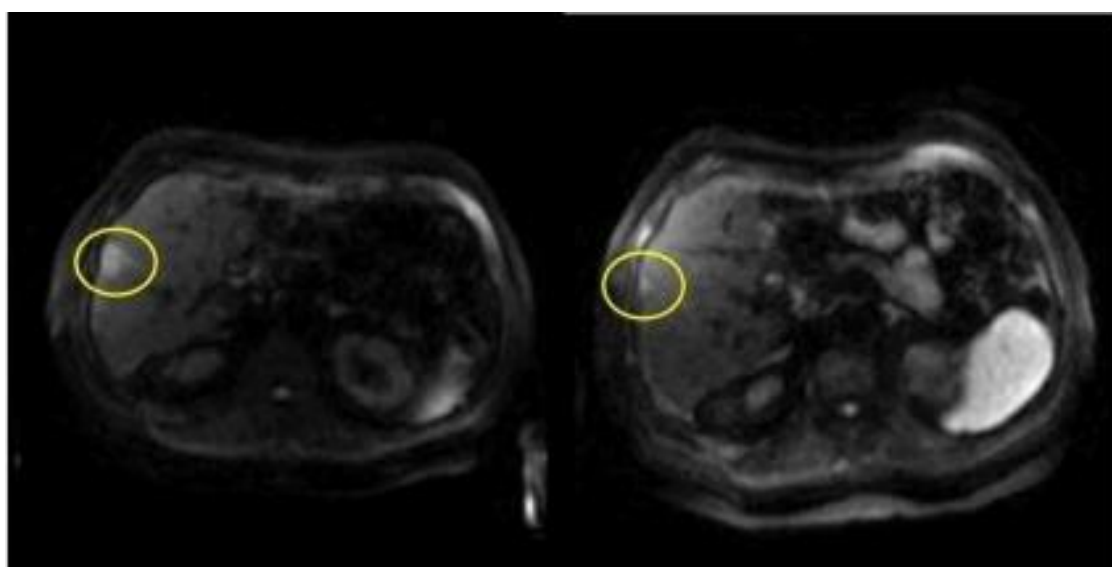


Figure 13 : la structure de TKM-08030 (Ramanathan et al., 2013).

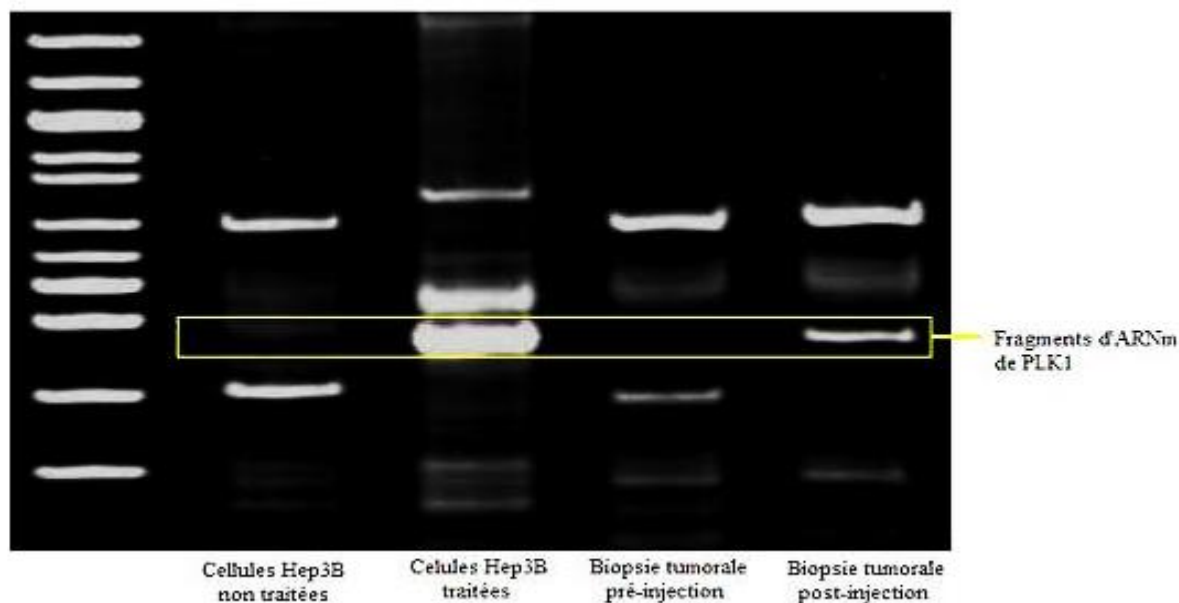
Lors de la phase initiale (phase 1) de l'essai clinique du médicament TKM-080301, des patients souffrant de tumeurs solides résistantes aux traitements habituels ont été inclus. En administrant des doses de plus en plus élevées du médicament, on a constaté que les doses allant jusqu'à 0.75 mg de siRNA par kg étaient bien tolérées. De plus, parmi les neuf patients ayant reçu des doses supérieures à 0.60 mg de siRNA par kg, trois ont vu leur maladie se stabiliser et un autre a eu une réponse partielle au traitement avec le TKM-080301 (figure 14). L'effet des siRNA a été confirmé, après biopsie par 5'RACE (*Rapid amplification of cDNA Ends*), où l'on a observé l'apparition de morceaux d'ARNm de PLK1 après l'injection du médicament (figure 15) (Zuckerman & Davis, 2015).



