

# SYSTÈME D'EXPRESSION A549

●●● Pour la production de vecteurs adénoviraux – possibilité d'octroi de licence L-10624

## SURVOL

Les vecteurs adénoviraux sont des outils très importants pour l'administration d'antigènes vaccinaux et l'immunothérapie. Dans ces applications, la séquence E1 du vecteur peut être supprimée pour prévenir la réplication virale. Cependant, les vecteurs adénoviraux dépourvus de la séquence E1 peuvent se recombiner, pendant la production, avec la région E1 de la lignée cellulaire, le plus souvent dans des cellules HEK293. Ces adénovirus répliquatifs contaminent le produit thérapeutique final et peuvent conduire à une réplication indésirable du vecteur dans le patient.

Pour produire des vecteurs adénoviraux dépourvus de la séquence E1 sans possibilité de contamination par des adénovirus répliquatifs, les experts du CNRC ont mis au point la lignée cellulaire **A549** adaptée à des applications de recherche ainsi qu'à la production clinique et commerciale. Ils ont également créé une lignée cellulaire pour produire un adénovirus déficient en protéase, mais pourvu de la région E1.

## TRANSFERT DE TECHNOLOGIE

- Licence non exclusive de R-D ou d'exploitation commerciale
- Accord de R-D pour la création de lignées cellulaires **A549** personnalisées

## APPLICATIONS DE MARCHÉ

- Production de vecteurs adénoviraux non répliquatifs, dépourvus de la séquence E1, pour les vaccins et le traitement du cancer
- Production de vecteurs adénoviraux répliquatifs, déficients en protéase, pour les vaccins et le traitement du cancer
- Production, à l'aide du commutateur cumate, de vecteurs adénoviraux portant un gène toxique

## COMMENT ÇA FONCTIONNE

### Adénovirus dépourvus de la séquence E1 : lignée cellulaire A549-BMAdE1

Les experts en bioprocédés du CNRC ont conçu une lignée cellulaire complémentaire E1, **A549-BMAdE1**, où seuls les fragments E1A et E1B du gène E1 sont présents. Chaque partie est contrôlée par un promoteur séparé, produisant une construction E1 stable qui génère des protéines E1A et E1B pour compléter l'adénovirus déficient. Les experts du CNRC ont conçu la cassette d'expression E1 sans chevauchement de l'ADN pour empêcher la recombinaison homologue d'un élément E1 de la lignée cellulaire avec le vecteur déficient pendant la production, éliminant ainsi la génération de vecteurs adénoviraux répliquatifs indésirables.

### Adénovirus déficients en protéase: lignée cellulaire A549-SF-BMAd-PS

Dans certaines applications où des réactions immunitaires plus fortes sont recherchées, la région E1A du vecteur adénoviral est préservée pour permettre la réplication de l'adénovirus, tandis que la région de la protéase est supprimée de sorte que le vecteur ne se dissémine pas. Pour produire des vecteurs adénoviraux déficients en protéase, les experts en bioprocédés du CNRC ont mis au point la lignée cellulaire **A549-SF-BMAd-PS**, qui contient le gène de la protéase (PS) pour compléter la suppression de ce gène dans le vecteur. Comme la production constitutive de PS est toxique pour la lignée cellulaire, sa synthèse est régulée par le commutateur coumermycine. L'ajout de la coumermycine au milieu de culture cellulaire induit la synthèse de PS.

### Adénovirus pourvus d'un gène toxique : le commutateur cumate

L'ADN des antigènes (gènes) inséré dans les vecteurs adénoviraux pour les applications vaccinales et oncologiques est souvent toxique pour la lignée cellulaire nécessaire à la production du vecteur et peut réduire la production d'adénovirus. Les experts du CNRC ont résolu ce problème en incluant un site de liaison (ou séquence) pour le répresseur du commutateur cumate dans la cassette d'expression du vecteur. Activé pendant la propagation du vecteur, le répresseur empêche la synthèse des gènes toxiques insérés dans le vecteur adénoviral, ce qui réduit les dommages à la lignée cellulaire A549 pendant la production, et augmente ainsi la production d'adénovirus.

