

Chimie et virus adéno-associés, un couple prometteur pour la thérapie génique

Résumé La thérapie génique consiste à introduire un fragment d'ADN dans des cellules afin de corriger ou ralentir la progression d'une maladie, qu'elle soit héréditaire ou acquise. Ce matériel génétique est le plus souvent transporté dans les cellules grâce à un vecteur viral. Parmi les vecteurs viraux, les virus adéno-associés (AAV) sont aujourd'hui considérés comme les outils les plus performants pour le traitement par thérapie génique de maladies génétiques. L'efficacité thérapeutique du transfert de gènes par des AAV, virus non pathogènes, a été validée ces dernières années avec actuellement plus de 175 essais cliniques et trois médicaments qui ont reçu une autorisation de mise sur le marché. Cependant, certaines limitations ont pu être mises en évidence, comme l'utilisation de fortes doses, la transduction non ciblée de certains tissus et la présence d'anticorps neutralisants préexistants. Pour s'affranchir de ces problèmes, chimie et virologie ont été associées pour développer des AAV chimiquement modifiés afin d'améliorer leur action thérapeutique. La stratégie repose sur la création d'une liaison chimique covalente entre un ligand capable de se lier spécifiquement à une cellule cible et la capsid d'un AAV naturel. Ainsi modifié, le virus adéno-associé s'est révélé plus efficace que le virus initial dans le cas du ciblage de cellules hépatiques.

Mots-clés **Thérapie génique, AAV, bioconjugaison, lysine, isothiocyanate.**

Abstract **Chemistry and adeno-associated virus, a promising couple for gene therapy**

The major aim of gene therapy is to introduce a DNA fragment into target cells in order to treat, or even cure, genetic or acquired disorders. The most popular tools for gene transfer are probably those based on viral vectors. Among them, adeno-associated viral vectors (AAV) are considered nowadays the most efficient candidates for gene therapy of genetic disorders. AAV are non-pathogenic viruses, and their therapeutic efficacy has been extensively proved in more than 175 clinical trials leading to the marketing authorization of three drugs up to date. Nonetheless, these studies also highlighted some limitations of AAV vectors, such as required high doses to achieve therapeutic efficacy, detected transduction also in off-target tissues, and pre-existing neutralizing antibodies frequently detected in patients. To overcome these barriers, chemistry and biology have been combined to develop a novel generation of AAV vectors with improved therapeutic index. This strategy is based on linking, covalently, a ligand with desired targeting properties to a given cell type to the capsid of a natural AAV vector. Using this approach, chemically modified AAVs are more efficient to transduce hepatocytes than parental vectors.

Keywords **Gene therapy, AAV, bioconjugation, lysine, isothiocyanate.**

« Si on considère le but d'un médicament comme la restauration d'une fonction particulière du corps, alors l'ADN doit être tenu comme le médicament absolu » (H. Vasken Aposhian, 1969).

La thérapie génique en quelques mots

De façon basique, la thérapie génique est une stratégie thérapeutique qui consiste à introduire de l'ADN dans des cellules cibles pour traiter ou prévenir des maladies génétiques, qu'elles soient héréditaires ou acquises. En effet, lorsqu'un gène est défectueux, toute la chaîne de fabrication des protéines est touchée. Ainsi, l'ADN médicament (ou gène d'intérêt) pourra être un gène fonctionnel qui se substituera à celui défectueux ou totalement absent de la cellule, ou un gène suicide qui induira la mort cellulaire (comme traitement du cancer par exemple). L'enjeu de la thérapie génique repose ainsi sur l'introduction d'un fragment d'ADN fonctionnel dans le noyau d'une cellule afin d'y transférer la séquence génétique appropriée qui assurera la production d'une protéine cible. Un intérêt majeur de la thérapie génique est la durabilité des effets sans nécessiter d'interventions répétées contrairement aux thérapies conventionnelles. On différenciera la thérapie génique *in vivo*, où le gène thérapeutique est injecté aux patients, de la thérapie *ex vivo*, où les cellules

du patient sont génétiquement modifiées en laboratoire avant d'être réinjectées [1].

C'est dans les années 1960 que le concept de thérapie génique est abordé pour la première fois, mais sans possibilité d'exploitation. Il faudra attendre 1989 avant la première utilisation de l'ADN comme agent thérapeutique avec un premier essai clinique de thérapie génique sur des patients atteints de mélanomes avancés. Les chercheurs ont eu recours à l'injection de lymphocytes T génétiquement modifiés afin d'infiltrer la tumeur et de provoquer une activité antitumorale [2]. Le premier véritable succès de thérapie génique, dans les années 2000, a concerné le traitement de huit enfants atteints d'immunodéficience sévère (bébé-bulle) qui ont pu être complètement guéris [3]. Pour cela, une équipe de l'hôpital Necker avait mis au point un essai de thérapie génique en intégrant un transgène sain dans des cellules progénitrices hématopoïétiques CD34+, à l'aide d'un rétrovirus utilisé comme vecteur. Au départ, cette approche a donc été conçue pour suppléer un gène défectueux en cas de maladie monogénique (i.e. liée à la dysfonction d'un seul gène). Au cours de ces dernières années, l'évolution fulgurante des technologies et des connaissances a permis d'élargir les stratégies possibles et d'étendre l'utilisation de la thérapie génique à de nombreuses indications. Aujourd'hui, le marché de la thérapie génique est en plein essor et les modalités et les

indications se révèlent beaucoup plus larges que les maladies monogéniques, avec 67 % des essais cliniques qui concernent le traitement de cancers (figure 1) [4]. Depuis 1990, au total environ 3 000 essais cliniques en thérapie génique ont été enregistrés, avec une nette accélération depuis les années 2010. Ainsi en 2019, onze produits de thérapie génique ont une autorisation de mise sur le marché et trente-deux produits sont en phase clinique III (figure 1) [4].

