

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie

MEMOIRE

Présenté par

YAKOUB KARIMA

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Immunologie

Intitulé

PTGS2 dans l'inflammation auto-immunité et l'immunité infectieuse

Soutenu le 23 septembre 2020, devant le jury composé de :

Président	Mohamed Chemseddine SMAHI	Professeur
Encadreur	Souheila Amal BENMANSOUR	Maitre-assistante
Examinatrice	Nabila Brahami	Professeur

23/09/2020



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie

MEMOIRE

Présenté par

YAKOUB KARIMA

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Immunologie

Intitulé

PTGS2 dans l'inflammation auto-immunité et l'immunité infectieuse

Soutenu le 23 septembre 2020, devant le jury composé de :

Président	Mohamed Chems eddine SMAHI	Professeur
Encadreur	Souheila Amal BENMANSOUR	Professeur
Examinatrice	Nabila Brahami	Professeur

Résumé

La cyclooxygénase 2 ou COX-2 est une enzyme clé dans la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines. Les prostaglandines qu'elle induit sont impliquées dans l'inflammation et la réponse à la douleur dans différents tissus du corps. Ainsi, elle joue un rôle prépondérant dans la pathogenèse des maladies infectieuses, inflammatoires, autoimmunes et des cancers. L'activation de PTGS2 produit la prostaglandine E2, qui agit sur un certain nombre de voies de signalisation cellulaire impliquant la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, l'apoptose, l'invasion et l'immunosuppression qui caractérisent ces maladies. La découverte du mécanisme d'action de la COX-2 a ouvert la voie à la production de nouvelles molécules anti-inflammatoires qui ambitionnent de réduire les effets secondaires des traitements anti-inflammatoires qui existent déjà.

Ce travail se propose de relater le rôle décrit dans la littérature de COX-2 dans l'inflammation et en particulier dans les maladies autoimmunes et les maladies infectieuses, ainsi que de créer une amorce pour Polymerase chain reaction à partir du gène de la COX-2.

Mots clés: PGs , PTGS2 , COX2 , PCR , amplification d' amorce

Abstract

Cyclooxygenase 2 or COX-2 is a key enzyme in the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. The prostaglandins it induces are involved in inflammation and the pain response in different tissues of the body. Thus, it plays a preponderant role in the pathogenesis of infectious, inflammatory, autoimmune and cancer diseases. Activation of PTGS2 produces prostaglandin E2, which acts on a number of cell signaling pathways involving cell proliferation, angiogenesis, apoptosis, invasion and immunosuppression that characterize these diseases. The discovery of the mechanism of action of COX-2 paved the way for the production of new anti-inflammatory molecules which aim to reduce the side effects of anti-inflammatory treatments that already exist.

This work aims to relate the role described in the literature of COX-2 in inflammation and in particular in autoimmune diseases and infectious diseases, as well as to create a primer for Polymerase chain reaction from the COX-2 gene .

Keywords: PGs, PTGS2, COX2, PCR, primer amplification

ملخص

كوكس 2 او سيكلوكزيجيناز2 هو إنزيم رئيسي في تحويل حمض الأراكيدونيك إلى البروستاجلاندين. البروستاجلاندينات تحفزها تشارك في الالتهاب واستجابة الألم في أنسجة الجسم المختلفة. وبالتالي ، فإنه يلعب دورًا مرجحًا في التسبب في الأمراض المعدية والالتهابية وأمراض المناعة الذاتية والسرطان. يؤدي تنشيط بي تي جي اس 2 الى البروستاغلاندين 2 ،الذي يعمل على عدد من مسارات إشارات الخلايا التي تشمل تكاثر الخلايا وتكوين الأوعية وموت الخلايا الأمراض. مهد اكتشاف آلية عمل الطريق لإنتاج جزيئات جديدة مضادة للالتهابات تهدف إلى تقليل الآثار الجانبية للعلاجات المضادة للالتهابات الموجودة بالفعل

يهدف هذا العمل إلى ربط كوكس 2 في الالتهاب وخاصة في أمراض المناعة الذاتية والأمراض المعدية ، بالإضافة إلى إنشاء مادة أولية لتفاعل البوليميراز المتسلسل من مورثة كوكس 2.

كلمات البحث : *PGs* ، *PTGS2* ، *COX2* ، *PCR* ، تضخيم التمهيدي

Avant-propos

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Tout ce qui commence terminera un jour, et nous y voilà. Nous finissons une étape pour en commencer une autre.

Avant tout, je remercie mon Dieu pour sa grâce et sa pitié.

Je remercie mon père, ma mère,

ma famille de son plus jeune à son aîné

Un grand merci à ma deuxième famille à Maghnia

qui m'a embrassée en exil

Je remercie mon encadreur pour son aide

Merci à tous Mes amis sont à l'université, tout comme mes amis en logement universitaire

J'adresse mes remerciements à mes professeurs d'immunologie.

