



# SYNTHESE MICROBIOLOGIQUE D'OLIGOSACCHARIDES PRECURSEURS DE VACCINS ANTICANCEREUX

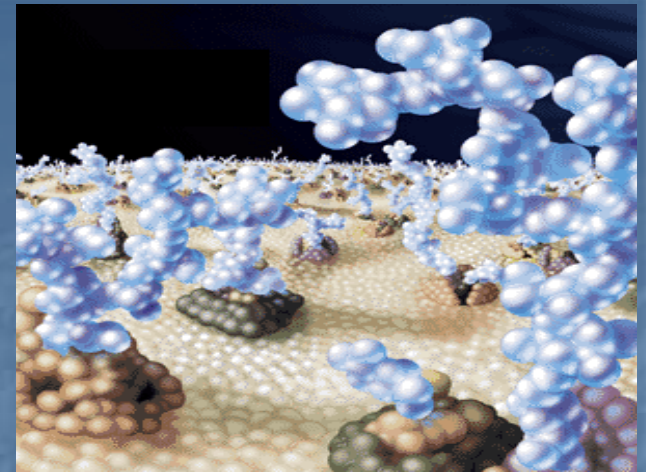
Présenté par Mialy RANDRIANTSOA

Directeurs de thèse : Sophie DROUILLARD

Eric SAMAIN

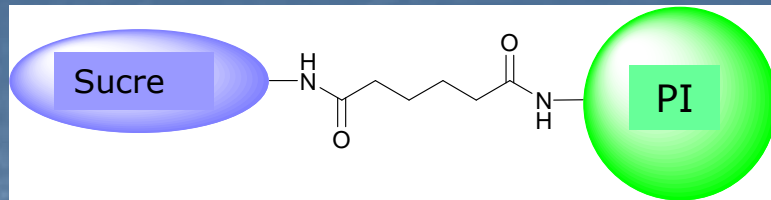


- Oligosaccharides impliqués dans des mécanismes de reconnaissance de nombreux processus biologiques (embryogenèse, infection ...)



- L'oncogenèse s'associe à une abberation de la glycosylation des protéines et lipides membranaires des cellules tumorales
- Surexpression des Antigènes Associés aux Tumeurs (TAA) oligosaccharidiques
- Antigénicité et immunogénicité des TAA

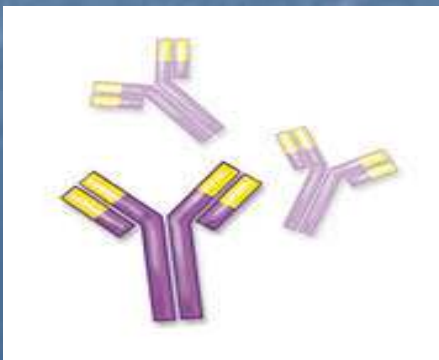
# Principe de l'immunothérapie



Vaccin à base d'oligosaccharide

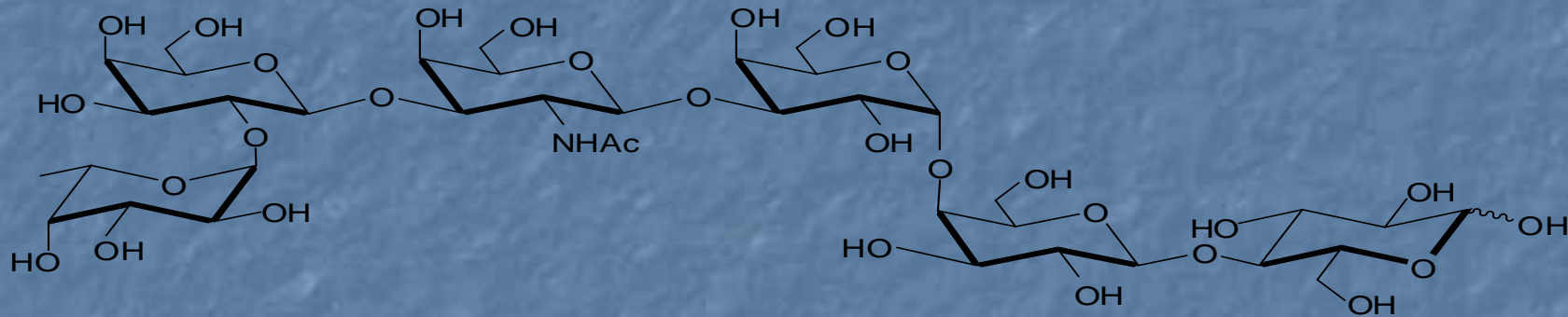
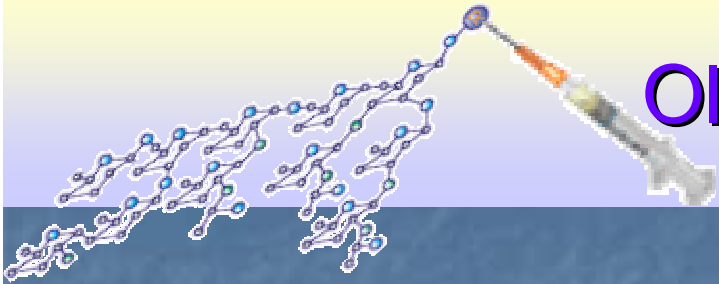