Depuis quelques années, les modalités de thérapie génique se sont beaucoup diversifiées, reposant sur différentes approches correctives ou sur l'utilisation de vecteurs. Néanmoins, historiquement, les gènes thérapeutiques ont été délivrés aux cellules cibles directement sous forme d'ADN. L'ADN est une molécule polyanionique de masse moléculaire très élevée (entre 10^6 et 4×10^9 daltons), que rien ne prédispose à traverser les membranes cellulaires qui possèdent une bicouche lipidique extérieure chargée négativement due aux protéines membranaires. L'introduction de l'ADN, ou « gène médicament », au cœur de la cellule doit donc se faire à l'aide d'un vecteur qui permettra à l'agent thérapeutique de franchir les barrières biologiques sans dégradation

du matériel génétique. Classiquement, deux types de vecteur sont utilisés en thérapie génique : les vecteurs viraux et non viraux. Dans le cadre de cet article, nous nous intéresserons uniquement aux vecteurs viraux, qui sont impliqués dans plus de 75 % des essais cliniques de thérapie génique [5]. En effet, les vecteurs viraux vont assurer le transport de l'ADN médicament (transgène) en exploitant leur propriété exceptionnelle, à savoir leur capacité à infecter les cellules cibles.

La place des virus adéno-associés en thérapie génique

Au cours des dernières décennies, la thérapie génique à médiation virale a été utilisée dans des essais cliniques pour traiter des maladies cardiovasculaires, musculaires, métaboliques, neurologiques, hématologiques et ophtalmologiques, ainsi que des troubles infectieux et des cancers. Les vecteurs viraux les plus efficaces qui ressortent des études précliniques et cliniques sont les adénovirus, les rétrovirus, les lentivirus et les virus adéno-associés (AAV) (figure 2) [6].

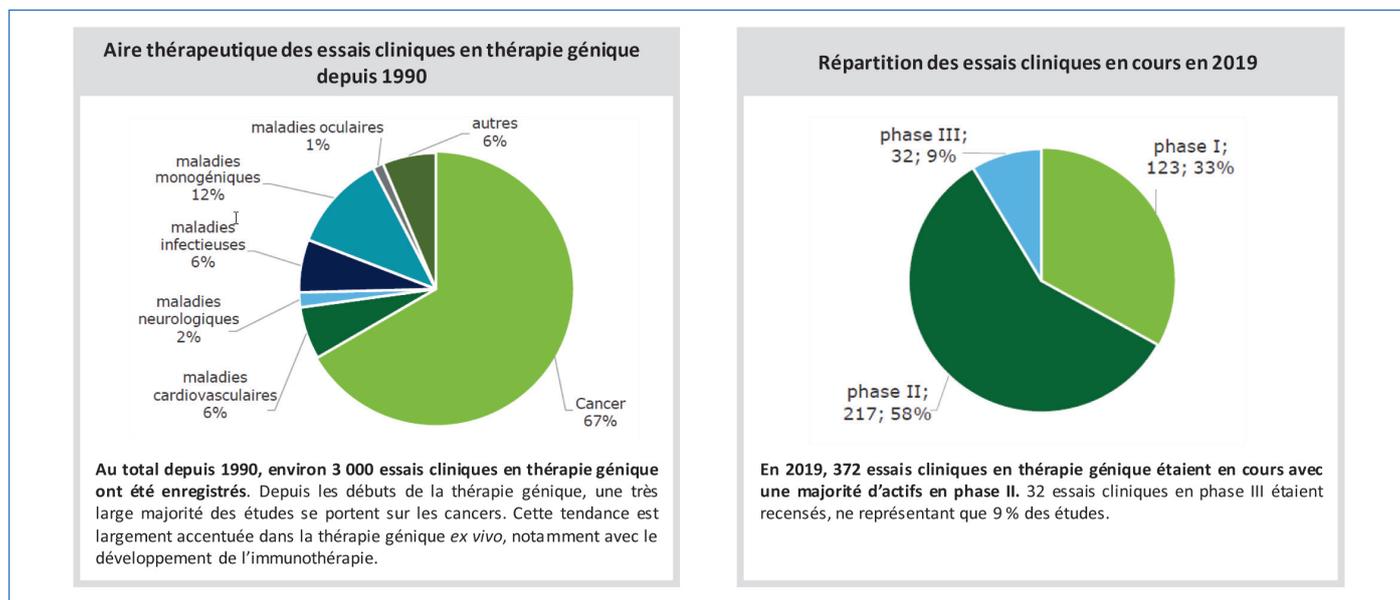


Figure 1 - Le pipeline clinique de la thérapie génique.

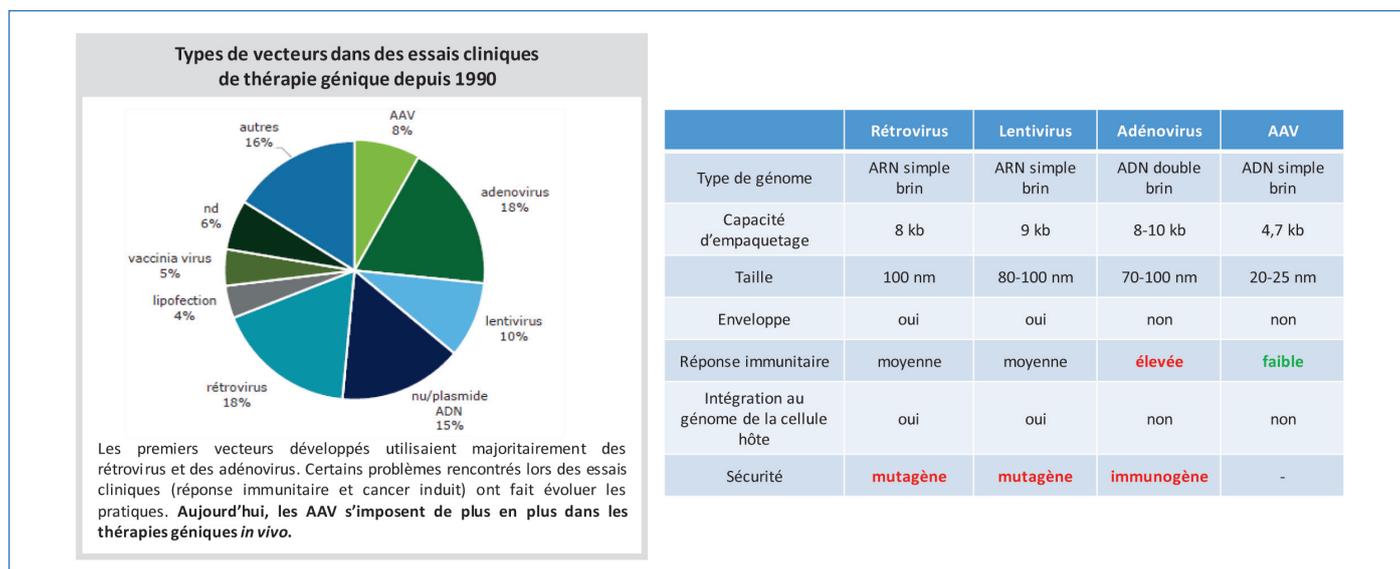


Figure 2 - Types de vecteurs utilisés en thérapie génique.