Merci à tous ceux qui m'ont aidée.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Résumé en arabe.....	v
Avant-propos.....	vi
Table des matières.....	vii
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	x
Liste des abréviations.....	xi
Introduction.....	1

Revue de la littérature**I.Chapitre 1 : PTGS2**

- 1.1. Les prostaglandines
- 1.2. Les prostaglandines synthase
 - 1.2.1. Définition
 - 1.2.2. Physiologie
 - 1.2.3. Isotypes des prostaglandines synthase
 - 1.2.3.1. Prostaglandine synthase 1 ou COX-1
 - 1.2.3.2. Prostaglandine synthase 2 ou COX-2
 - 1.2.3.3. Prostaglandine synthase 3 ou COX-3
- 1.3. Prostaglandine synthase 2
 - 1.3.1. Structure
 - 1.3.2. Gène
 - 1.3.3. Expression et régulation
 - 1.3.4. Particularités qui distinguent COX-2 de COX-1

- 1.3.5. Rôles biologiques
 - 1.3.6. Site actif des PTGS2
 - 1.4. PTGS2 et système immunitaire
 - 1.4.1. PTGS2 dans l'inflammation
 - 1.4.1.1.1 L'inflammation aiguë
 - 1.4.1.1.2 L'inflammation chronique
 - 1.4.1.2. PTGS2 et cancer
 - 1.4.2. PTGS2 dans l'auto-immunité
 - 1.4.2.1. Les maladies auto-immunes
 - 1.4.2.2. PTGS2 dans le diabète de type 1
 - 1.4.3. PTGS2 et immunité anti-infectieuse
 - 1.4.3.1. PTGS2 et virus de l'immunodéficience humaine
 - 1.4.3.2. PTGS2 dans l'infection au nouveau coronavirus humain
 - 1.5. Implications thérapeutiques
 - 1.5.1. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens
 - 1.5.2. Les inhibiteurs synthétiques
 - 1.5.3. Les inhibiteurs spécifiques
 - 1.5.3.1. Le médicament rofécoxib (vioxx) qui a été retiré du marché
 - 1.6. PCR
 - 1.6.1. Définition des amorces
 - 1.6.2. Définition de PCR :
 - 1.6.3. Le but de la PCR :
 - 1.6.4. Principe de la PCR
- Chapitre 2 :**
- //-Matériels et Méthodes**
- 2.1. Conception des amorces.
 - 2.2. Sélection des amorces.
 - 2.2.1. La longueur de l'amorce

2.2.3. La température de fusion

2.2.4. La spécificité

2.2.5. Les séquences d'amorce complémentaire

2.2.6. La teneur en G/C et suites polypyrimidine (T, C) ou polypurine (A, G)

2.2.7. La séquence à l'extrémité 3'

2.3. La séquence du gène PTGS2

2.3.2- Primer Blast

Chapitre 3 :

///-Résultats

3.2-Confirmation

-Discussion

Chapitre 4

IV-Conclusion et perspectives

-Bibliographie

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Les Caractéristiques des prostaglandines

Tableau 1.2 : Sommaire des différences entre les 2 isoformes COX-1 et COX-2

Tableau 1.3 : Sélectivité de différents ANS pour la COX-1 et la COX-2

Liste des figures

Figure 1.1 : Voie métabolique de l'acide arachidonique

Figure 1.2 : Structure de la Cyclooxygénase-1

Figure 1.3 : Structure of COX-2

Figure 1.4 : Localisation du gène PTGS1

Figure 1.5 : Localisation du gène PTGS2

Figure 1.6 : Voies de signalisation régulant l'expression de COX-2

Figure 1.7 : site actif de la COX-1, COX-2

Figure 1.8 : Voies qui relient l'inflammation et le cancer

Figure 1.9 : Les étapes de l'amplification PCR

Figure 2.10 : Plateforme de la base de données Ensembl

Figure 2.11 : Introduction du gène PTGS2 dans la base de données ENSEMBL

Figure 2.12: Code donné pour le gène PTGS2

Figure 2.13 : Interface du logiciel Primer-Blast

Figure 2.14: Séquence du gène PTGS2 avec le paramètre qui convient

Figure 2.15: Résultats de la conception sur primer blast

Figure 2.15: Résultats de la conception sur primer blast

Figure 2.17 : Insertion des amorces PCR in-Silico sur le site

Figure 2.18 : La confirmation

Liste des abréviations

AA : arachidonic

AINS : Antiinflammatoires non stéroïdiens

AIS : Les anti- inflammatoires non stéroïdiens.