IRM pré-injection

IRM après deux cycles d'injections

**Figure 14 : Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) qui montre une diminution de la taille de la tumeur neuroendocrinienne avant et après injection de TKM-080301 (Ramanathan et al., 2013).**



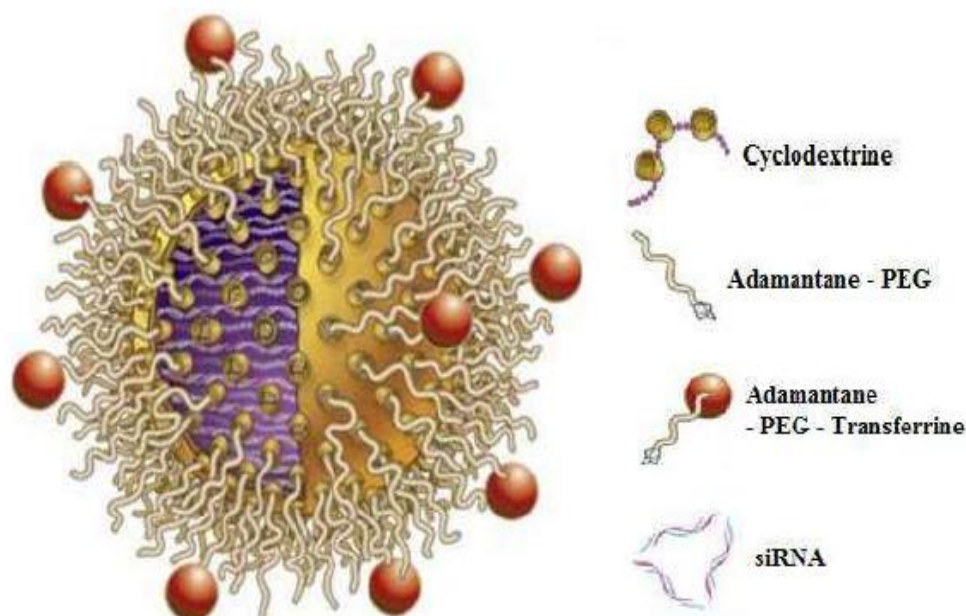
**Figure 15 : 5'RACE qui montre une fragmentation de l'ARNm de PLK1 (Ramanathan et al., 2013).**

Actuellement, TKM-080301 est testé seul dans le traitement des tumeurs de l'estomac et l'intestin ainsi que dans le foie (tumeurs gastro-intestinales neuroendocriniennes hépatocellulaires) dans la phase I/II. Les premiers résultats montrent qu'il a permis de stabiliser la maladie chez 51% des patients, de réduire partiellement la tumeur chez 22% des patients et de réduire la taille de la tumeur chez 59% des patients (Creusat, 2018).

### 1.3 CALAA-01

Est une nanoparticule dont le composant principale et actif est le siRNA, reconnu comme le premier traitement expérimental contre le cancer basé sur l'interférence ARN (ARNi). 24 patients souffrant de différents types de cancers ont été traités dans la première phase d'essai clinique par le CALAA-01 (Zuckerman et al., 2014). Ce système est constitué d'un nanovecteur polymérique, le cyclodextrine associé à un polymère hydrophile ainsi qu'un adamantane-PEG (polyéthylène glycol), déclenché via la liaison de protéines de transferrine (figure 16) (Dieterle, 2017). Il autorise la vectorisation de siRNA anti-RRM2 (*Ribonucleotide Reductase M2* enzyme qui participe au cours du métabolisme des acides nucléiques et qui se

trouve en excès dans de nombreux cancers. Son inhibition mène à une suspension du cycle cellulaire et l'apoptose).



**Figure 16 : Structure et composition de CALAA-01 (Dieterle, 2017).**

La première phase d'essai clinique est conçue afin de préciser la dose maximale autorisée et d'étudier la réponse à deux injections hebdomadaires chez les patients présentant des cas avancés de tumeurs solides (Davis et al., 2010). Des biopsies pratiquées avant et après le traitement (18, 24, 30mg siRNA/m<sup>2</sup>) chez les malades de mélanomes ont permis l'apparition d'une accumulation de CALAA-01 dans la tumeur et l'inhibition de l'expression de l'ARNm de RRM2 (figure17). L'analyse de 5'RACE (*Rapid Amplification of cDNA Ends*) affirme le clivage de l'ARNm de RRM2 causé par le siRNA de CALAA-01 de 24 à 30 mg de siRNA/m<sup>2</sup> (figure 18). Un cas de stabilisation de la maladie chez un patient de mélanomes métastasés après avoir reçu une dose de 30 mg de siRNA/m<sup>2</sup> pendant 4 mois, a été observé.

Les résultats sont encourageants, mais l'apparition d'effets nocifs (nausées, asthénie, syndrome pseudo-grippal) a mené à l'arrêt de l'essai clinique avant son terme.