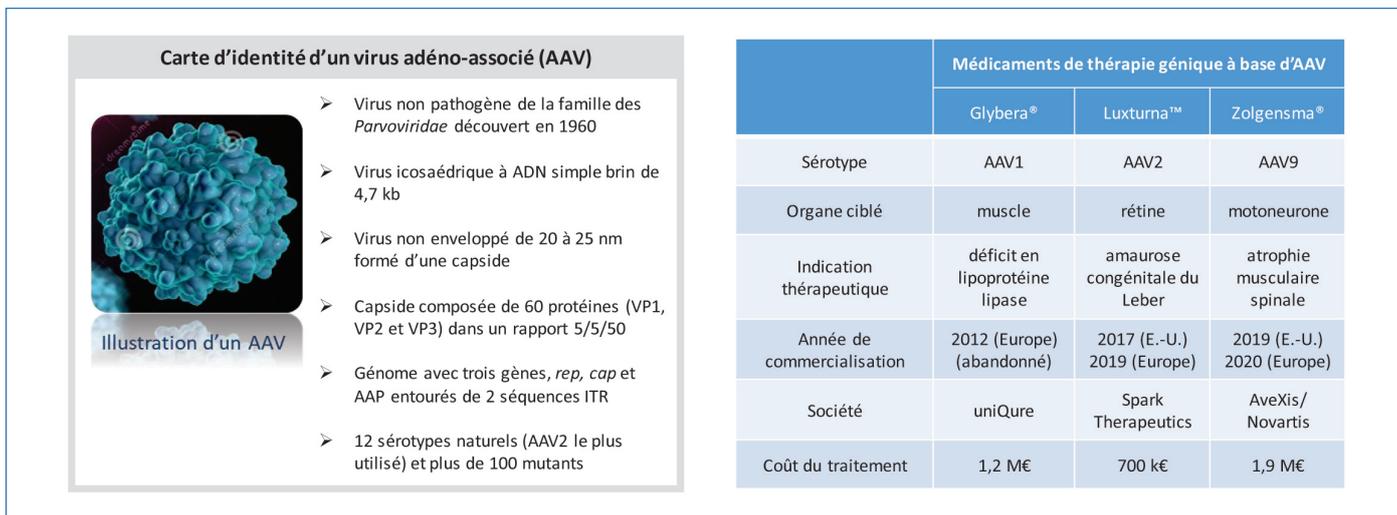


Figure 3 - Caractéristiques d'un virus adéno-associé et médicaments associés.

Aujourd'hui, les rétrovirus et lentivirus sont les vecteurs de choix dans les essais cliniques pour la thérapie génique *ex vivo*, alors que les AAV, objets de cette étude, sont bien établis dans les essais cliniques pour la thérapie génique *in vivo* [7].

Le développement des AAV a fortement augmenté au cours des dernières années et peut s'expliquer par des caractéristiques uniques qui sont bénéfiques pour des applications cliniques (figure 3). En effet, le vecteur AAV présente notamment un tropisme pour une grande variété de tissus qui sera fonction du sérotipe utilisé, une faible immunogénicité et une facilité de production. De plus, il est non pathogène et non intégratif, c'est-à-dire que le gène thérapeutique reste dans la cellule de l'hôte, mais sans s'insérer dans son génome, s'exprime pendant la durée de vie de la cellule et disparaît avec la mort de celle-ci [8].

On compte ainsi en 2019 quelques 175 essais cliniques dans le monde utilisant les AAV comme agent thérapeutique. En 2012, le premier produit de thérapie génique à base d'AAV, le Glybera®, a été approuvé en Europe pour les patients atteints de déficit en lipoprotéine lipase, qui est une enzyme permettant la dégradation des triglycérides (retiré du marché depuis à cause d'un prix prohibitif et des difficultés de prescription) [9]. Le Luxturna™, qui traite les patients atteints d'amaurose congénitale du Leber (maladie rétinienne), a été approuvé par la FDA en 2017 et en Europe en 2019 [10]. Enfin, très récemment, le médicament de thérapie génique Zolgensma® a eu une autorisation aux États-Unis pour traiter l'atrophie musculaire spinale, une maladie neuromusculaire [11]. En outre, la FDA a publié un rapport en 2019 prédisant que dix à vingt nouveaux produits de thérapie cellulaire et génique seront approuvés par an d'ici 2025. Ce rythme est sans précédent pour l'approbation de nouveaux médicaments, étant donné que les thérapies à base de petites molécules mettent généralement quinze ans à être validées. L'inconvénient majeur étant actuellement le coût des traitements qui peut atteindre jusqu'à 1,9 million d'euros, mais pour théoriquement une seule et unique injection qui permet de guérir à vie le patient.

Malgré tous les points positifs de l'utilisation des AAV comme vecteurs viraux, outre le prix du traitement, certaines limites ont été mises en évidence lors de différents essais cliniques [12]. Tout d'abord, aucun des AAV ne possède à l'heure actuelle un tropisme exclusif pour un organe ou un tissu

donné ; le risque d'infecter un organe non ciblé n'est donc pas négligeable. Cela implique l'administration de fortes doses pouvant entraîner une immuno-toxicité et activer une réponse immunitaire conduisant à l'élimination des cellules transduites [13]. De surcroît, une grande partie de la population a déjà été infectée par des AAV et possède donc des anticorps anti-AAV neutralisants, ce qui l'exclut des protocoles expérimentaux [14].