AMPc : AMP cyclique intracellulaire

AMPc : cyclic adenosine monophosphate

Arg : Arginine

ARN : acide ribonucléique

ARNm : acide ribonucléique Messenger

CD4 : cluster of differentiation

cellules NK : cytotoxiques naturels

COX : cyclooxygénase

COX-1 : cyclooxygénase-1

COX-2 : cyclooxygénase-2

COX-3 : cyclooxygénase-3.

cPLA : cytosolic phospholipase

CRE : CREB response element

CREB : cAMP response element binding protein

EGF : extracellular signal-regulated kinase

ERK : l'epithelial growth factor

Ets : E26 spécifiques à la transformation ou E-vingt-six

Gln : Glutamine

Hif 1 α : Hypoxia Inducible Factors

His : Histidine

Ig : immunoglobulines

IgA : immunoglobulines A

IgG : immunoglobulines G

IgM : immunoglobulines M

IL-10 : interleukine-10

iNOS : co-induit l'oxyde nitrique synthase

l'IL-1 β : interleukine-1 β

l'IL-6 : interleukine

LPS : lipopolysaccharid

MAI : Les maladies auto-immunes

MAPK : mitogen activated protein kinase

MSD : Merck Sharp and Dohme

MTCC : Metro Toronto Convention Centre

Myb : myeloblastosis

NF-K β : Nuclear factor kappa B

NK-IL-6 : le facteur nucléaire interleukine-6

NO : nitric oxide

NOS : l'oxyde nitrique synthase

Pg I₂ : Prostacyclin

PGD₂ : prostaglandin D₂

PGD₂ : Prostaglandine D₂

PGE₂ : Prostaglandine E₂

PGF₂ : Prostaglandine F₂

PGG₂ : Prostaglandines G₂

PGH₂ : (prostaglandine H₂

PGH₂ : Prostaglandine H₂

PGI₂ : Prostacyclin

PGs : Prostaglandine

PKAs (protein kinase A)

PTGS : Prostaglandine endoperoxyde G/H synthase.

PTGS1 : Les prostaglandine-endoperoxyde synthases-3

PTGS2 : Les prostaglandine-endoperoxyde synthases-2

PTGS3 : Les prostaglandine-endoperoxyde synthases-3

STAT 3 : Signal transducer and activator of transcription 3

TBB2 : Tubulin beta-2 chain

TNF α : Tumor Necrosis Factor α .

TNF β : Tumor Necrosis Factor β

TxA2 : Thromboxane alpha-2

Tyr : Tyrosine

VIH : le virus de l'immunodéficience humaine

Introduction

La prostaglandine H synthase (PTGS) ou cyclooxygénase (COX) est une enzyme clé dans la synthèse des prostaglandines (PG). Cette enzyme est bifonctionnelle; la réaction COX initiale convertit l'acide arachidonique en prostaglandine G2, par la suite, la réaction à la peroxydase convertit la prostaglandine G2 en prostaglandine H2 (1). C'est en 1971 que notre compréhension du rôle de l'enzyme COX dans la biologie et les maladies est devenue plus claire (2).

Il existe trois isoformes de COX: COX-1 exprimée dans la plupart des tissus dans des conditions basales, COX-2, principalement inductible et impliquée dans les processus inflammatoires et cancérogènes et enfin, COX-3, de découverte plus récente(3,4).

COX-2 est une enzyme clé dans la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines. Les prostaglandines qu'elle induit sont impliquées dans l'inflammation et la réponse à la douleur dans différents tissus du corps (5,6). Ainsi, elle joue un rôle prépondérant dans la pathogenèse des maladies infectieuses, inflammatoires, autoimmunes et des cancers (7,8).

L'activation de PTGS2 produit la prostaglandine E2 (PGE2), qui agit sur un certain nombre de voies de signalisation cellulaire impliquant la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, l'apoptose, l'invasion et l'immunosuppression qui caractérisent ces maladies (9).

L'implication des COX dans le processus inflammatoire a conduit à l'émergence de la classe thérapeutique des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui regroupent les molécules bloquant la synthèse des prostanoïdes en agissant sur les COX. Plus récemment, la découverte des mécanismes d'actions de la COX-2 a abouti à la production de nouvelles molécules qui agissent de manière sélective sur cette enzyme avec l'ambition de contrer les effets secondaires de l'inhibition de la COX-1(10).

Ce travail se propose de relater le rôle de COX-2 dans l'inflammation et de créer une amorce pour Polymerase chain reaction à partir du gène de la COX-2.

Chapitre 1

1.Revue de la littérature

1.1.Les prostaglandines

Les prostaglandines se rencontrent dans la nature, dans le liquide seminal , dans le liquide amniotique, dans le sang maternel durant les contractions utérines et dans le sang menstruel. Les prostaglandines sont un nom générique donné a une famille de lipides qui possèdent des propriétés biologiques particulières. Leurs propriétés vasodépressives et contractiles sur la fibre musculaire utérines sont connues depuis 1930-1933 (Tableau 1.1).

Il est présumé que les prostaglandines jouent un rôle dans:

1. Le transport et la capacitation du sperme
2. La rétention tubaire de l'œuf
3. La grossesse et le travail
4. La steroidogenese ovaiienne et la luteolyse
5. La vasoconstriction du cordon ombilical
6. La dysmenorrhée (11).

Les Caractéristiques des prostaglandines	
Le naturel d'origine	le liquide séminal, amniotique, le sang maternel durant les contractions uterines , le sang menstruel
La famille	Lipides
Propriétés	vaso depressives ,contractiles
La nature chimique	acides gras non satures et oxygenes a 20 carbones
Noyau	noyau cyclopentane
Les groupes majeurs	identifi6s par les lettres A, B, E, F
L'Origine	l'acide linolenique, soit de l'acide arachidonique ou de l'acide pentaeno;que i.e.