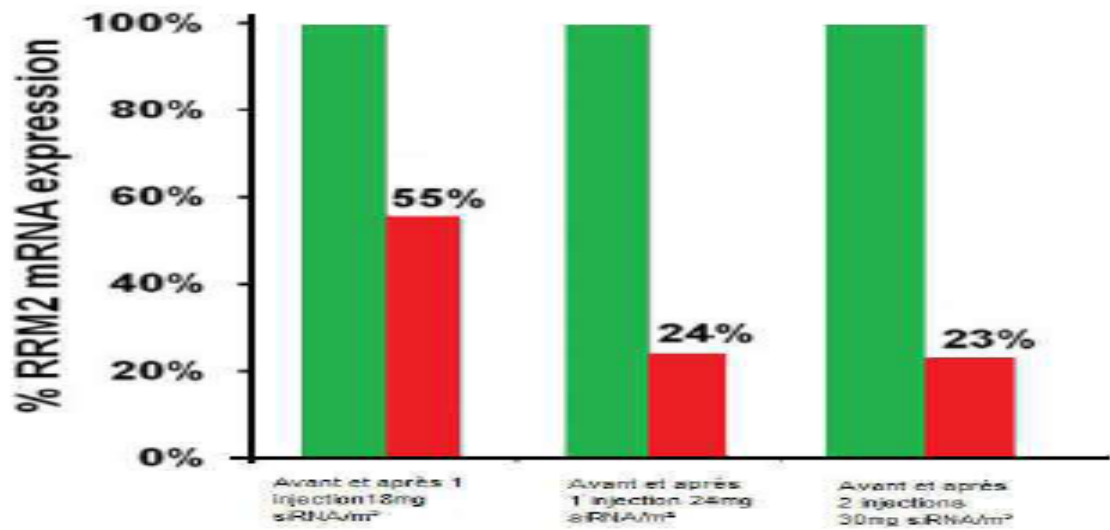


Figure 17 : Expression de l'ARNm de RRM2 pré et post-traitement par CALAA-01 (Zuckerman et al., 2014).

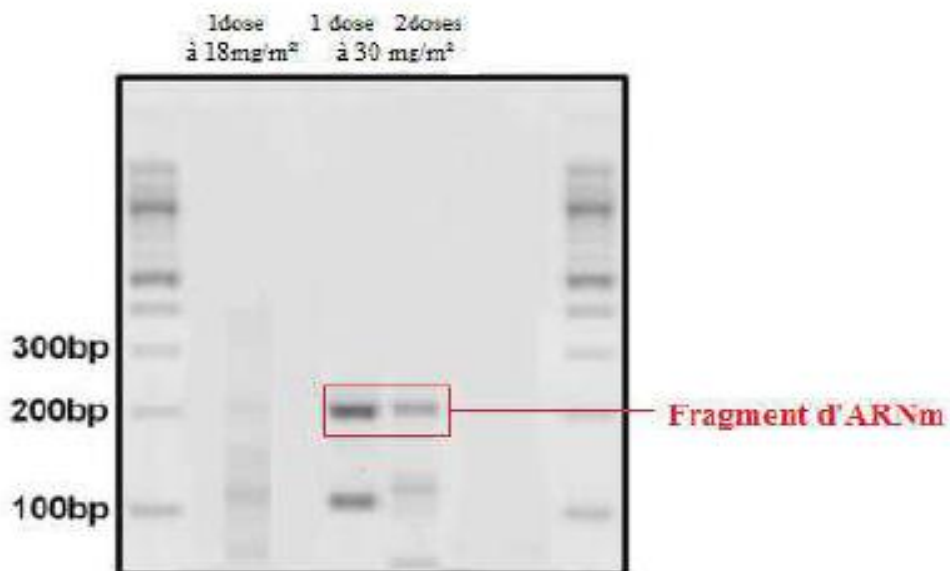


Figure 18 : 5'RACE montrant le clivage de l'ARNm de RRM2 (Zuckerman et al., 2014).



Aucune relation n'a été détectée entre la survenue d'effets nocifs et la dose de siRNA donnée ou la production de cytokines. L'apparition d'effets nocifs pourrait être induite par le vecteur et en particulier la transferrine instable dans le temps (Zuckerman et al., 2014).

#### 1.4 ALN-VSP

Nanoparticule lipidique d'un diamètre de 80-100 nm, de type SNAPL (Nanoparticule lipidique stable), constitué un lipide PEGylé mPEG-C-DMA, deux lipides cationiques (DLinDMA (1,2-Dilinoleyloxy-N,N-diméthyl-3-aminopropane), DPPC (*Dipalmitoyl phosphatidylcholine*)) et de cholestérol (figure19) (Tabernero et al., 2013).

Ces nanoparticules sont synthétisées par ALnylam (Tabernero et al., 2013). Une caractéristique de ce nanovecteur est qu'il possède deux siRNA ciblant deux cibles différentes surexprimées dans plusieurs types de cancers (Zuckerman & Davis, 2015) :

- VEGFA (*Vascular Endothelial Growth Factor A*), participe à la formation des vaisseaux sanguins tumoraux.
- KSP (*kinesin spindle protein*), participe à la composition du fuseau mitotique des cellules prolifératives.