Immunisation



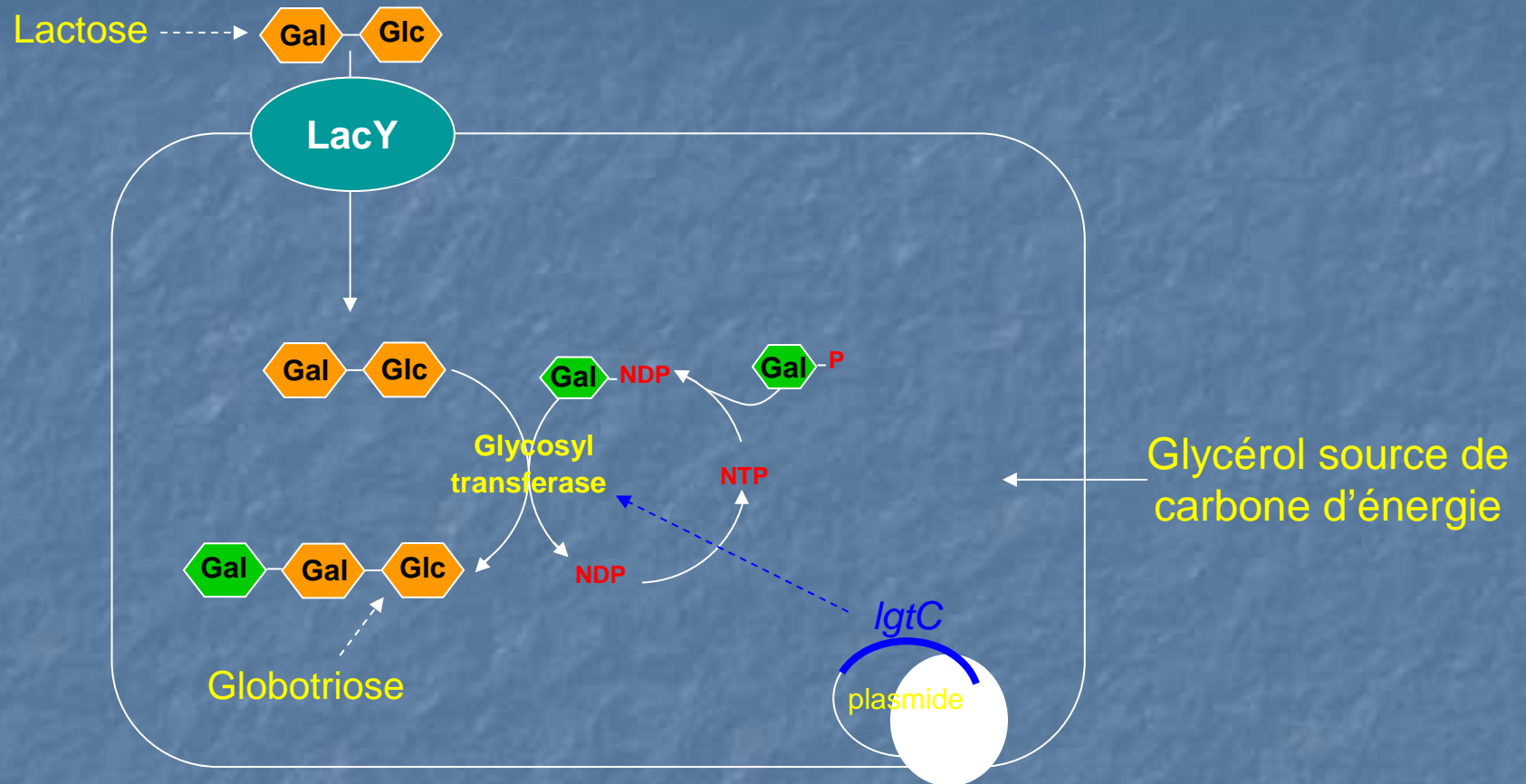
Réponse immunitaire contre la tumeur

# Oligosaccharide candidat : Globo H



- ✓ Marqueur tumoral des cellules cancéreuses du sein, de la prostate, de l'ovaire et des poumons
- ✓ Testé en tant que vaccin anticancéreux pour la thérapie du cancer du sein (phase II clinique) et du cancer de la prostate (phase I clinique)
- ✓ Synthèse chimique difficile, faible quantité disponible
- ✓ Production à grande échelle du GloboH par voie microbiologique

# Principe de la synthèse microbiologique



- Culture à haute densité de la bactérie recombinante
- Surexpression des gènes codant pour les glycosyltransférases appropriées
- Internalisation de l'accepteur par les perméases bactériennes
- Régénération des nucleotides-sucres par la machinerie cellulaire



# Matériels et méthodes

1. Modification génétique des bactéries, surexpression des gènes codant pour des glycosyltransférases



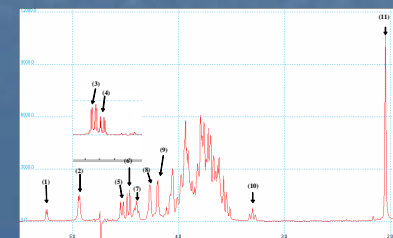
2. Production des oligosaccharides par culture à haute densité des bactéries recombinantes



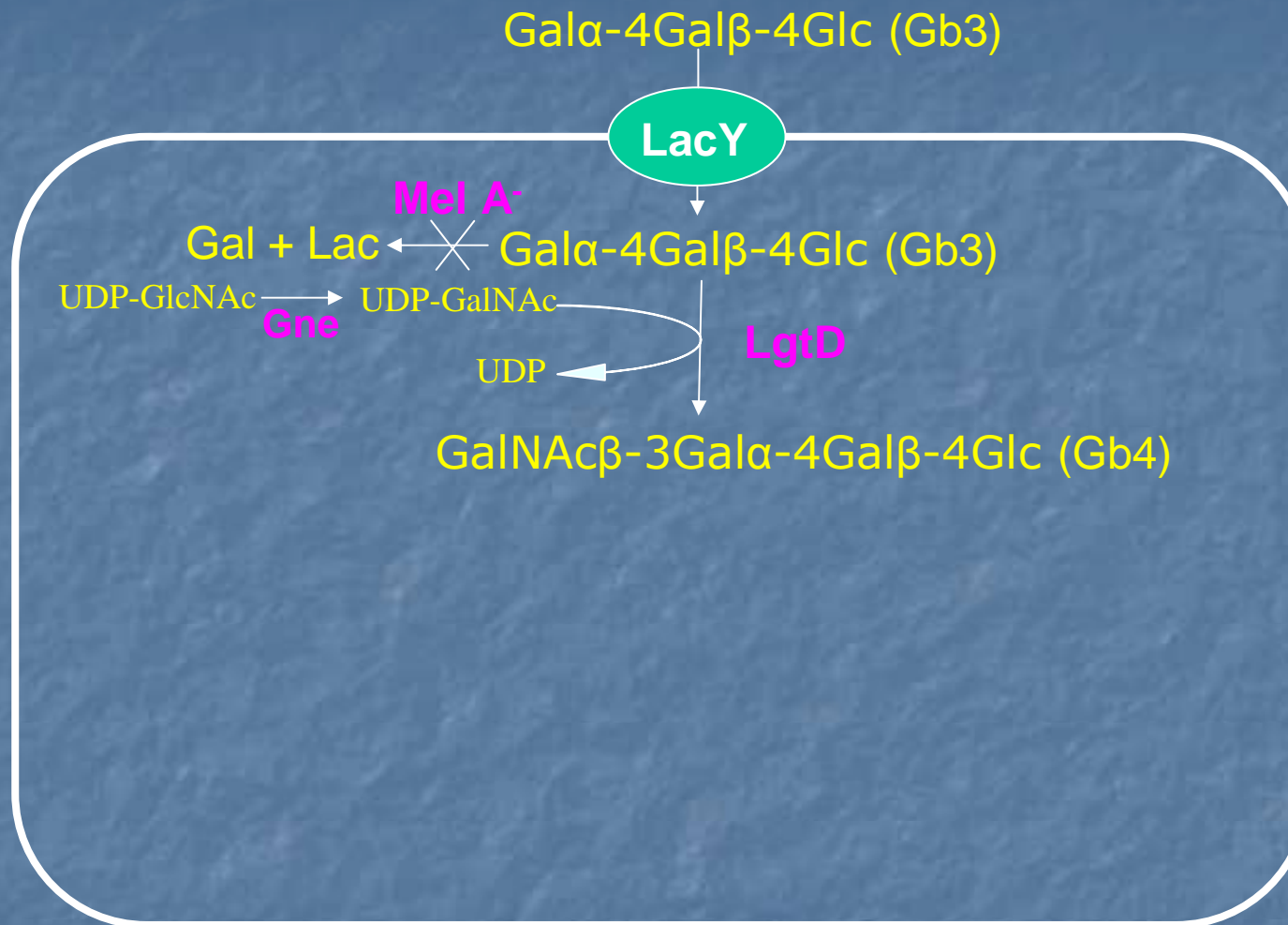
3. Purification des oligosaccharides par adsorption sur charbon et chromatographie d'exclusion