Les types	Thromboxane alpha-2 (TxA2), Prostacycline (Pg I2), Prostaglandine D2 (PGD2), Prostaglandine E2 (PGE2), Prostaglandine F2 (PGF2)
-----------	---

Tableau 1.1. Les Caractéristiques des prostaglandines .

1.2. Les prostaglandines synthase

1.2.1. Définition

Les prostaglandine-endoperoxyde synthases (PTGS), également connues comme les cyclooxygénases (COX), sont des enzymes régulatrices clés dans la biosynthèse des prostanoïdes, une classe d'hormones qui comprend les prostaglandines, les prostacyclines et les thromboxanes, responsables de multiples activités inflammatoires, mitogènes et angiogéniques dans divers tissus et systèmes d'organes (12,13,14).

L'intérêt croissant pour les COX est dû à de nombreuses preuves montrant l'implication de ces enzymes non seulement dans la physiologie, mais aussi dans les processus physiopathologiques tels que le développement et la progression du cancer, de la maladie d'Alzheimer et de la maladie de Parkinson (10,15).

1.2.2. Physiologie

Les COX font partie d'un complexe d'enzymes qui convertit l'acide arachidonique en prostaglandine H2 (PGH2), le précurseur de tous les prostanoïdes (prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes) Le complexe consiste en une isoenzyme COX et une peroxydase (Figure 1.1) (8).

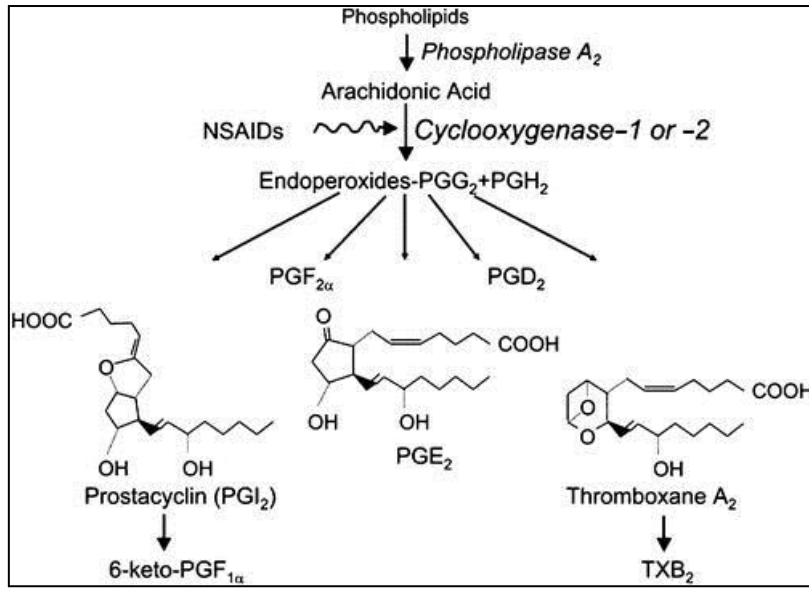


Figure 1.1. Voie métabolique de l'acide arachidonique (9).

1.2.3. Isotypes des prostaglandines synthase

Les COX existent sous trois isoformes : COX-1, COX-2 et COX-3.

1.2.3.1. Prostaglandine synthase 1

COX-1 catalyse la conversion de l'acide arachidonique libre en PGH₂. Elle est exprimée continuellement et à un niveau constant indépendamment du cycle cellulaire et dans la plupart des tissus (18,19). Le gène de la COX-1 est situé, chez l'humain, dans la région chromosomique 9q32-q33.3 (10).

C'est une glycoprotéine ubiquitaire de 71 kDa codée par un gène localisé sur le chromosome 9 (PTGS1) (15). Comme la plupart des gènes de ménage, le promoteur de COX-1 ne comporte pas de boîte TATA (Figure 1.2) (16).

COX-1 joue un rôle dans l'homéostasie cellulaire en participant par exemple à la prolifération cellulaire, grâce à la production de prostaglandines PGE₂. L'expression constitutive de COX1 au niveau de l'épithélium gastrique conduit à la synthèse de PGE₂ qui stimule la prolifération des cellules épithéliales et donc le renouvellement de l'épithélium gastrique (11). De plus, elle stimule la production de mucus et diminue la production d'acide chlorhydrique, ce qui permet de protéger la paroi de l'estomac de l'acidité. Le métabolisme de l'AA (acide arachidonique) par COX-1 et la thromboxane A₂ (TxA₂) synthase dans les plaquettes conduit à la production de TxA₂, qui joue un rôle important dans la régulation de la coagulation sanguine et de la pression artérielle (3).