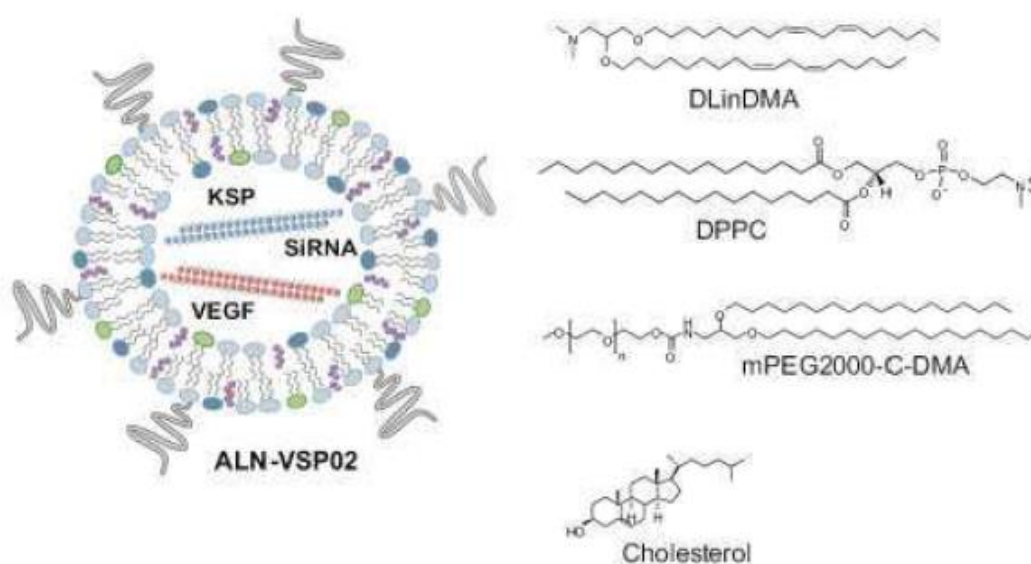
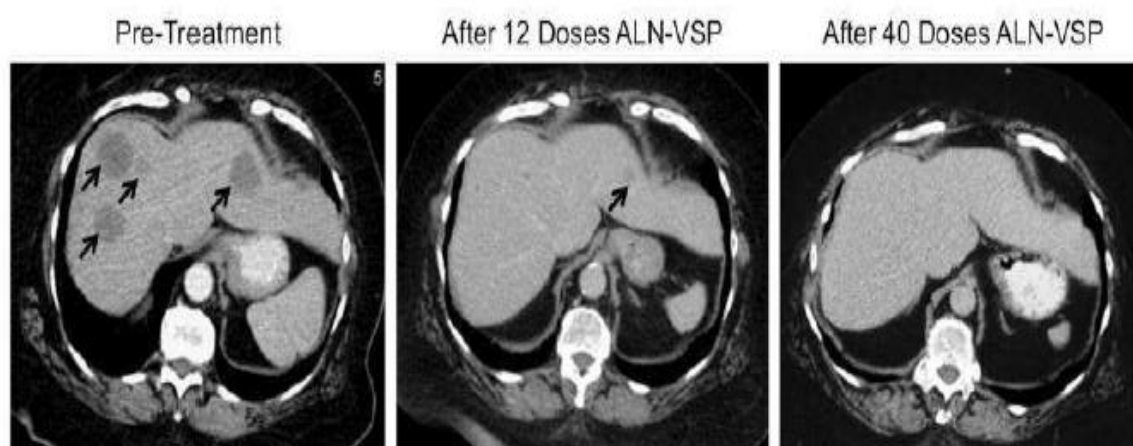


Figure 19 : Structure et Composition d'ALN-VSP (Tabernero et al., 2013).

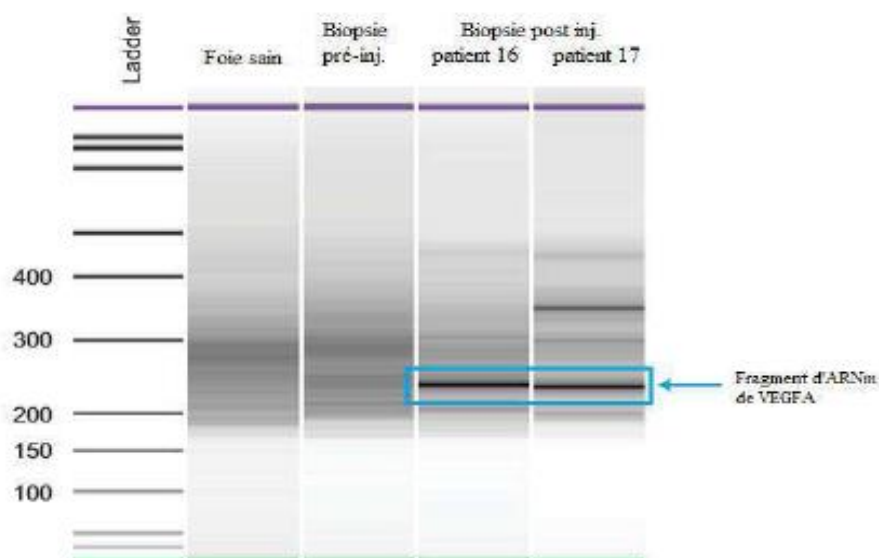
D'une part, la première phase d'essai clinique a permis dans un premier temps chez les malades de tumeurs solides avec métastases hépatiques de déterminer la résistance à ALN-VSP.

Jusqu'à 1.25 mg de siRNA/kg de doses injectées a été bien tolérée mais a conduit à l'apparition d'effets indésirables tel que nausées, fièvre et fatigue. Un seul patient a souffert d'insuffisance hépatique affectant plus de 70% du foie au début de l'étude, ce a qui entrainé sa mort après deux injections de 0.7mg de siRNA/kg. La cause principale du décès n'a pas été déterminée mais peut être due à une progression ou nécrose tumorale ou à une toxicité d'ALN-VSP au niveau du parenchyme hépatique sain (Zuckerman & Davis, 2015). D'autre part, une évaluation de l'activité anti-tumorale d'ALN-VSP fait au cours de la deuxième partie de la phase I, a montré que la maladie de 50 % des patients était stable grâce à leur administration de 8 injections supérieurs à 0.7 mg de siRNA/kg (Tabernero et al., 2013).