4. Caractérisation des oligosaccharides par RMN et SM

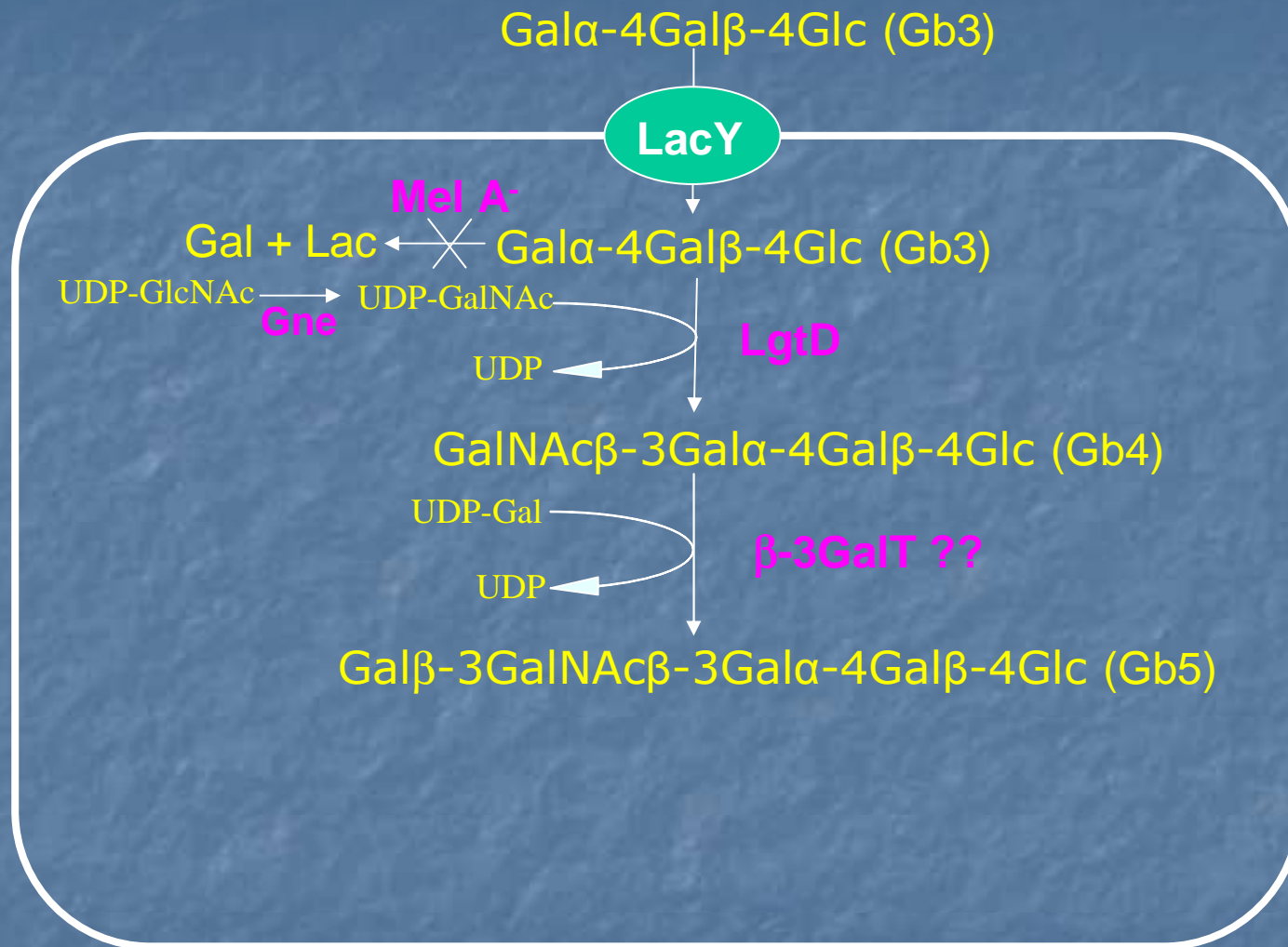


# Biosynthèse du GloboH à partir du Globotriose



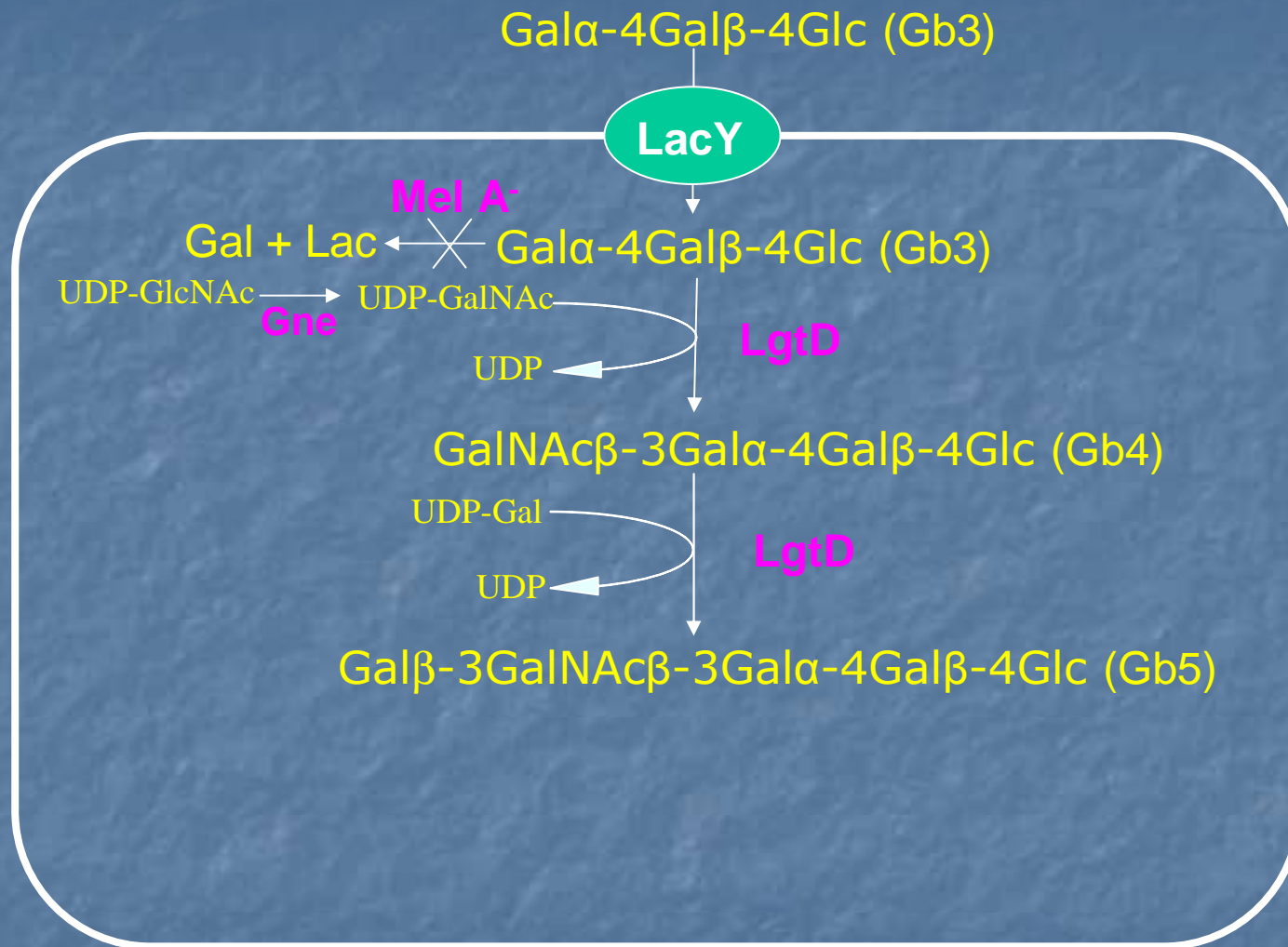
T. ANTOINE, C. BOSSO, A. HEYRAUD, & E. SAMAIN. Large-scale *in vivo* synthesis of globotriose and globotetraose by high-cell-density culture of metabolically engineered *Escherichia coli*. *Biochimie*, 87(2), 2005, 197-203