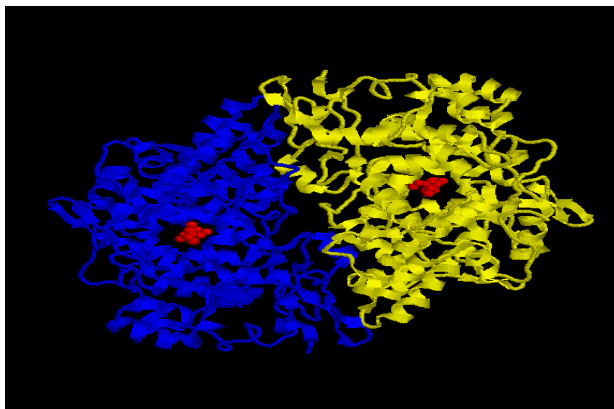


Figure 1.2: Structure de la Cyclooxygénase-1 (13).

1.2.3.2. Prostaglandine synthase 2

Voir section correspondante.

1.2.3.3. Prostaglandine synthase 3

Découverte en 2002 , COX-3 est identifiée comme étant une variante d'épissage alternatif du gène de la COX-1. Ces deux isoenzymes dérivent du même gène. Chez l'homme, COX-3 est exprimée de manière constitutive et majoritairement dans le cortex cérébral et le cœur (14).

Actuellement, le rôle de COX-3 n'est pas encore défini mais il a été suggéré que l'acétaminophène (paracétamol) est un inhibiteur sélectif de COX-3 ,suggérant un rôle de COX-3 dans la sensibilité à la douleur(14).Cependant, l'hypothèse est controversée puisque d'autres études ont décrit une capacité de ce composé à inhiber COX-2, rendant ainsi l'élucidation du rôle de COX-3 difficile (17).

1.3. Prostaglandine synthase 2

Découverte en 1991, COX-2 humaine est composée de 581 acides aminés (74 KDa), dans la séquence est homologue à 60% environ à celle de COX-1. C'est une enzyme principalement inductible. Cependant, elle est constitutivement exprimée dans certains tissus tels que le cerveau et le rein. Elle est aussi continuellement exprimée dans le cœur et dans les ovaires où l'enzyme jouerait un rôle dans l'ovulation (18,19) .

1.3.1. Structure

L'isoforme COX-2 diffère de COX-1 par une extension du côté carboxy-terminal (Cterm) et par un site de liaison aux Antiinflammatoires non stéroïdiens(AINS) plus important (17). Cette caractéristique permet la reconnaissance par les inhibiteurs spécifiques de COX-2 (par exemple, célécoxib, rofécoxib, nimésulide) (Figure 1.3).

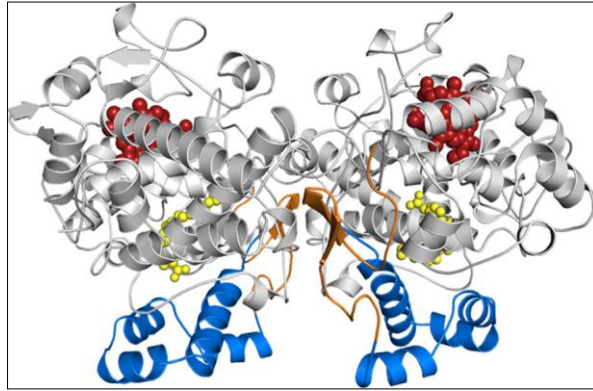


Figure 1.3. Structure of COX-2 (18)

1.3.2. Gène

Les gènes codant la COX-1 et la COX-2 sont situés respectivement sur les chromosomes 9 et 1 et leur transcription est contrôlée par des promoteurs hétérologues (Figure 1.4) (20).

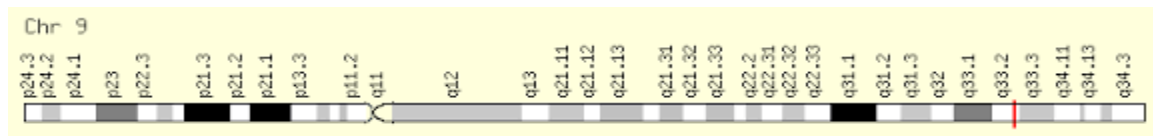


Figure 1.4 : Localisation du gène *PTGS1* (21)

Le gène de COX-2 est localisé sur le chromosome 1 (gène *PTGS2*) et présente un élément de réponse NF- κ B dans son promoteur ainsi que d'autres éléments de réponse dépendant de cytokines comme l'IL-6 (interleukine-6) (17). La région chromosomique où se situe ce gène est le 1q25.2-q25.3 (18,19). Sa taille est de 8.3 kb et il contient 10 exons et 9 introns (Figure 1.5) (20).