Dans un autre cas, il y a eu une guérison complète chez une patiente de cancer de l'endomètre avec des métastases hépatiques après 40 doses (figure 20). Chez douze patients, des biopsies ont été réalisées avant et après le traitement, ce qui a permis de confirmer l'action d'ALN-VSP avec une baisse d'expression de l'ARNm de KSP et VEGFA et aussi un clivage de l'ARNm de VEGFA par 5'RACE (figure21) (Tabernero et al., 2013).



**Figure 20 : IRM montrant la régression des métastases hépatiques après 12 et 40 doses d'ALN-VSP à 0.7mg de siRNA/kg (Tabernero et al., 2013).**



**Figure 21 :5'RACE montrant le clivage de l'ARNm de VEGFA (Tabernero et al., 2013).**

## 2. principaux essais cliniques pour le traitement de certaines maladies virales

### 2.1 Hépatite B

L'hépatite B est une maladie causée par le virus de l'hépatite B (VHB), qui provoque une inflammation du foie. Elle peut devenir grave en évoluant vers une hépatite chronique, pouvant entraîner un cancer du foie.

Le VHB est un virus à ADN de la famille des *Hepadnaviridae*. Il est composé d'une nucléocapside et d'une enveloppe lipidique. Le virus possède également une ADN polymérase avec une activité de transcriptase inverse, utilisée pour sa réplication. Il existe en 4 sérotypes et 8 génotypes différents.

NucB-1000 est une thérapeutique basée sur l'ARN interférence, développée par *Nucleonics Inc* afin de traiter les infections au VHB par administration systémique, et pour laquelle un essai clinique de phase I a débuté en janvier 2008. La société était supposée initier les essais cliniques chez l'homme début 2005, mais a dû les retarder puisque l'optimisation de la formulation du traitement s'est révélée plus difficile.

Le traitement développé par *Nucleonics* utilise un ADN plasmidique conçu pour produire, sous le contrôle d'un promoteur spécifique, quatre petits ARN interférents (shRNA) qui ciblent différentes parties du génome du VHB. Ce plasmide est formulé avec un lipide cationique pour faciliter sa délivrance.

Dans cette étude de phase I, quinze patients souffrant d'hépatite B légère à modérée, sans signes de cirrhose, ont été sélectionnés et répartis en cinq groupes pour recevoir des doses variées de NucB-1000. L'objectif principal de l'étude était d'évaluer la sécurité du traitement, tandis que l'objectif secondaire consistait à mesurer son efficacité antivirale en utilisant des indicateurs biologiques tels que la charge virale. Les résultats ont démontré une bonne tolérance au traitement chez tous les participants, sans effets secondaires graves. En ce qui concerne l'efficacité antivirale, une diminution significative de la charge virale a été constatée chez les patients recevant les doses les plus élevées de NucB-1000, suggérant ainsi une activité antivirale prometteuse de ce traitement **(Creusat, 2018)**.

## 2.2 Hépatite C

Le virus de l'hépatite C considéré comme une cible thérapeutique approuvée et comme il est classé un virus à ARN, leur génome est une cible idéale pour les siRNA. Les études animales *in vivo*, ont montrés que l'organe le plus approachable aux acides nucléiques c'est le foie **(Creusat, 2018)**.

L'hépatite C est définie comme une maladie infectieuse déclenchée par un virus qui attaque le foie c'est le virus de l'hépatite C (VHC). Cette infection se distingue par une inflammation du foie, asymptomatique en général, mais qui peut progresser en une hépatite chronique conduisant à un cancer ou une cirrhose de foie (10 % des cas). Le VHC est un flavivirus présent en 6 géotypes différents et est un virus à ARN monocaténaire de polarité positive composé d'une enveloppe lipidique et une capsidie icosaédrique **(Creusat, 2018)**.

Le Sirna-034, est un siRNA chimiquement modifié considéré comme le premier agent thérapeutique étudié afin de traiter l'infection par le VHC. Il a été développé par la société *siRNA therapeutics* et la fin de 2006 a marqué le début de sa première phase. Ce sont deux siRNA qui ciblent plusieurs séquences différentes hautement conservées du génome viral et ils sont livrés via des nanoparticules.

Le système de formulation utilisé pour permettre la délivrance aux hépatocytes était déjà déterminé au niveau des souris et primates non humains.

Ensuite, Le traitement était mené pendant quatre semaines et a montré une réduction importante de charge virale au niveau de l'organisme.

Pour le traitement de l'hépatite C, il existe une autre thérapie actuellement en essai clinique basée sur l'ARNi c'est le BLT-HCV (*Block Lipid Transport-Hepatitis C Virus*) qui est entré en première phase à la fin de 2006 développé par Benitec (société australienne créée pour l'évolution des thérapies de silençage génique par la technologie d'interférence ARN en 1977 afin de traiter les maladies chroniques et potentiellement mortelles).

Reconnu comme un ensemble de 3 séquences de siRNA qui ciblent le génome du VHC, chaque élément pris individuellement montre son efficacité dans l'inhibition du virus chez les rongeurs et les cellules en culture. De plus, pour éviter l'évolution de résistances, qui présente un réel problème dans les thérapies existantes et les molécules en cours d'évolution, Benitec montre l'importance de ciblage multiple. Ainsi, pour éliminer l'infection total de la VHC, la société n'exclut pas l'utilisation de son traitement avec d'autres médicaments disponibles (interféron et/ou ribavirine) (**Creusat, 2018**).