Pour répondre aux challenges de ciblage et d'interactions avec les anticorps neutralisants, des stratégies d'ingénierie ont été développées afin d'augmenter la variété des sérotypes d'AAV, et cela en modifiant la capsid (capsule protéique qui enveloppe le matériel génétique du virus) ou l'expression du transgène [15]. Les modifications génétiques des AAV sont potentiellement infinies et il y a maintenant de nombreuses bibliothèques d'AAV auxquelles sont associés des systèmes de criblage *in silico*, *in vitro* et *in vivo* afin d'obtenir le meilleur candidat vecteur pour l'indication choisie [16]. Cependant, si ces stratégies ont permis l'obtention de résultats prometteurs lors d'essais cliniques de phase I/II avec une augmentation de l'efficacité biologique, aucune n'a montré une réelle avancée thérapeutique. De plus, chaque nouveau sérotipe nécessite la mise au point d'un nouveau processus de développement, de bonnes pratiques de fabrication et de purification, ce qui est lourd et coûteux.

Une autre façon de répondre à cette problématique est de concevoir des AAV chimiquement modifiés sans qu'il soit nécessaire de modifier les protéines de la capsid d'AAV naturels.

L'importance de la chimie pour fonctionnaliser les AAV

L'idée que nous avons développée entre nos deux laboratoires (UMR INSERM 1089 et UMR CNRS 6230) repose sur la bioconjugaison de molécules chimiques sur les résidus d'acides aminés présents à la surface de la capsid d'AAV natifs (figure 4) [17].

Parmi les conséquences souhaitées, les particules virales modifiées pourraient favoriser la transduction spécifique de l'organe ou des tissus ciblés et également présenter un avantage fonctionnel vis-à-vis de facteurs neutralisants. L'avantage majeur de fonctionnaliser un AAV par synthèse chimique par opposition à la production d'AAV modifiés par

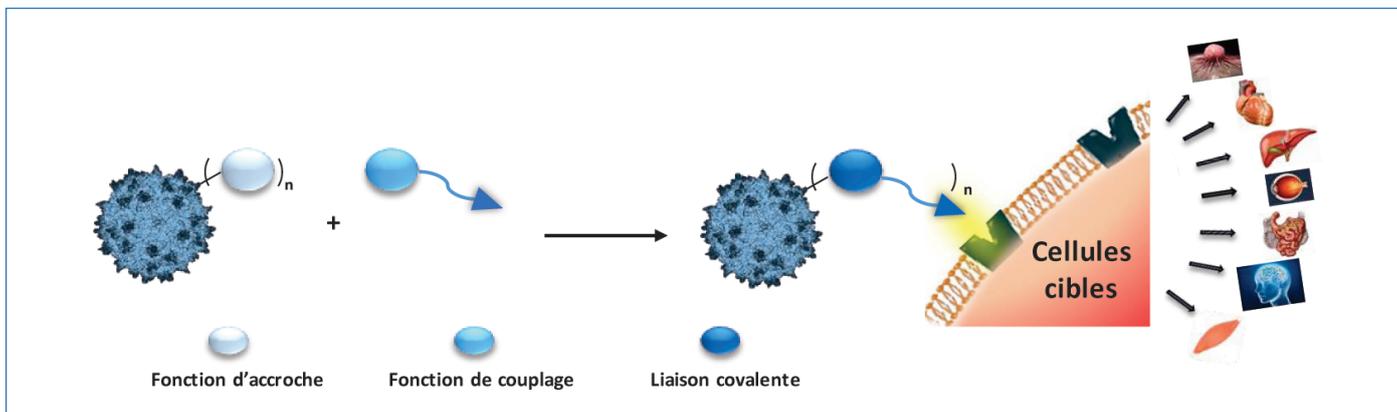


Figure 4 - Principe de la technologie développée.

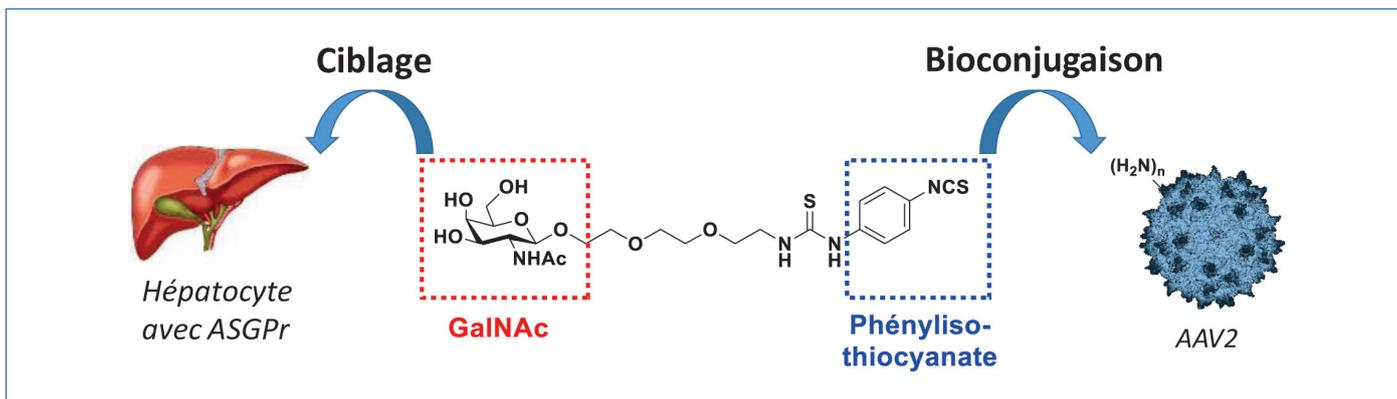


Figure 5 - Ciblage et bioconjugaison d'un ligand.

des outils de génétique moléculaire est la possibilité d'introduire sur une même capsid divers ligands tels que des polymères ou molécules synthétiques, des peptides, des dérivés glucidiques, ou encore des lipides ne pouvant pas être incorporés génétiquement. Aujourd'hui, très peu d'études ont exploré la possibilité de modifier chimiquement la capsid d'AAV natifs, et aucune n'avait pour objectif d'augmenter la sélectivité pour une cible [18-19]. Néanmoins, quelques exemples montrent la faisabilité de greffer une molécule chimique sur un AAV en utilisant la lysine comme résidu d'acides aminés [20].