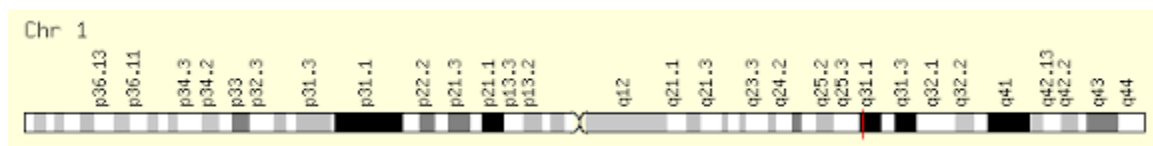



Figure 1.5: Localisation du gène *PTGS2* (21)

1.3.3. Expression et régulation

COX-2 est exprimée dans les cellules liées à l'inflammation comme les monocytes ou les fibroblastes mais aussi dans les cellules endothéliales où son expression est stimulée continuellement par le stress de cisaillement induit par la circulation sanguine (22–23). Plusieurs cytokines pro-inflammatoires comme le transforming growth factor alpha (TNF α),



l'IL-1 β , l'IL-6, ainsi que des facteurs de croissance, des agents pathogènes comme le lipopolysaccharide (LPS) sont capables d'induire son expression (24). Cette expression est régulée à différents niveaux. D'abord au niveau transcriptionnel grâce à des facteurs de croissance comme le TGF- α par exemple, ou encore l'epithelial growth factor (EGF), mais aussi des cytokines pro-inflammatoires (par exemple, IL-1 α , TNF β ou LPS (lipopolysaccharides) (Figure 1.6) (25). Concernant les cytokines pro-inflammatoires, les voies de signalisation intracellulaires concernées impliquent souvent l'AMPc et l'activation de CREB (cAMP response element binding) sous la dépendance des PKAs (protein kinase A). Pour le TNF α (Tumor Necrosis Factor α), l'activation de COX-2 dépend de ERK (extracellular signal-regulated kinase) et du facteur de transcription NF-Kb (26,27).

L'expression de la COX-2 est normalement régulée au niveau de sa transcription et post-transcription et peut aussi être régulée par le niveau de protéines synthétisées et/ou dégradées. Le promoteur de la COX-2 chez l'humain contient plusieurs sites de liaison pour la régulation de la transcription, incluant l'élément de réponse de l'AMP cyclique (CRE), des sites de liaison potentiels pour Myb (myeloblastosis), pour le facteur nucléaire interleukine-6 (NF-IL-6), le facteur nucléaire kB (Nf-kB) et les facteurs Ets (E26 spécifiques à la transformation ou E-vingt-six). La région 5' du promoteur de la COX-2 contient une boîte TATA (absente dans le promoteur de la COX-1), ainsi que de nombreux éléments promoteurs agissant en cis, incluant le NF-kB, le NF-1L6 (le facteur nucléaire interleukine-6) et le CRE (CREB response element), CREB(cAMP response element binding protein) (28).

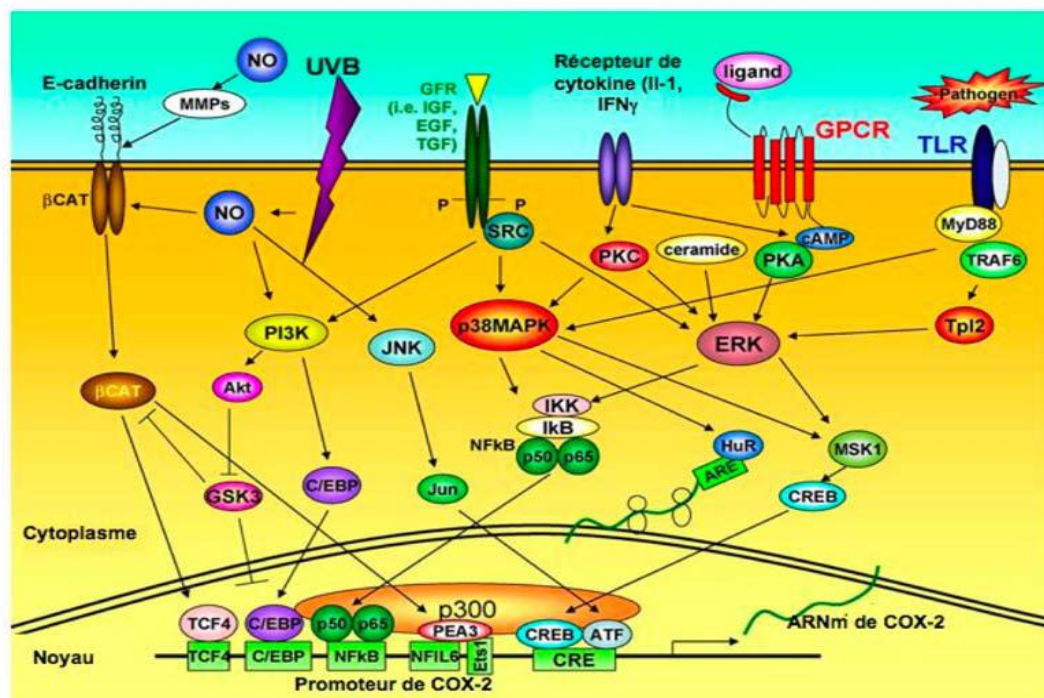


Figure 1.6 : Voies de signalisation régulant l'expression de COX-2 (23)

1.3.4. Particularités qui distinguent COX-2 de COX-1

Bien que codés par différents gènes, COX-1 et COX-2 partagent une structure primaire relativement conservée (environ 60% d'acides aminés identiques) et une structure topologique similaire (Tableau 1.4) (17,24). De plus, les deux enzymes catalysent la même réaction, la conversion de l'acide arachidonique en PGH₂ à travers deux enzymes différentes, une cyclooxygénase (bis-oxygénase) qui convertit l'acide arachidonique en prostaglandine-G₂ (PGG₂) et une peroxydase qui réduit PGG₂ pour former PGH₂ (Tableau 1.2) (29,30).