**Conclusion**

Au cours de cette brève étude sur l'interférence ARN, on a pu lever le voile sur un outil thérapeutique aussi moderne que révolutionnaire. En effet, ce mécanisme moléculaire de régulation de l'expression génique qui existe chez toutes les cellules vivantes est aussi vieux que la vie ! Cependant, son utilisation dans le domaine thérapeutique demeure très récente et toujours pas maîtrisée. Tout de même, les essais cliniques qui ont eu lieu jusque-là, laissent entrevoir de grands espoirs dans le développement d'une thérapie anticancéreuse personnalisée et d'une lutte antivirale bien plus ciblée et efficace. Les expériences prometteuses de cette technique ont créé une course entre les grands laboratoires pharmaceutiques comme Novartis et Roche, pour la maîtriser et être les pionniers de son utilisation.

Cependant, la comparaison des connaissances précliniques avec les résultats au cours des essais cliniques, l'évolution des modèles proches aux physiopathologies humaines et la fabrication des nouveaux éléments non toxiques afin d'améliorer la délivrance ciblée de ces molécules ; restent des enjeux très difficiles à surmonter pour pouvoir introduire l'interférence ARN dans l'usage médical.

De nos jours, l'ARN interférence demeure une technique peu exploitée et pas entièrement maîtrisée. Son potentiel thérapeutique est cependant en pleine évolution et promet de meilleurs jours pour le traitement de maladies qui ont longtemps épuisé l'humanité.

**Références  
bibliographiques**



## A

**Adams, D., Lozeron, P., & Algalarrondo, V. (2014).** Utilisation de l ' ARN de l ' amylose héréditaire de la transthyréline. 345–347.

**Aleku, M., Schulz, P., Keil, O., Santel, A., Schaeper, U., Dieckhoff, B., Janke, O., Endruschat, J., Durieux, B., Röder, N., Löffler, K., Lange, C., Fechtner, M., Möpert, K., Fisch, G., Dames, S., Arnold, W., Jochims, K., Giese, K., ... Kaufmann, J. (2008).** Atu027, a liposomal small interfering RNA formulation targeting protein kinase N3, inhibits cancer progression. *Cancer Research*, 68(23), 9788–9798.

URL: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2428>

## B

**Bas, A. (2016).** Nouvelle stratégie thérapeutique contre les cancers associés au virus d ' Epstein-Barr : étude in vitro de l ' inhibition du cycle lytique du virus par ARN interférence Ariane Bas To cite this version : HAL Id : dumas-01320355.

**Bitko, V., Musiyenko, A., Shulyayeva, O., & Barik, S. (2005).** Inhibition of respiratory viruses by nasally administered siRNA. *Nature Medicine*, 11(1), 50–55.

URL: <https://doi.org/10.1038/nm1164>

**Brennecke, J., Aravin, A. A., Stark, A., Dus, M., Kellis, M., Sachidanandam, R., & Hannon, G. J. (2007).** Discrete Small RNA-Generating Loci as Master Regulators of Transposon Activity in *Drosophila*. *Cell*, 128(6), 1089–1103.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.043>

## C

**Cogoni, C., & Macino, G. (2000).** Post-transcriptional gene silencing across kingdoms. *Current Opinion in Genetics and Development*, 10(6), 638–643.

URL: [https://doi.org/10.1016/S0959-437X\(00\)00134-9](https://doi.org/10.1016/S0959-437X(00)00134-9)

**Connerty, P., Ahadi, A., & Hutvagner, G. (2016).** RNA Binding Proteins in the miRNA pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1).

URL: <https://doi.org/10.3390/ijms17010031>

**Costa, M. C., Leitão, A. L., & Enguita, F. J. (2012a).** Biogenesis and Mechanism of Action of Small Non-Coding RNAs : Insights from the Point of View of Structural Biology. 10268–10295.

URL: <https://doi.org/10.3390/ijms130810268>

**Costa, M. C., Leitão, A. L., & Enguita, F. J. (2012b).** Biogenesis and mechanism of action of small non-coding RNAs: Insights from the point of view of structural biology. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(8), 10268–10295.

URL: <https://doi.org/10.3390/ijms130810268>

**Creusat, G. (2009).** L ' ARN interférence, l ' émergence d ' une nouvelle stratégie thérapeutique Gaelle Creusat To cite this version : HAL Id : hal-01733336 soutenance et mis à disposition de l ' ensemble de la Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr).

**Creusat, G. (2018).** L ' ARN interférence, l ' émergence d ' une nouvelle stratégie thérapeutique Gaelle Creusat To cite this version : HAL Id : hal-01733336 soutenance et mis à disposition de l ' ensemble de la Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr).

**Cyril Blanchet. (2020).** Dictionnaire thématique de biologie à l'usage des étudiants de médecine (E. Ellipses (ed.)).

## D

**Daniels, S. M., & Gatignol, A. (2012b).** The Multiple Functions of TRBP, at the Hub of Cell Responses to Viruses, Stress, and Cancer. 76(3), 652–666.

URL: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00012-12>

**Davis, M. E., Zuckerman, J. E., Choi, C. H. J., Seligson, D., Tolcher, A., Alabi, C. A., Yen, Y., Heidel, J. D., & Ribas, A. (2010).** Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles. *Nature*, 464(7291), 1067–1070.

URL: <https://doi.org/10.1038/nature08956>

**Dieterle, D. A. (2017).** Securities and exchange commission. *Economics : The Definitive Encyclopedia from Theory to Practice*, 2–4, 363–365.