Parmi les différents sérotypes d'AAV connus, le plus étudié et utilisé est le sérotype 2 (AAV2). En effet, l'AAV2 est capable d'infecter *in vivo* une grande variété de cellules chez le mammifère comme les cellules musculaires, les neurones ou les hépatocytes, ce qui explique en partie sa popularité. C'est pourquoi, pour valider notre stratégie d'AAV chimiquement modifiés, nous nous sommes focalisés sur les AAV2 et les hépatocytes pour les maladies génétiques du foie (hémophilie, hypercholestérolémie ou troubles métaboliques par exemple). L'idée est de cibler un récepteur particulièrement exprimé au niveau des hépatocytes, le récepteur de l'asialoglycoprotéine (ASGPr), qui sera une passerelle d'entrée idéale pour la thérapie ciblée. Ce récepteur est une lectine trimérique qui se lie spécifiquement au motif N-acétylgalactosamine (GalNAc) avec une bonne affinité ($K_d = 40,4 \pm 9,5 \mu\text{M}$) [21]. Nous avons ainsi conçu un ligand bifonctionnel comportant à une extrémité le motif N-acétylgalactosamine pour l'interaction avec les ASGPr, et à l'autre une fonction chimique réactive capable de former une liaison covalente avec les résidus de lysine présents en grand nombre à la surface des capsides

des AAV2. Notre choix s'est porté sur une fonction phénylthiocyanate qui permet un couplage efficace avec les amines primaires des résidus de lysine de la capsid en formant une fonction thiourée (figure 5).

Pour cette étude, nous avons préparé deux ligands GalNAc (figure 6), l'un avec la fonction réactive isothiocyanate pour effectuer le couplage (composé 1), et l'autre sans fonction d'accroche (composé 2) afin de valider la formation d'une liaison covalente et exclure l'adsorption physique de la molécule à la surface de l'AAV2. La synthèse de l'arylisothiocyanate 1 se fait par hydrogénation pallado-catalysée de l'azoture 3 en présence d'APTS, puis hydrolyse des acétates par passage sur résine basique [22]. Le composé 1 a été obtenu avec un rendement de 85 % en faisant réagir le composé 4 avec un excès de *p*-phénylène diisothiocyanate. Le composé témoin 2 est préparé en deux étapes après glycosylation de l'oxazole 5 avec du 2-(2-éthoxyéthoxy)éthanol suivie d'une déprotection des alcools (figure 6). Le composé mannose 6 est préparé de la même façon que le ligand GalNAc 1 et servira de contrôle négatif dans l'étude de ciblage des hépatocytes (voir plus loin, figure 9).

L'étape suivante, qui a nécessité la mise au point des conditions optimales de tampon, température et pH pour la bioconjugaison à la capsid, consiste à coupler le ligand sur l'AAV2 (figure 7). Une analyse par « dot blot » utilisant l'anticorps A20, qui reconnaît les protéines de la capsid, montre clairement (point noir positif) que les particules d'AAV ne sont pas dénaturées après la réaction chimique et les étapes de dialyse, et donc que les différents traitements ne sont pas délétères pour le matériel biologique. De plus, cette analyse confirme le couplage covalent du composé 1 sur les