	COX-1	COX-2
Similitude structurelle	Seulement 60% d'homologie dans la séquence d'acides aminés (COX-1 et COX-2 sont codées par des gènes différents). Le site actif de COX-2 est plus grand que celui de COX-1.	
Régulation	Présence physiologique, multiplication possible de la concentration par un facteur	Formation induite lors d'inflammation (synthèse multipliée par 10 à 80 en cas

	deux à quatre.	de simulation appropriée : inflammation, hormones).
Localisation tissulaire	Présente dans la plupart des tissus, particulièrement abondante dans les thrombocytes, les cellules endothéliales, l'estomac, les reins et les muscles lisses.	Présente physiologiquement dans la prostate, l'utérus, les testicules et les poumons. Présente dans tous les tissus après induction.
Fonction de l'enzyme	Production de prostaglandines à fonctions protectrices, régulant le fonctionnement rénal, la fonction digestive et la coagulation sanguine.	Activée par une inflammation qu'elle aggrave par la production de prostaglandines proinflammatoires. Toutefois, rôle physiologique non négligeable pour le maintien de diverses fonctions vitales.
Nom du gène	PTGS1	PTGS2
Localisation du gène	Chr.9 (9q33.2)	Chr.1 (1q31.1)
Poids moléculaire	71kDa	72kDa
Nombre d'acides aminés	576	604

Tableau 1.2.Sommaire des différences entre les 2 isoformes COX-1 et COX-2 (14)

1.3.5. Rôles biologiques

La forme inductible de la COX est la principale responsable de la formation de PGs lors de l'inflammation. Les LPS et les cytokines inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 α et l'IL-1 β permettent l'induction de la COX-2, qui synthétise alors des PGs pro-inflammatoires (31).

L'IL-1 α induit l'expression de la cPLA (cytosolic phospholipase) et mobilise l'acide arachidonique, le substrat de la COX-2. En plus d'être la responsable de la synthèse de PGs associées à la douleur et à la fièvre, la COX-2 est aussi impliquée dans le développement du système cardiovasculaire, l'arthrite rhumatoïde, la reproduction chez la femelle (ovulation, implantation utérine et invasion du blastocyte), la maladie d'Alzheimer, certaines fonctions immunologiques, la régulation de la croissance cellulaire, l'angiogenèse, l'apoptose et la prolifération et la croissance des cellules normales cancéreuses (32–33).

1.3.6. Site actif des PTGS2

Le site actif d'une enzyme est schématiquement formé par un petit nombre d'acides aminés organisés en un arrangement tridimensionnel précis formant une poche ou une crevasse dans la protéine. Le site a une affinité élevée pour le substrat, parce que la nature chimique des acides aminés du site et leur arrangement spatial forment une région complémentaire de certains groupements de la molécule de substrat (34).

Les amino-acides essentiels à la fixation du substrat (Arg120) ou à la réaction d'oxygénation (Tyr385) sont également retrouvés dans la COX-2. Toutefois, des remplacements ponctuels de certains résidus vont entraîner des modifications d'ordre stérique au niveau du site enzymatique. Cette isoforme possède deux particularités :

- Une particularité géométrique : Le site actif COX-2 est dépourvu de l'isoleucine 523 et possède à la place une valine dont le groupement isopropyle est plus petit par rapport à l'isobutyle. La perte d'un groupe CH₃ permet de diminuer l'encombrement stérique.
- Une particularité électronique : Cette poche latérale se distingue par certains résidus à caractère polaire : Arginine (Arg), Glutamine (Gln), Histidine (His) (Figure 1.7) (35).