# Biosynthèse du GloboH à partir du Globotriose



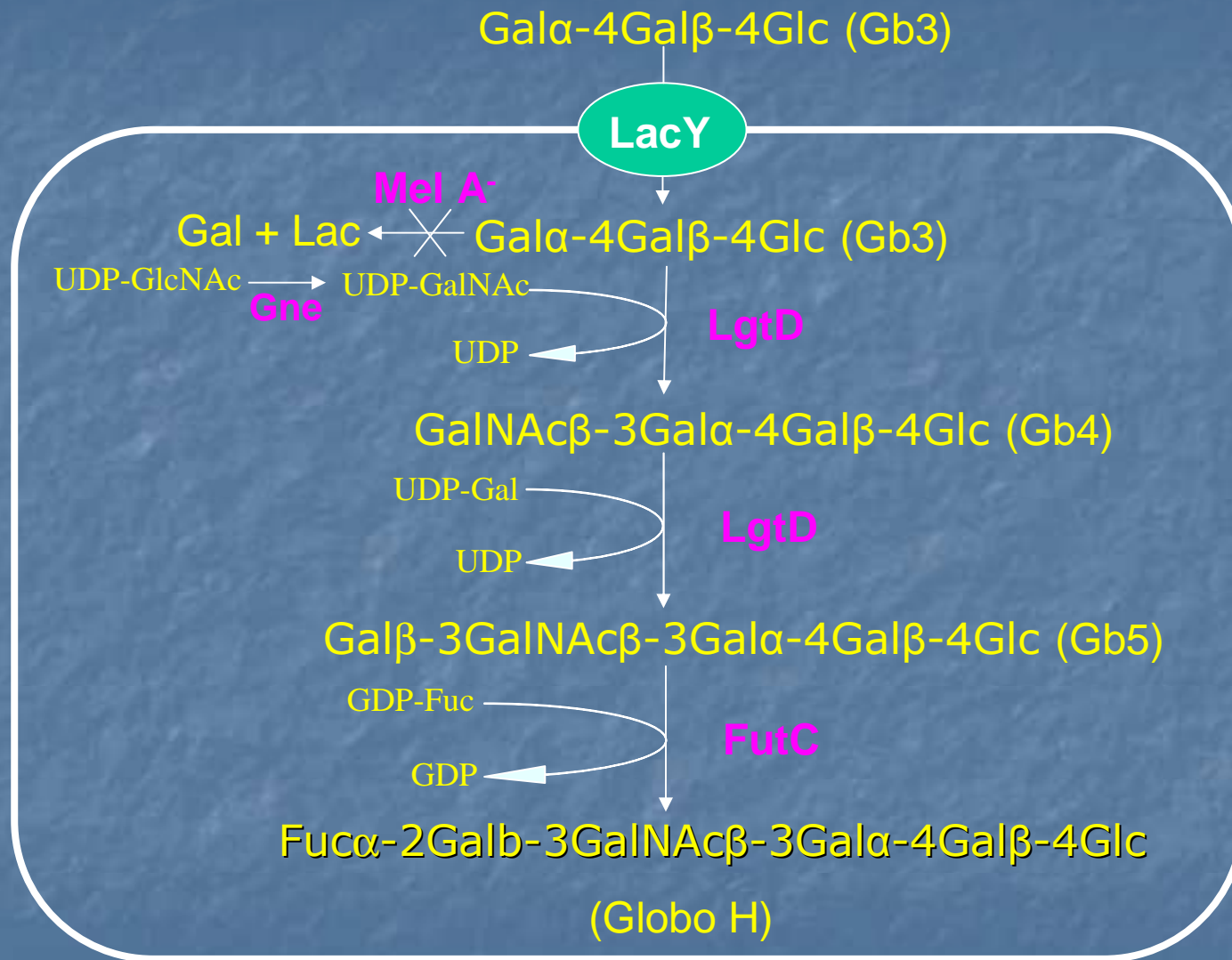


# Biosynthèse du GloboH à partir du Globotriose

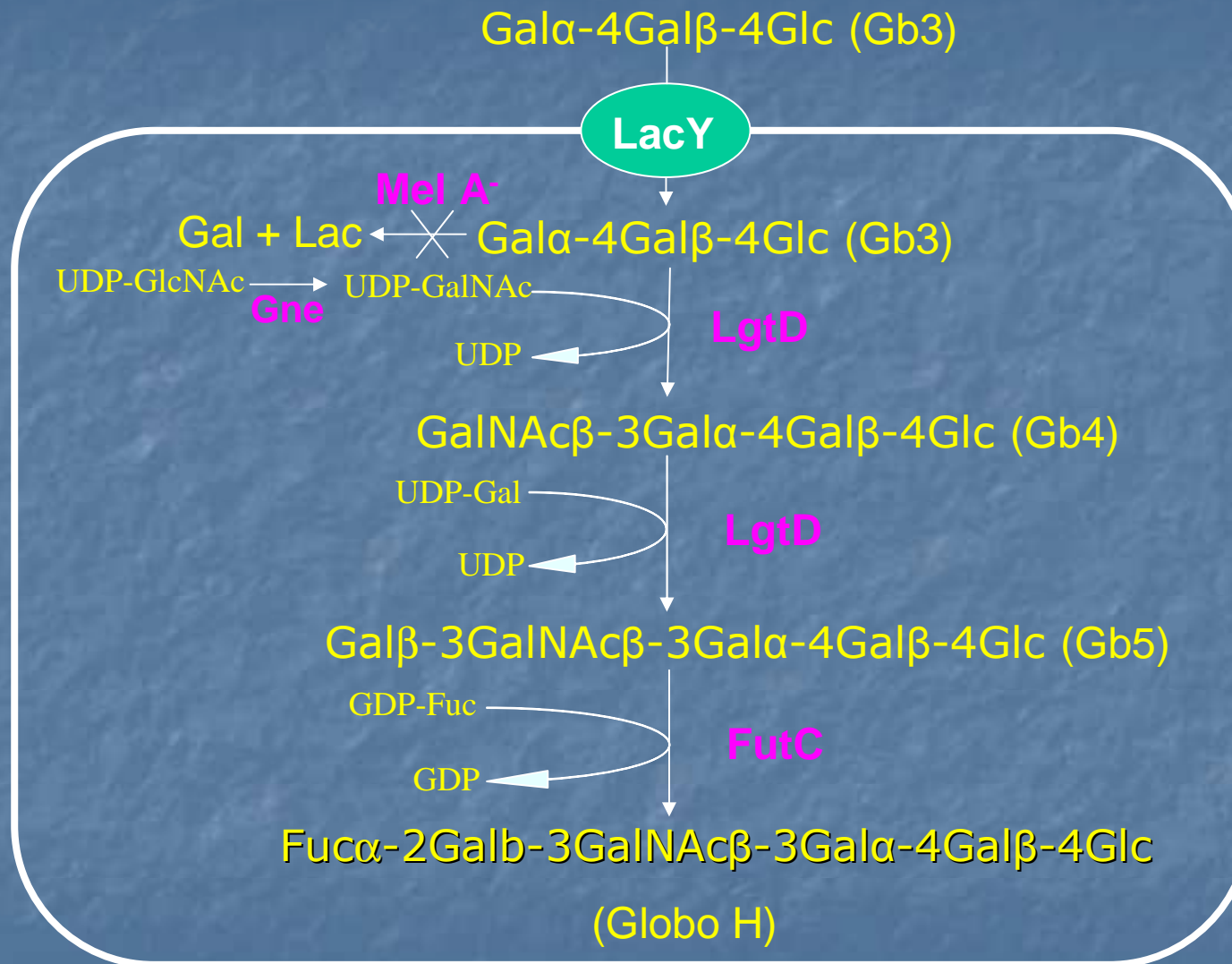


M. Randriantsoa, S. Drouillard, C. Breton, E. Samain. **Synthesis of globopentaose using a novel  $\beta$ 1,3-galactosyltransferase