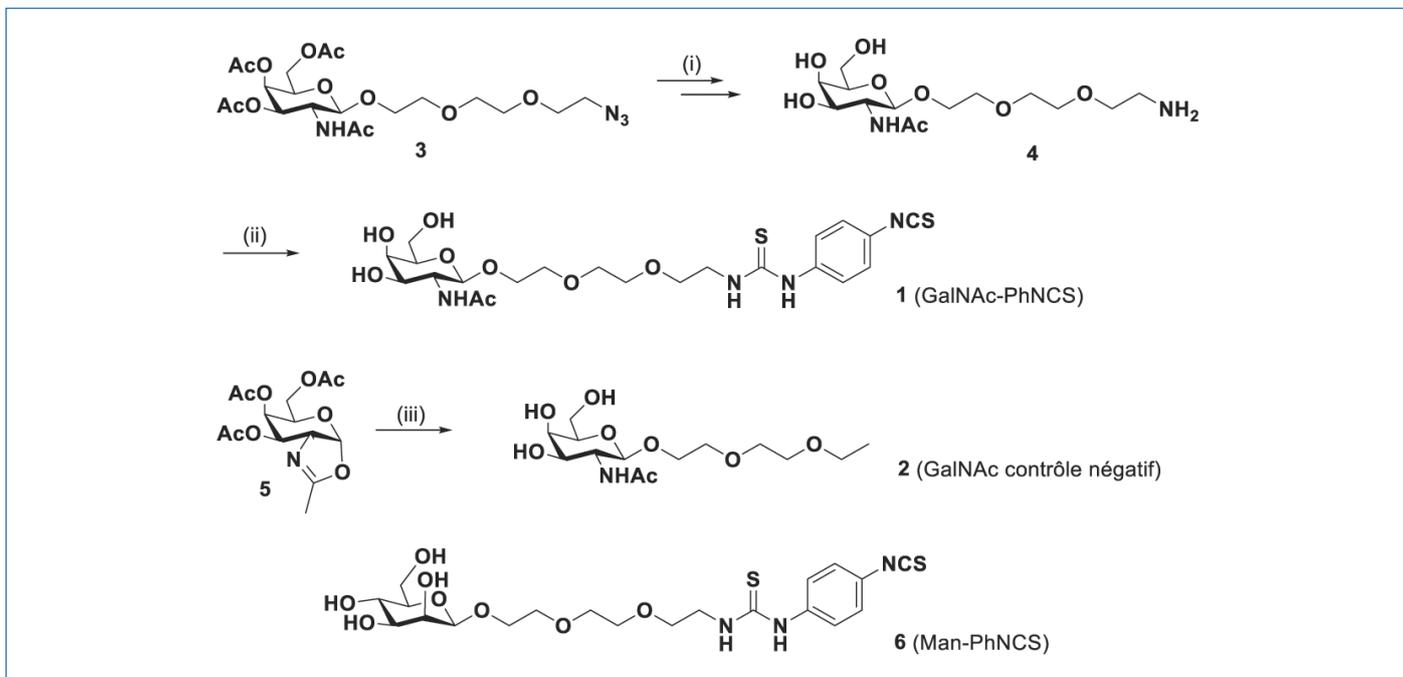


Figure 6 - Synthèse des ligands **1**, **2** et **6**. (i) MeOH, APTS, H₂, Pd-C (100 %) puis MeOH/H₂O, IRN78 (77 %) ; (ii) DMF, *p*-phénylène diisothiocyanate (85 %) ; (iii) DCM, 2-(2-éthoxyéthoxy)éthanol, tamis moléculaire (73 %), puis MeOH/H₂O, IRN78 (77 %).

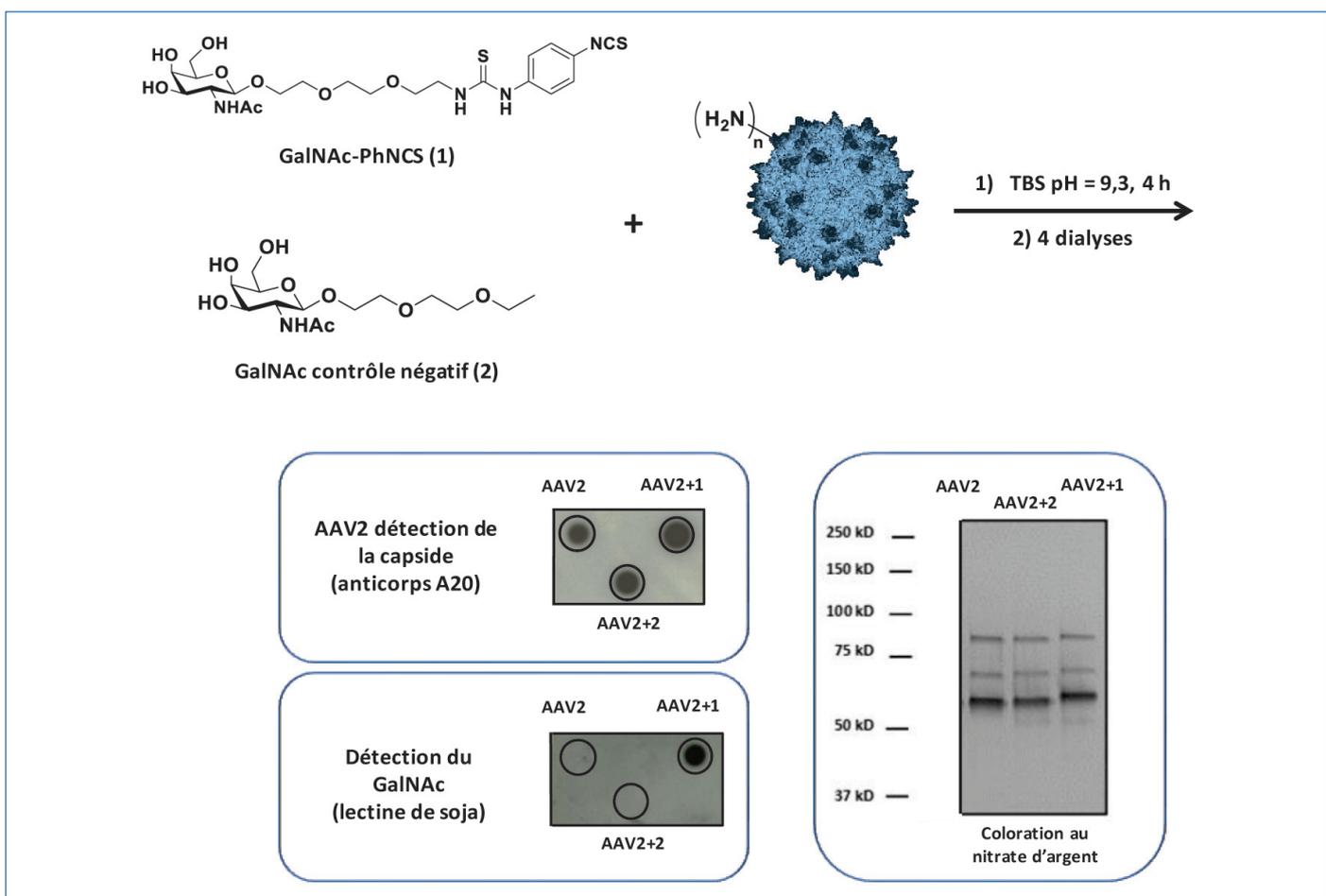
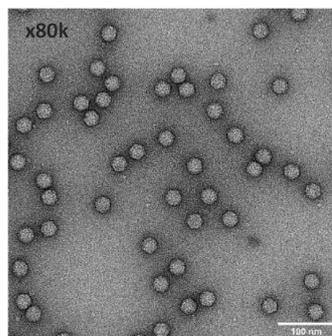


Figure 7 - Couplage des ligands sur un AAV.

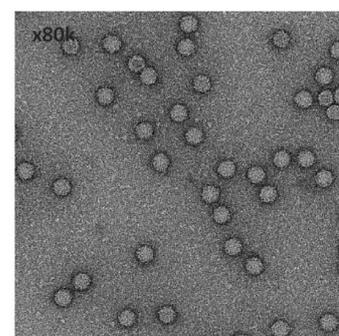
protéines de la capsid (par comparaison avec le composé **2** qui est l'analogue sans la fonction isothiocyanate réactive). En effet, en utilisant la lectine de soja qui se lie sélectivement aux résidus GalNAc, nous avons un point positif uniquement avec le composé **1**, qui est donc fixé de manière covalente et non

physiquement adsorbé à l'AAV2 [23]. Pour évaluer la pureté et l'intégrité de l'AAV2 avant et après couplage, une dénaturation du virus suivie d'une électrophorèse capillaire et d'une coloration au nitrate d'argent a également été effectuée. On observe clairement les trois bandes protéiques (VP pour

	Taille DLS (nm)
AAV2	26,2 (99,4 %)
AAV2 + 1	28,0 (92,1 %)
AAV2 + 2	26,0 (96,3 %)



AAV2



AAV2 + 1

Figure 8 - Aspect des AAV avant et après couplage.