URL: <https://doi.org/10.7312/schw92626-018>

## **F**

**Fattal, E. (2020).** Stratégies thérapeutiques pour l'application clinique des ARN interférents. *Journal de Bioéthique*, 10(3), 1088–1097.

URL : <https://doi.org/10.1016/j.banm.2020.06.013>

**Fire, A., Xu, S., Montgomery, M. K., Kostas, S. A., Driver, S. E., & Mello, C. C. (1998).** Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. In *Nature* (Vol. 391, Issue 6669, pp. 806–811).

URL : <https://doi.org/10.1038/35888>

**Fontaine, A., Fontaine, A., & Informatique, A. R. N. (2013).** Classification d'ARN codants et d'ARN non-codants To cite this version : Classification d'ARN codants et d'ARN non-codants.

**Friedrich, I., Shir, A., Klein, S., & Levitzki, A. (2004).** RNA molecules as anti-cancer agents. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 14, Issue 4, pp. 223–230).

URL: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2004.04.001>

## **G**

**Giladi, H., Rivkin, L., Felig, Y., Nussbaum, O., & Galun, E. (2003).** Small Interfering RNA Inhibits Hepatitis B Virus Replication in Mice. *Journal of Virology*, 77(5), 769–776.

URL: [https://doi.org/10.1016/S1525-0016\(03\)00244-2](https://doi.org/10.1016/S1525-0016(03)00244-2)

**Gitlin, L., & Andino, R. (2003).** MINIREVIEW Nucleic Acid-Based Immune System : the Antiviral Potential of Mammalian RNA Silencing. *Journal of Virology*, 77(13), 7159–7165.

URL: <https://doi.org/10.1128/JVI.77.13.7159>

## H

**HAMELIN, B. (2017).** Intérêts des ARN interférents comme outils thérapeutiques dans le traitement des cancers Benoît Hamelin To cite this version : HAL Id : dumas-01566125.

**Han, Y. N., Li, Y., Xia, S. Q., Zhang, Y. Y., Zheng, J. H., & Li, W. (2017).** PIWI Proteins and PIWI-Interacting RNA: Emerging Roles in Cancer. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(1), 1–20.

URL: <https://doi.org/10.1159/000484541>

**Husson, J.-C. (2011).** L'ARN interférence : des mécanismes fondamentaux aux applications thérapeutiques (p. 228).

## J

**Jain, R. K. (2013).** Normalizing tumor microenvironment to treat cancer : Bench to bedside to biomarkers. *Journal of Clinical Oncology*, 31(17), 2205–2218.

URL: <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.46.3653>

**Jean-Luc Vonnez. (2005).** Une avancée de l'EPFL. 2005.

**Jinek, M., & Doudna, J. A. (2009).** A three-dimensional view of the molecular machinery of RNA interference. *457*(January), 405–412.

URL: <https://doi.org/10.1038/nature07755>

## K

**Kennerdell, J. R., & Carthew, R. W. (2000).** Heritable gene silencing in *Drosophila* using double-stranded RNA. *17*(JULY), 17–19.

**Kim, Y.-K. (2020).** RNA Therapy: Current Status and Future Potential. *Chonnam Medical Journal*, 56(2), 87.

URL: <https://doi.org/10.4068/cmj.2020.56.2.87>

## L

**Lee, R. C. (1993).** Lee-Et-Al-Microrna-1993. 75, 843–854.

**Liu, X. (2015).** Targeting polo-like kinases: A promising therapeutic approach for cancer treatment. *Translational Oncology*, 8(3), 185–195.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2015.03.010>

## M

**Makarova, J. A., Shkurnikov, M. U., Wicklein, D., Lange, T., Samatov, T. R., Turchinovich, A. A., & Tonevitsky, A. G. (2016).** Intracellular and extracellular microRNA: An update on localization and biological role. In *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* (Vol. 51, Issues 3–4, pp. 33–49).

URL: <https://doi.org/10.1016/j.proghi.2016.06.001>

**Monestier, A. (2017).** Mécanisme de formation du complexe de démarrage de la traduction chez les Archées Auriane Monestier To cite this version: HAL Id: tel-01513313 L'UNIVERSITE PARIS -SACLAY PRÉPARÉE À L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE.

## N

**Nabiha, A., & Ali, M. Ben. (2021).** Mémoire Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master.

**Napoli, C., Lemieux, C., & Jorgensen, R. (1990).** Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into *Petunia* Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes *In trans*. 2(April), 279–289.

## P

**Piatek, M. J., & Werner, A. (2015).** Europe PMC Funders Group Endogenous siRNAs, regulators of internal affairs. 42(4), 1174–1179.

URL: <https://doi.org/10.1042/BST20140068.Endogenous>

## R

**Ramanathan, R. K., Hamburg, S. I., Borad, M. J., Seetharam, M., Kundranda, M. N., Lee, P., Fredlund, P., Gilbert, M., Mast, C., Semple, S. C., Judge, A. D., Crowell, B., Vocila, L., MacLachlan, I., & Northfelt, D. W. (2013).** Abstract LB-289 : A phase I dose escalation study of TKM-080301, a RNAi therapeutic directed against PLK1, in patients with advanced solid tumors. *Cancer Research*, *73*(8\_Supplement), LB-289-LB-289.