activity of the *Haemophilus influenzae*  $\beta$ 1,3-N-acetylgalactosaminyltransferase LgtD.** FEBS Letters 581 (2007) 2652–2656

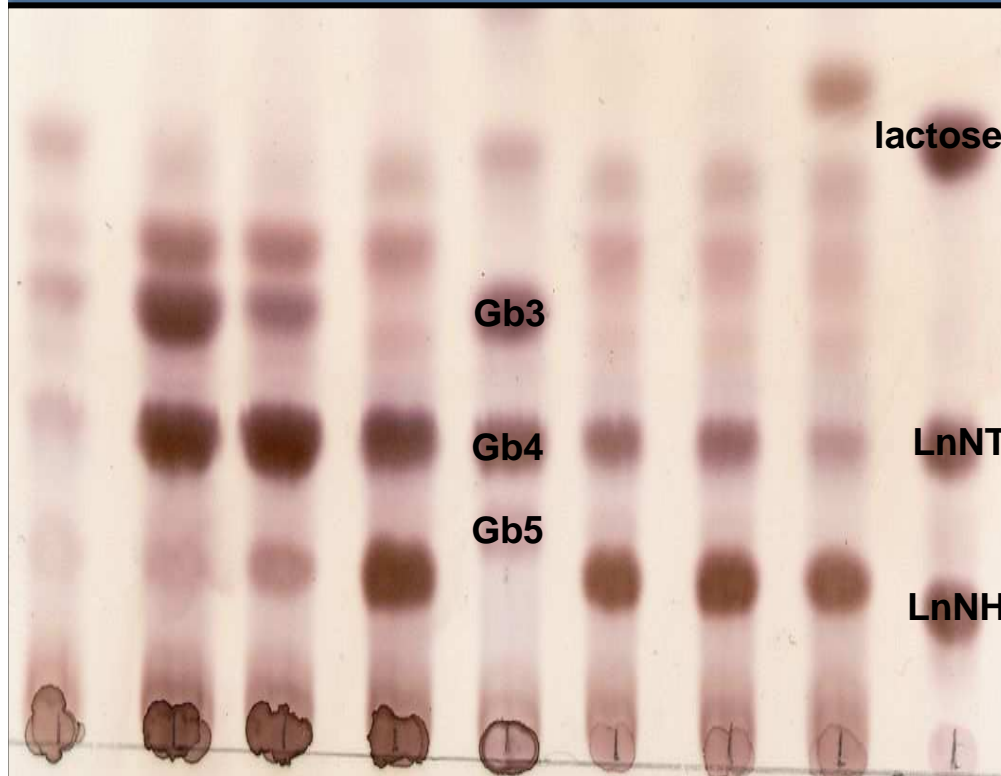
# Biosynthèse du GloboH à partir du Globotriose



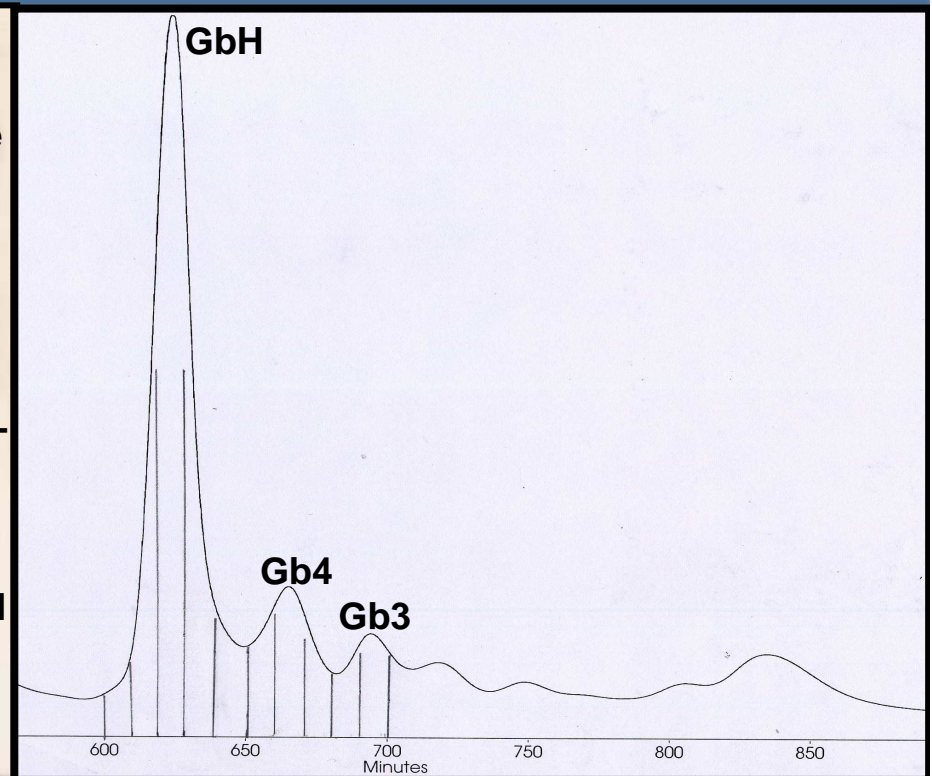
# Biosynthèse du GloboH à partir du Globotriose