« viral protein ») constituant VP 1, 2 et 3 avec la bonne intensité (rapport 1/1/10) et avec un poids moléculaire de chaque VP qui semble plus important que l'AAV non fonctionnalisé.

Afin de vérifier que les particules virales n'étaient pas agrégées après fonctionnalisation chimique, la taille et la dispersion des AAV2 modifiés et non modifiés ont été mesurées par diffusion dynamique de la lumière (DLS) et visualisées par microscopie électronique à transmission. Plus de 90 % des AAV2 + 1 ont un diamètre de 26 à 29 nm, ce qui indique l'absence d'agrégation après l'étape de couplage (figure 8).

Bien évidemment, le point crucial est de savoir si une fois fonctionnalisé, l'AAV est toujours apte à pénétrer dans la cellule et à libérer son gène médicament, et surtout de façon plus efficace qu'un AAV natif. Pour cela, l'infectiosité des AAV2 + 1, contenant le gène de la GFP (protéine qui fluoresce en vert), a été évaluée *in vitro* sur des hépatocytes primaires de souris (l'AAV2 natif a un très faible niveau de transduction sur ce type de cellules) (figure 9) [24]. Afin de montrer que l'internalisation cellulaire se fait par reconnaissance du GalNAc par les récepteurs aux asialoglycoprotéines (ASGPr), nous avons modifié chimiquement des AAV2 avec un ligand porteur d'un sucre mannose (composé 6, figure 6) qui n'est pas reconnu par les hépatocytes.

Les résultats montrent que la capsid d'AAV2 greffée avec du GalNAc (composé 1) induit un effet important sur la transduction. Le pourcentage de cellules positives pour la GFP a augmenté de façon significative, passant de 5 % avec l'AAV2 natif à 28 % avec l'AAV2 + 1. Le pourcentage d'environ 3 %

de cellules positives à la GFP obtenu avec AAV2 + 6 indique sans ambiguïté que la plus grande efficacité de transduction n'est pas liée à un changement physico-chimique de la surface de l'AAV2, mais qu'elle a été médiée par les récepteurs aux ASGPr. Ces données montrent donc qu'il est possible de modifier chimiquement un AAV tout en augmentant son efficacité de transduction cellulaire.

Le verdict de l'efficacité *in vivo*...

Pour tester *in vivo* l'efficacité de transduction et l'immunogénicité des AAV2 chimiquement modifiés, nous avons injecté à des souris soit de l'AAV2 non modifié portant le transgène GFP, soit l'AAV2 + 1. Contrairement à l'étude *in vitro*, les niveaux d'expression de la GFP dans le foie se sont avérés sensiblement équivalents entre le groupe témoin et les souris traitées avec l'AAV2 + 1. En revanche, il y a une très grande différence d'immunogénicité entre les deux populations. En effet, pour étudier l'immunogénicité des vecteurs modifiés ou non, la quantité d'anticorps contre l'AAV2 a été mesurée dans le sérum de souris vingt-et-un jours après l'administration. Les résultats montrent clairement qu'avec les AAV2 modifiés, il y a une réduction drastique de la formation d'anticorps, probablement due à un effet de protection de la surface de la capsid par les ligands greffés. Ces résultats sont très prometteurs et ouvrent la voie à une réadministration des vecteurs, ce qui n'est pas possible actuellement. En effet, comme déjà évoqué, la présence d'anticorps neutralisants contre les AAV dans la population humaine est l'un des principaux obstacles à la thérapie génique à base de ce type de vecteur. Aujourd'hui, certains patients sont exclus des essais cliniques et les anticorps générés lors de l'administration d'AAV bloquent la possibilité de réadministration. Il existe donc un réel besoin de surmonter cette limitation.

La technique de bioconjugaison développée ici peut présenter un grand intérêt pour la modification de la capsid de différents sérotypes d'AAV. Pour tester cette hypothèse, nous avons effectué les mêmes types d'expériences que précédemment avec des AAV8. L'efficacité de couplage, de transduction et l'immunogénicité des AAV modifiés sont similaires à ce que nous avons observé avec l'AAV2-GalNac.

Ainsi, par l'action synergique de nos deux laboratoires (INSERM et CNRS), nous avons mis au point une biotechnologie innovante qui nous permet de modifier chimiquement la surface d'AAV avec des ligands spécifiques. Les résidus des lysines de la capsid de l'AAV ont été fonctionnalisés

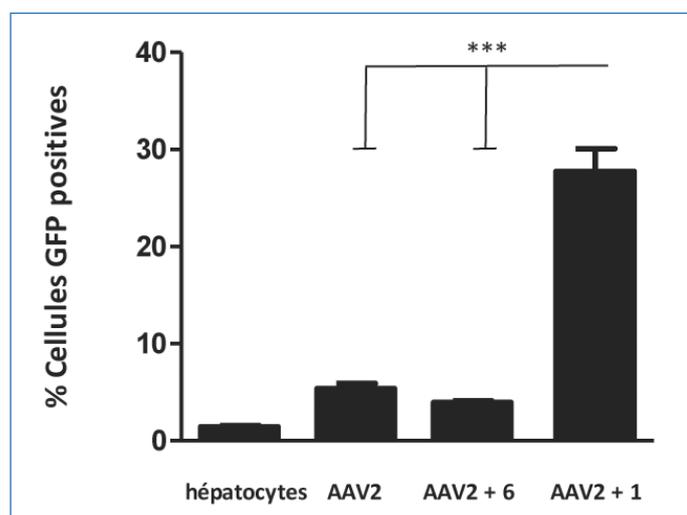


Figure 9 - Infectiosité des AAV sur des hépatocytes avant et après couplage.

efficacement par couplage covalent de ligands sans qu'il soit nécessaire de recourir à la modification génétique des protéines de la capsidie comme c'est classiquement fait actuellement. De plus, l'étape de bioconjugaison décrite ici est réalisée à partir d'AAV naturels, ce qui signifie qu'elle n'interfère pas avec les protocoles complexes et optimisés de production et de purification de ces virus. La stratégie développée sera d'un grand intérêt pour affiner le tropisme des AAV, et pour améliorer le ciblage des cellules dans des tissus spécifiques et l'efficacité de transduction des gènes. Un autre point positif est la diminution de l'interaction avec les anticorps neutralisants, qui sont des problèmes de longue date limitant la portée des AAV dans les essais cliniques. Après cette étude de preuve de concept, nous allons modifier chimiquement des AAV porteurs d'un gène pertinent sur le plan thérapeutique pour être testés dans des modèles animaux de maladie et finalement pour des applications cliniques.