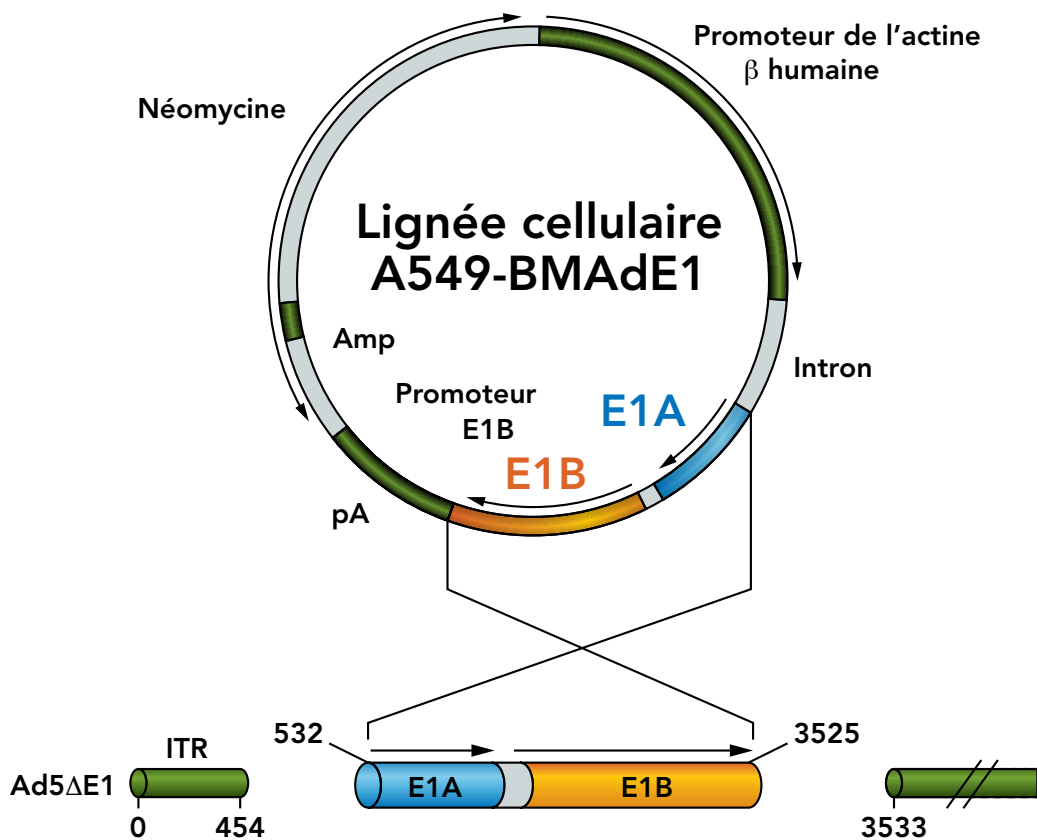


Figure A : Lignée cellulaire A549-BMAdE1 du CNRC

### Production à grande échelle

La production à grande échelle d'une souche concentrée et pure peut être obtenue par transfection, suivie du criblage des plaques positives pour les vecteurs adénoviraux, de deux cycles de purification au moins et de la réinfection de la lignée cellulaire en utilisant les vecteurs adénoviraux purifiés dans la culture en suspension sans sérum.

### BÉNÉFICES

- La lignée cellulaire A549-BMAdE1 exprime les protéines E1 nécessaires à la production de vecteurs adénoviraux dépourvus de la séquence E1.
- Contrairement aux cellules HEK293, la lignée cellulaire A549-BMAdE1 empêche la génération d'adénovirus répliquatifs, facilitant ainsi la production à grande échelle de lots cliniques ou commerciaux.

- La lignée cellulaire A549-SF-BMAd-PS produit des adénovirus répliquatifs et déficients en protéase.
- Pour les vecteurs portant un gène toxique, le commutateur cumate permet une plus grande production d'adénovirus dépourvus de la séquence E1.

### BREVETS

**CNRC dossier 10624 (lignée cellulaire A549)** : Brevets émis au Canada et aux États-Unis

**CNRC dossier 11225/11648 (commutateur cumate et commutateur répresseur)** : Brevets émis au Canada, aux États-Unis et en Europe.

**CNRC dossier 11444 (commutateur couermycine)** : Brevets émis au Canada, aux États-Unis, en Europe, en Australie, en Nouvelle-Zélande et au Japon.

### CONTACT

**Daniel Desmarteaux**  
 Chef, Relations avec les clients  
 514-496-5300  
 Daniel.Desmarteaux@cnrc-nrc.gc.ca

[www.canada.ca/therapeutique-sante-humaine-cnrc](http://www.canada.ca/therapeutique-sante-humaine-cnrc)

© 2019 Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le Conseil national de recherches du Canada.

Papier : No de cat. NR00-000/2019-F  
 ISBN 000-0-000-00000-0

PDF : No de cat. NR00-000/2019-PDF  
 ISBN 000-0-000-00000-0

Juin 2019 • Also available in English