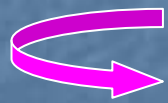
# Résultats



0h 3h 7h 23h 28h 31h 47h Std  
*Fig 1 : CCM de suivie de la fermentation de la souche MR20*



*Fig2 : Chromatographie d'exclusion de la fraction intracellulaire de MR 20*

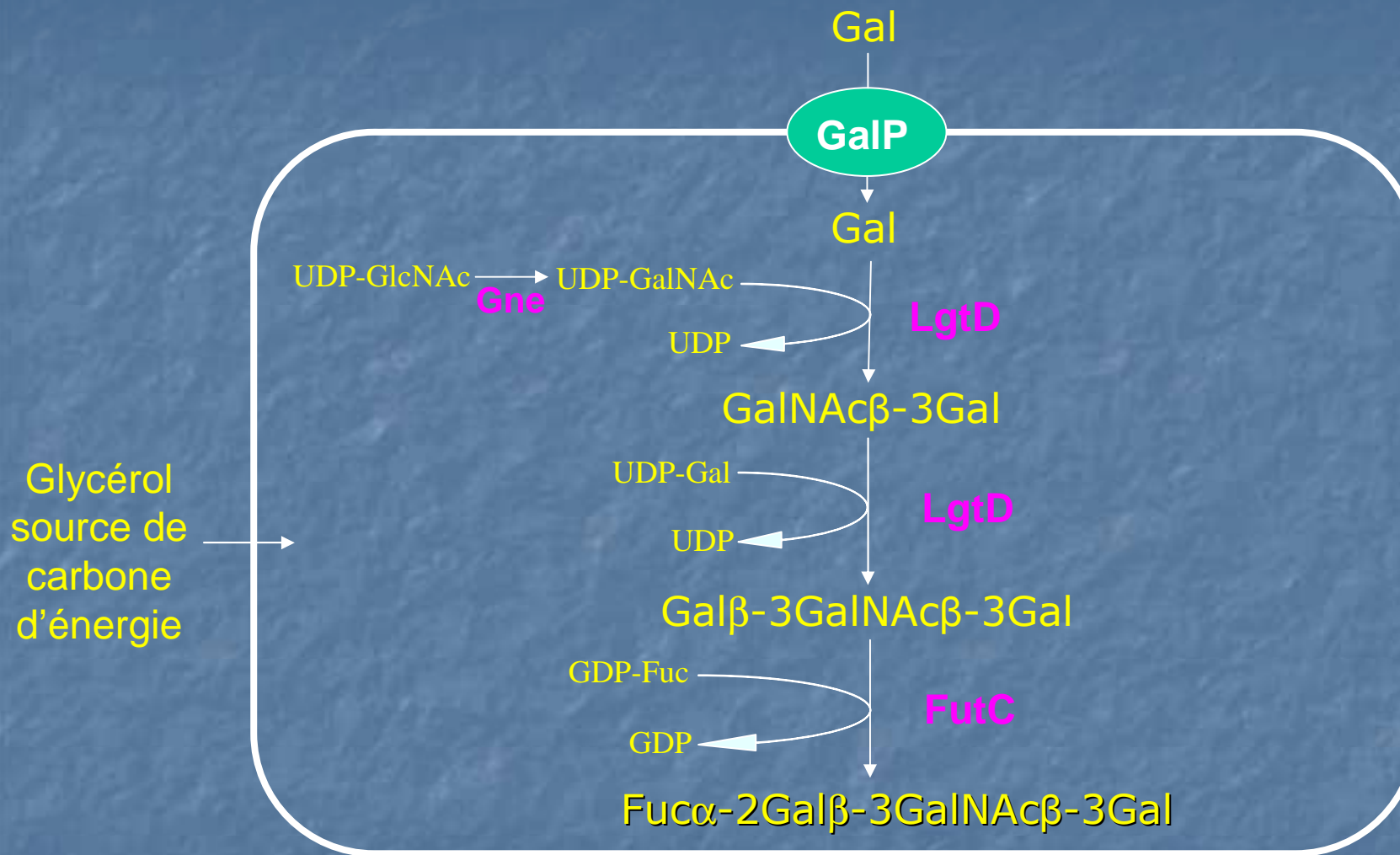


Production de 1.6g de GloboH à partir de 3g de Gb3

M. Randriantsoa, S.Drouillard, E. Samain. **Production of globosides oligosaccharides using metabolically engineered microorganisms.** Brevet international, n° de publication WO2007023348, CNRS