URL: <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2013-lb-289>

**Rosbach, M. (2010).** Small Non-Coding RNAs as Novel Therapeutics. *Current Molecular Medicine*, *10*(4), 361–368.

URL: <https://doi.org/10.2174/156652410791317048>

## S

**Santel, A., Aleku, M., Keil, O., Endruschat, J., Esche, V., Fisch, G., Dames, S., Löffler, K., Fechtner, M., Arnold, W., Giese, K., Klippel, A., & Kaufmann, J. (2006).** A novel siRNA-lipoplex technology for RNA interference in the mouse vascular endothelium. *Gene Therapy*, *13*(16), 1222–1234.

URL: <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302777>

**Schultheis, B., Strumberg, D., Santel, A., Vank, C., Gebhardt, F., Keil, O., Lange, C., Giese, K., Kaufmann, J., Khan, M., & Drevs, J. (2014).** First-in-human phase I study of the liposomal RNA interference therapeutic Atu027 in patients with advanced solid tumors. *Journal of Clinical Oncology*, *32*(36), 4141–4148.

URL: <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.55.0376>

**Strumberg, D., Schultheis, B., Traugott, U., Vank, C., Santel, A., Keil, O., Giese, K., Kaufmann, J., & Drevs, J. (2012).** Phase I clinical development of Atu027, a siRNA formulation targeting PKN3 in patients with advanced solid tumors. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *50*(1), 76–78.

URL: <https://doi.org/10.5414/CP50076>

## T

**Tabernero, J., Shapiro, G. I., LoRusso, P. M., Cervantes, A., Schwartz, G. K., Weiss, G. J., Paz-Ares, L., Cho, D. C., Infante, J. R., Alsina, M., Gounder, M. M., Falzone, R., Harrop, J., White, A. C. S., Toudjarska, I., Bumcrot, D., Meyers, R. E., Hinkle, G., Svrzikapa, N., ... Burris, H. A. (2013).** First-in-humans trial of an RNA interference therapeutic targeting VEGF and KSP in cancer patients with liver involvement. *Cancer Discovery*, *3*(4), 406–417.

URL: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0429>

**Tompkins, S. M., Lo, C., Tumpey, T. M., & Epstein, S. L. (2004).** Protection against lethal influenza virus challenge by RNA interference in vivo.

**Treton, X. (2015).** Un futur outil en cancérologie. *Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie & d'Oncologie Digestive*, *35*.

## V

**Voigt, F., Reuter, M., Kasaruho, A., Schulz, E. C., Pillai, R. S., & Barabas, O. (2012).** Crystal structure of the primary piRNA biogenesis factor Zucchini reveals similarity to the bacterial PLD endonuclease *Nuc. Rna*, *18*(12), 2128–2134.

## W

**Wilson, R. C., & Doudna, J. A. (2013).** *Molecular Mechanisms of RNA Interference*.

URL: <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-083012-130404>

## Z

**Zuckerman, J. E., & Davis, M. E. (2015).** Clinical experiences with systemically administered siRNA-based therapeutics in cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, *14*(12), 843–856.

URL: <https://doi.org/10.1038/nrd4685>

**Zuckerman, J. E., Gritli, I., Tolcher, A., Heidel, J. D., Lim, D., Morgan, R., Chmielowski, B., Ribas, A., Davis, M. E., & Yen, Y. (2014).** Correlating animal and human phase Ia/Ib clinical data with CALAA-01, a targeted, polymer-based nanoparticle containing siRNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(31), 11449–11454.

URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.1411393111>



**Année universitaire : 2023-2024**

**Présenté par : BENALILECHE Ouissam**  
**MOUNES Kenza**

**Titre : La thérapie par ARN interférence**

**Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Résumé**

Notre mémoire se consacre à une exploration approfondie de l'ARN interférent (ARNi), mettant en lumière ses mécanismes d'action et ses applications variées, avec un accent particulier sur son potentiel révolutionnaire en thérapie. L'objectif essentiel de cette recherche est de comprendre le rôle crucial de l'ARN interférence, qui est un mécanisme de défense cellulaire naturel pour la régulation de l'expression génique, en tant que mécanisme d'inhibition post-transcriptionnel. Ces ARN interférents sont des molécules d'ARN double brin qui interfèrent avec l'ARN messager cible pour inhiber la traduction de gènes spécifiques. La découverte de ce mécanisme en 1998 a révolutionné le monde de la génétique, de la biologie cellulaire et de la médecine. Les applications thérapeutiques de l'ARNi sont vastes et prometteuses. Elles sont particulièrement pertinentes dans le traitement des maladies génétiques et d'infections virales., L'ARNi a également prouvé son efficacité dans la modulation de la prolifération des cellules cancéreuses et dans la suppression de la réplication virale comme dans le cas de l'hépatite B. Ainsi, divers essais cliniques ont été menés pour évaluer l'efficacité et la sécurité des thérapies basées sur l'ARNi et ont démontré une diminution significative des taux de protéines pathologiques et amélioré les symptômes cliniques des patients. Ces résultats ouvrent la porte vers de nouvelles perspectives pour l'utilisation de l'ARN interférence dans la médecine et pour traiter des maladies qui sont jusqu'à présent difficiles à soigner.

**Mots-clefs :** interférence ARN, ARN double brin, ARN si, régulation de l'expression des gènes, inhibition post-transcriptionnelle, essai clinique.

**Président du jury :** Pr. Alatou Radia (Professeur, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** Dr. Arabet Dallel (MCA, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examineur :** Dr. Derabli Bisma (MCB, Université Constantine 1 Frères Mentouri).