[1] X.M. Anguela, K.A. High, Entering the modern era of gene therapy, *Annu. Rev. Med.*, **2019**, *70*, p. 273-288.
 [2] S.A. Rosenberg *et al.*, Gene transfer into humans: immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by retroviral gene transduction, *N. Engl. J. Med.*, **1990**, *323*, p. 570-578.
 [3] M. Cavazzana-Calvo *et al.*, Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease, *Science*, **2000**, *288*, p. 669-672.
 [4] S.L. Ginn, A.K. Amaya, I.E. Alexander, M. Edelstein, M.R. Abedi, Gene therapy clinical trials worldwide to 2017: an update, *J. Gene Med.*, **2018**, *20*, e3015.
 [5] K. Lundstrom, Viral vectors in gene therapy, *Diseases*, **2018**, *6*, p. 1-20.
 [6] M.A. Kotterman, T.W. Chalberg, D.V. Schaffer, Viral vectors for gene therapy: translational and clinical outlook, *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, **2015**, *17*, p. 63-89.
 [7] W.S.M. Wold, K. Toth, Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy, *Curr. Gene Ther.*, **2013**, *13*, p. 421-433.
 [8] M.F. Naso, B. Tomkowicz, W.L. Perry, W.R. Strohl, Adeno-associated virus (AAV) as a vector for gene therapy, *BioDrugs*, **2017**, *31*, p. 317-334.
 [9] S. Ylä-Herttuala, Endgame: Glybera finally recommended for approval as the first gene therapy drug in the European Union, *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.*, **2012**, *20*, p. 1831-1832.
 [10] C.E. Dunbar *et al.*, Gene therapy comes of age, *Science*, **2018**, *359*, eaa4672.
 [11] A.M. Keeler, T.R. Flotte, Recombinant adeno-associated virus gene therapy in light of Luxturna (and Zolgensma and Glybera): where are we, and how did we get here?, *Annu. Rev. Virol.*, **2019**, *6*, p. 601-621.

[12] C. Zincarelli, S. Soltys, G. Rengo, J.E. Rabinowitz, Analysis of AAV serotypes 1-9 mediated gene expression and tropism in mice after systemic injection, *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.*, **2008**, *16*, p. 1073-1080.
 [13] H.C. Verdera, K. Kuranda, F. Mingozzi, AAV vector immunogenicity in humans: a long journey to successful gene transfer, *Mol. Ther.*, **2020**, *28*, p. 723-746.
 [14] E. Basner-Tschakarjan, F. Mingozzi, Cell-mediated immunity to AAV vectors, evolving concepts and potential solutions, *Front. Immunol.*, **2014**, *5*, p. 1-10.
 [15] H. Büning, A. Huber, L. Zhang, N. Meumann, U. Hacker, Engineering the AAV capsid to optimize vector-host-interactions, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **2015**, *24*, p. 94-104.
 [16] D. Wang, P.W.L. Tai, G. Gao, Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2019**, *18*, p. 358-378.
 [17] M. Mével *et al.*, Chemical modification of the adeno-associated virus capsid to improve gene delivery, *Chem. Sci.*, **2020**, *11*, p. 1122-1131.
 [18] C. Zhang *et al.*, Development of next generation adeno-associated viral vectors capable of selective tropism and efficient gene delivery, *Biomaterials*, **2016**, *80*, p. 134-145.
 [19] J.S. Chandran *et al.*, Site specific modification of adeno-associated virus enables both fluorescent imaging of viral particles and characterization of the capsid interactome, *Sci. Rep.*, **2017**, *7*, p. 14766-14782.
 [20] J.W. Seo *et al.*, Positron emission tomography imaging of novel AAV capsids maps rapid brain accumulation, *Nat. Commun.*, **2020**, *11*, p. 2102-2114.
 [21] R. Rouet *et al.*, Receptor-mediated delivery of CRISPR-Cas9 endonuclease for cell-type-specific gene editing, *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, *140*, p. 6596-6603.
 [22] P.C.N. Rensen, S.H. van Leeuwen, L.A.J.M. Sliedregt, T.J.C. van Berkel, E.A.L. Biessen, Design and synthesis of novel N-acetylgalactosamine-terminated glycolipids for targeting of lipoproteins to the hepatic asialoglycoprotein receptor, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, p. 5798-5808.
 [23] R. Zhou *et al.*, GalNAc-specific soybean lectin inhibits HIV infection of macrophages through induction of antiviral factors, *J. Virol.*, **2018**, *92*, p. 1-12.
 [24] H. Nakai *et al.*, Unrestricted hepatocyte transduction with adeno-associated virus serotype 8 vectors in mice, *J. Virol.*, **2005**, *79*, p. 214-224.

Mathieu MÉVEL^{a,b}, ingénieur, **Sébastien GOUIN**^a, directeur de recherche au CNRS, **Eduard AYUSO**^b, chargé de recherche à l'INSERM, et **David DENIAUD**^{a*}, professeur des universités.

^aUniversité de Nantes, CNRS, CEISAM UMR 6230.

^bUniversité de Nantes, INSERM, UMR 1089, CHU de Nantes.

*david.deniaud@univ-nantes.fr

Retrouvez-nous en ligne !
lactualitechimique.org
 Archives, actus, photothèque...