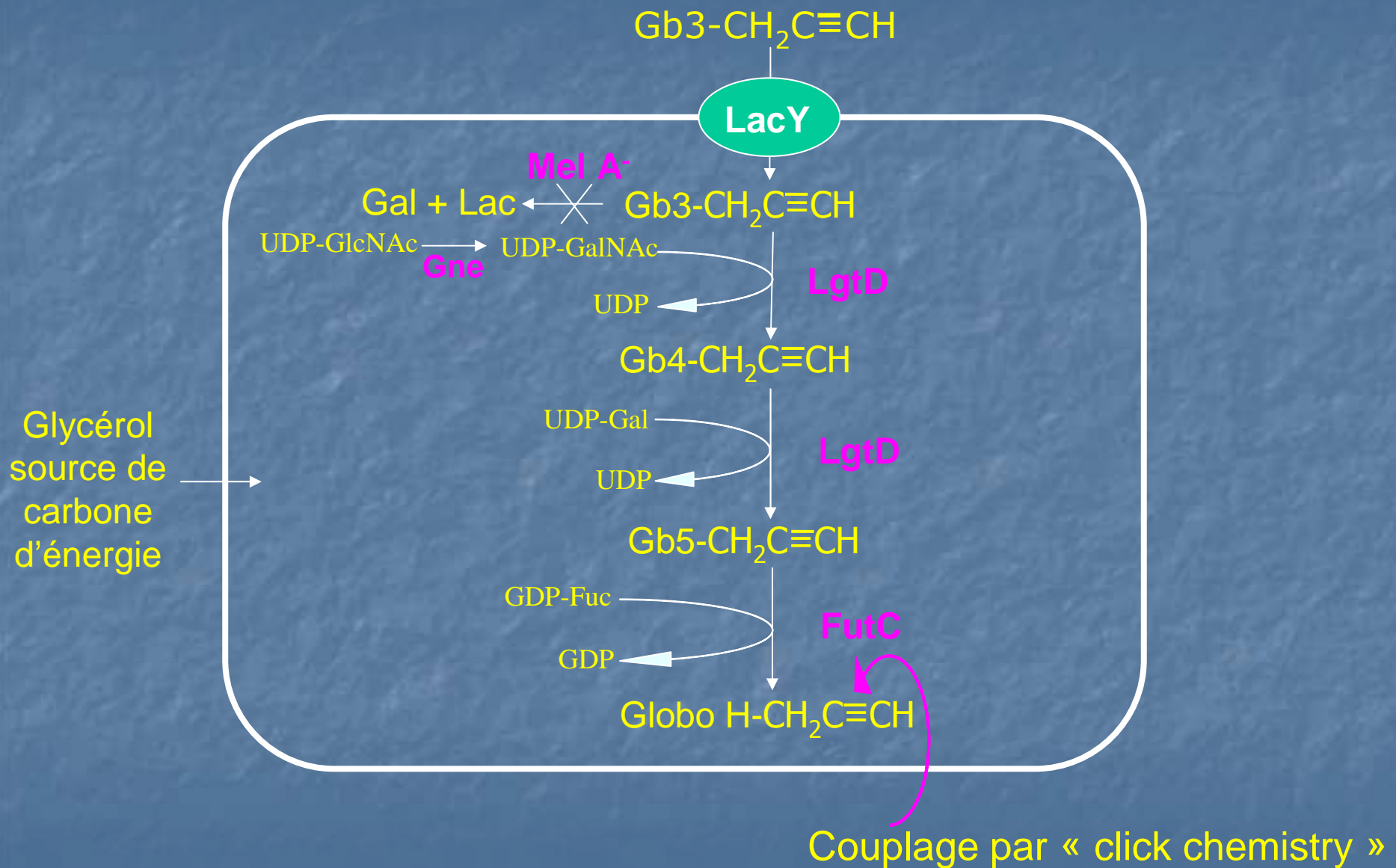


# Utilisation du galactose comme accepteur

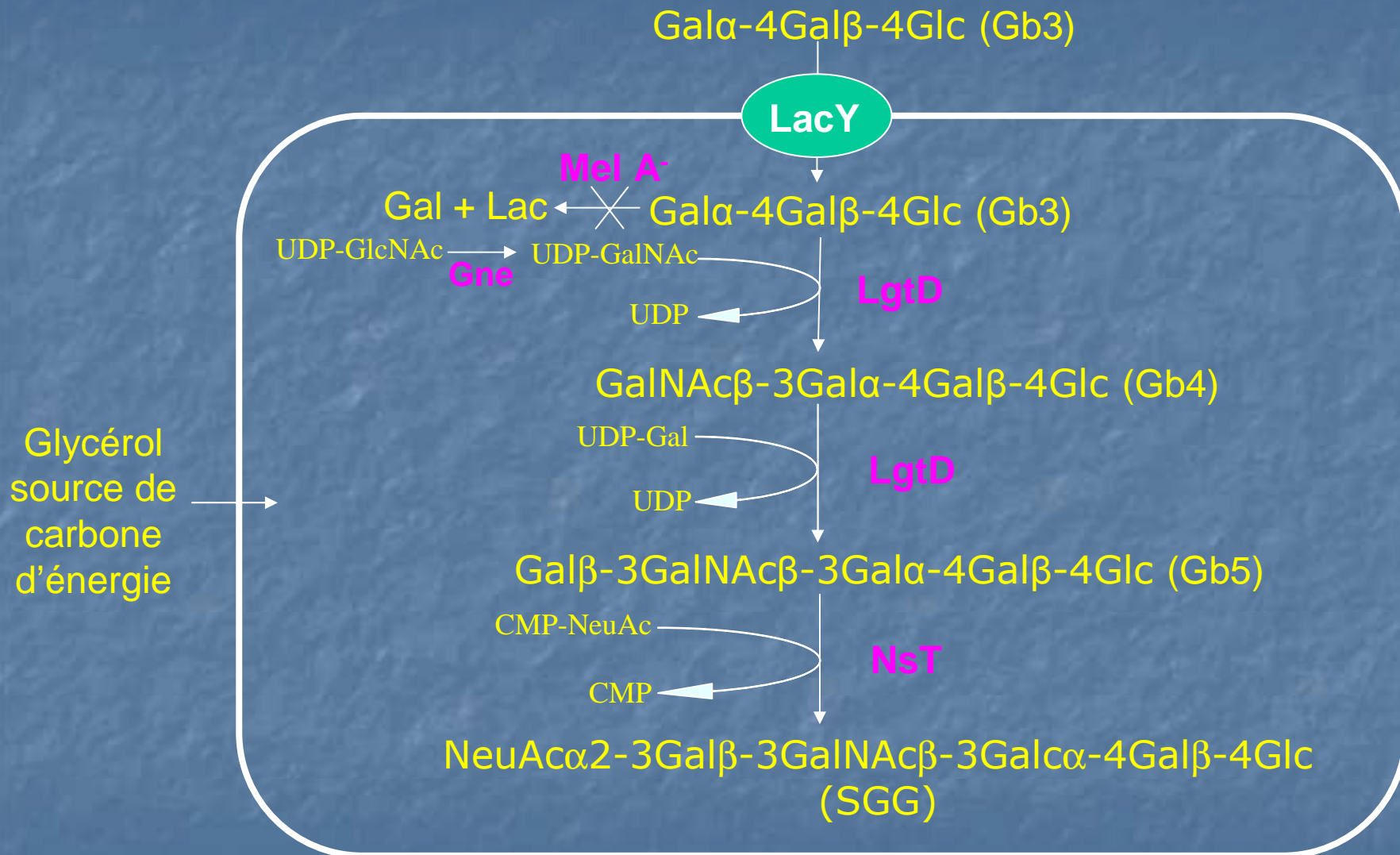




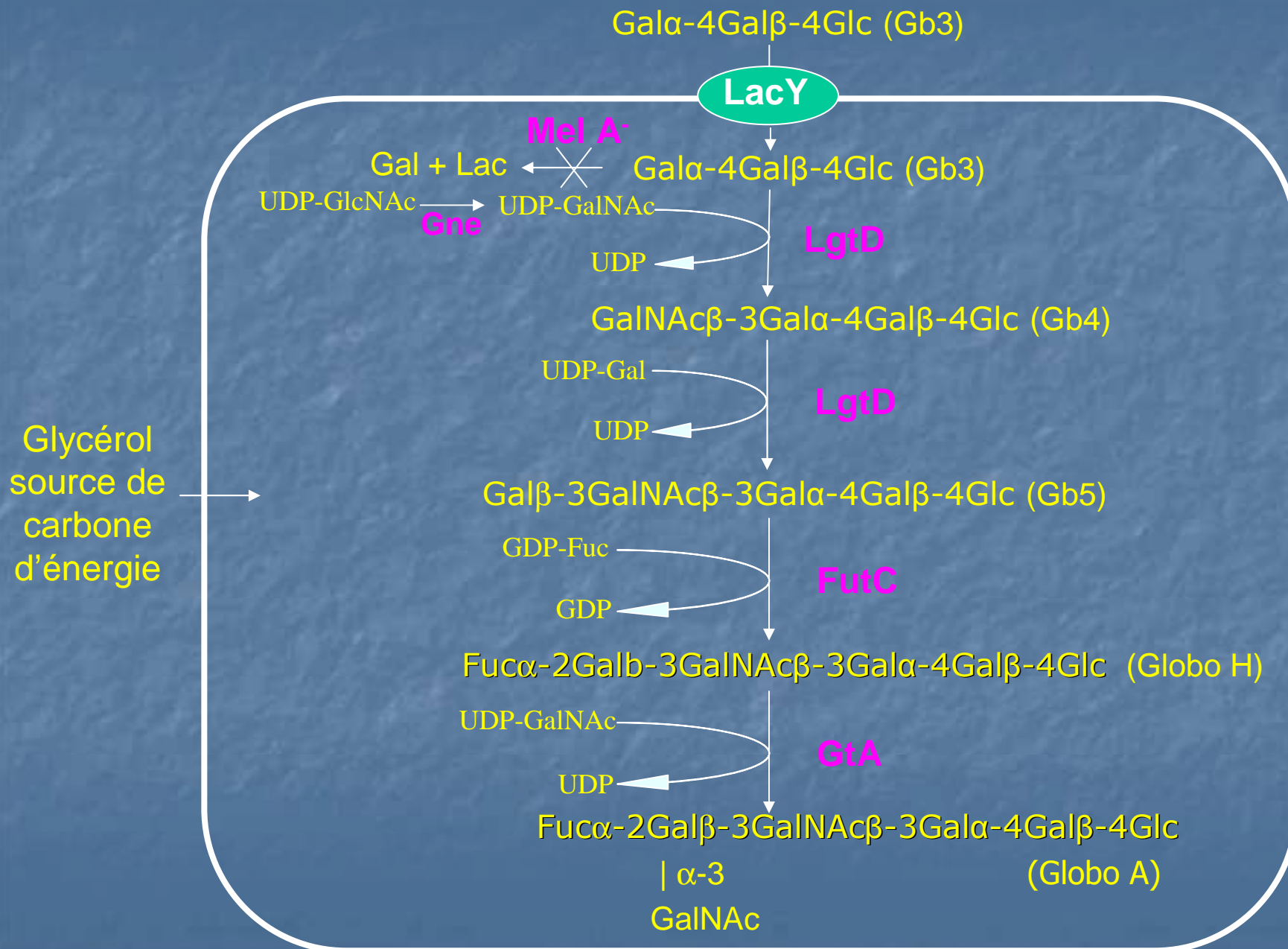
# Utilisation d'un accepteur activable



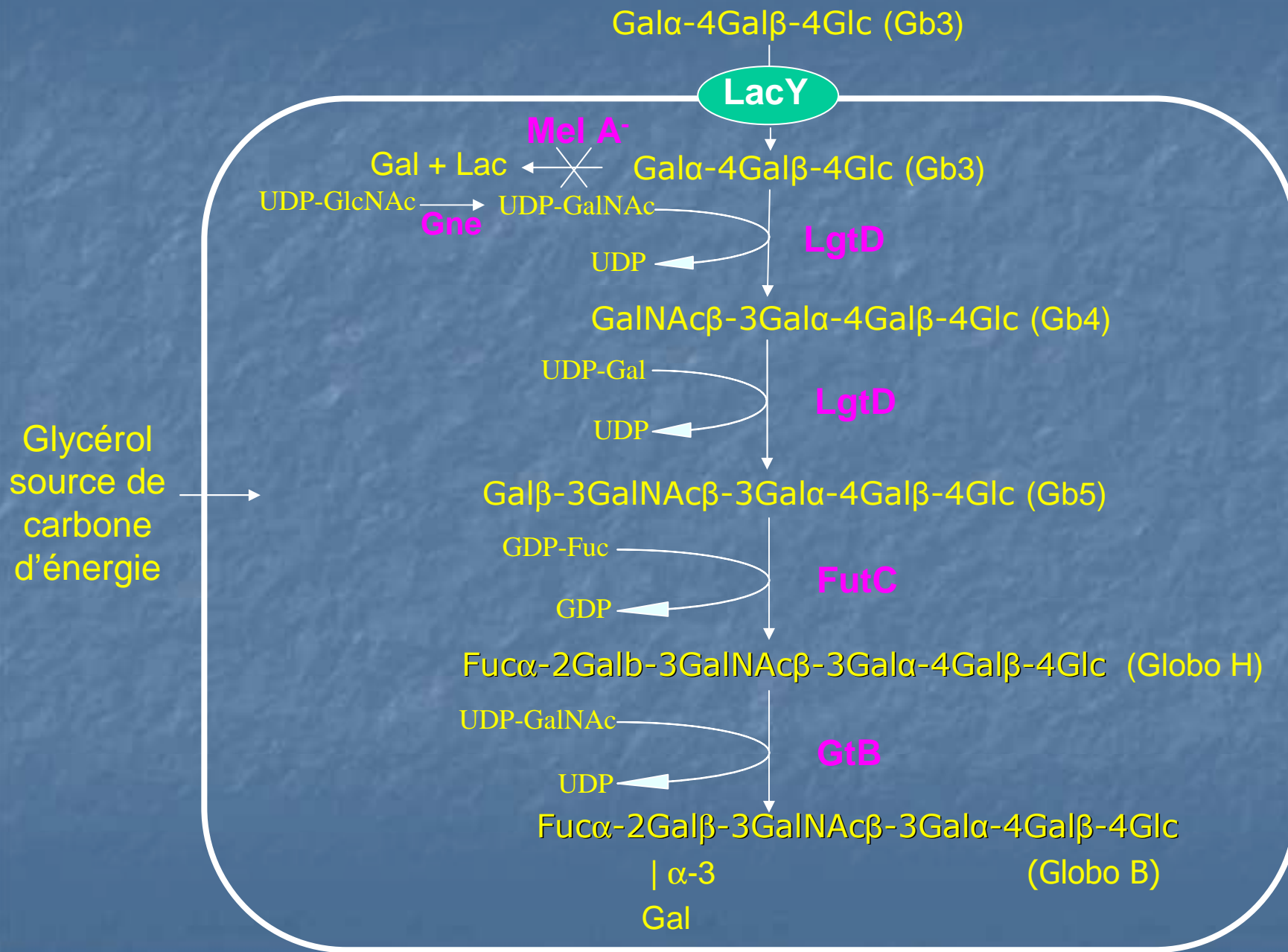
# Biosynthèse du SGG



# Biosynthèse du GloboA



# Biosynthèse du GloboB



**Merci de votre attention !!**