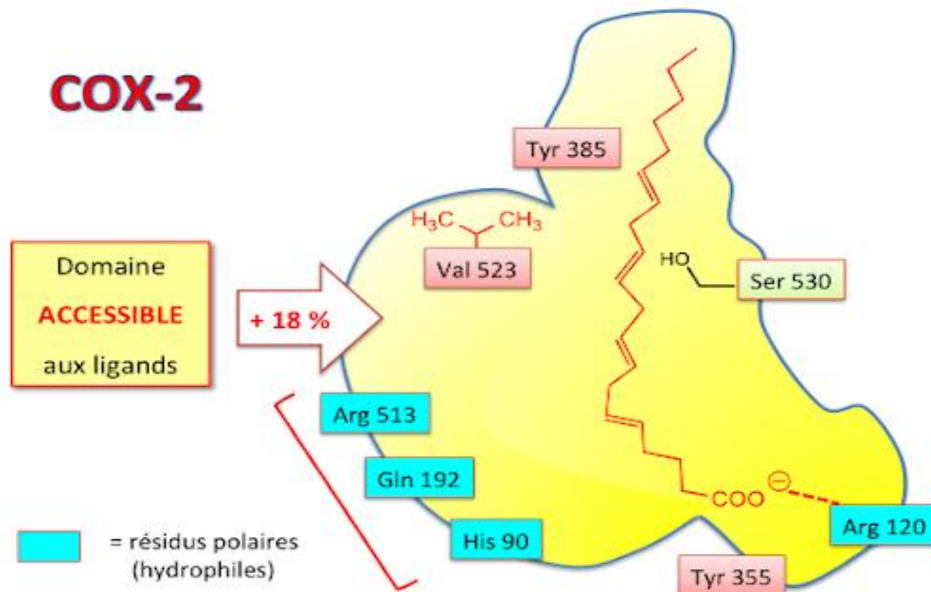


Figure 1.7. site actif de la COX-2 (36)


1.4. PTGS2 et le système immunitaire

La COX-2 permet la synthèse de PGs et la surexpression de la COX-2 augmente considérablement le niveau de PGs dans des nombreuses maladies (Maladies inflammatoires, maladies infectieuses, cancers, maladies auto-immunes.....), ce qui en fait un acteur essentiel dans leur pathogénèse. Il est démontré que la PGE2 produite dans plusieurs types de cancers inhibe la prolifération cellulaire des cellules B et T du système immunitaire et la synthèse des cytokines du système immunitaire en plus de diminuer l'activité cytotoxique des cellules NK (37,38). Cet effet antiprolifératif contribue à la suppression du système immunitaire associée aux PGs. La PGE2 inhibe la production de TNF- α et induit IL-10, qui ont des effets immunosuppresseurs. Les PGs produites suite à la surexpression de la COX-2 permettent ainsi aux cellules transformées de déjouer la surveillance immunitaire(39).

1.4.1. PTGS2 dans l'inflammation

1.4.1.1. L'inflammation

L'inflammation est la réponse du système immunitaire à stimuli nocifs, tels que les agents pathogènes, les cellules endommagées, les composés toxiques, ou l'irradiation, et agit en éliminant les stimuli nuisibles et en initiant le processus de guérison. L'inflammation est un mécanisme de défense vital pour la santé. Habituellement, lors d'une réponse inflammatoire aiguë, les événements et les interactions cellulaires et moléculaires minimisent efficacement les blessures ou les infections imminentes. Ce processus d'atténuation contribue à la restauration de l'homéostasie des tissus et à la résolution de l'inflammation aiguë.



Cependant, une inflammation aiguë non contrôlée peut devenir chronique, contribuant à une variété de maladies inflammatoires chroniques (40).

Le but de l'inflammation est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Mais, parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de la persistance de l'agent pathogène dans le siège de l'inflammation, par anomalies de régulation du processus inflammatoire ou par anomalies quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation (41,42).

1.4.1.1.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est la réponse immédiate de l'organisme à un agent agresseur, elle est caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses et par une forte présence des polymorphonucleaires au niveau du foyer inflammatoire (43). La réponse inflammatoire aiguë est un processus rapide et dynamique qui guérit spontanément. Dans ce cas, un équilibre entre des facteurs pro-inflammatoires responsables de l'initiation et de l'amplification de cette réponse et d'autres anti-inflammatoires associés à sa résolution est établi (44).

1.4.1.1.2. L'inflammation chronique

Elle se produit suite à une infection non résolue, à la persistance d'un corps étranger, une exposition chimique continues ou à la récurrence d'inflammations aiguës (11).

1.4.1.2. PTGS2 et cancer

L'inflammation chronique a été proposée comme un mécanisme important impliqué dans l'initiation et la progression des tumeurs épithéliales en induisant la division et la prolifération cellulaires, en inhibant l'apoptose et en stimulant l'angiogenèse (45) .

Les prostaglandines sont des molécules d'un intérêt particulier dans la réponse inflammatoire. Les COX1 et COX2 sont les enzymes limitant la vitesse de production des prostaglandines. COX 2, qui est induite dans la réponse inflammatoire, est responsable de la majorité des prostaglandines présentes lors de la réponse immunitaire à l'inflammation (10). Le mécanisme par lequel la COX-2 est régulée à la hausse dans les cancers humains est largement inconnu. Une hypothèse suggère que les cellules cancéreuses deviennent intrinsèquement plus actives dans l'expression de COX-2 parce que l'expression du gène COX-2 est induite par l'activation des oncogènes, qui à leur tour activent les transducteurs de signal tels que les MAP (mitogen activated protein) kinases et pAkt (protéine kinase B) qui peuvent stimuler la transcription de COX-2 et augmenter la stabilité de la transcription (Figure 1.8) (46,47). Par ailleurs, il a été démontré que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) protègent contre le cancer (48).

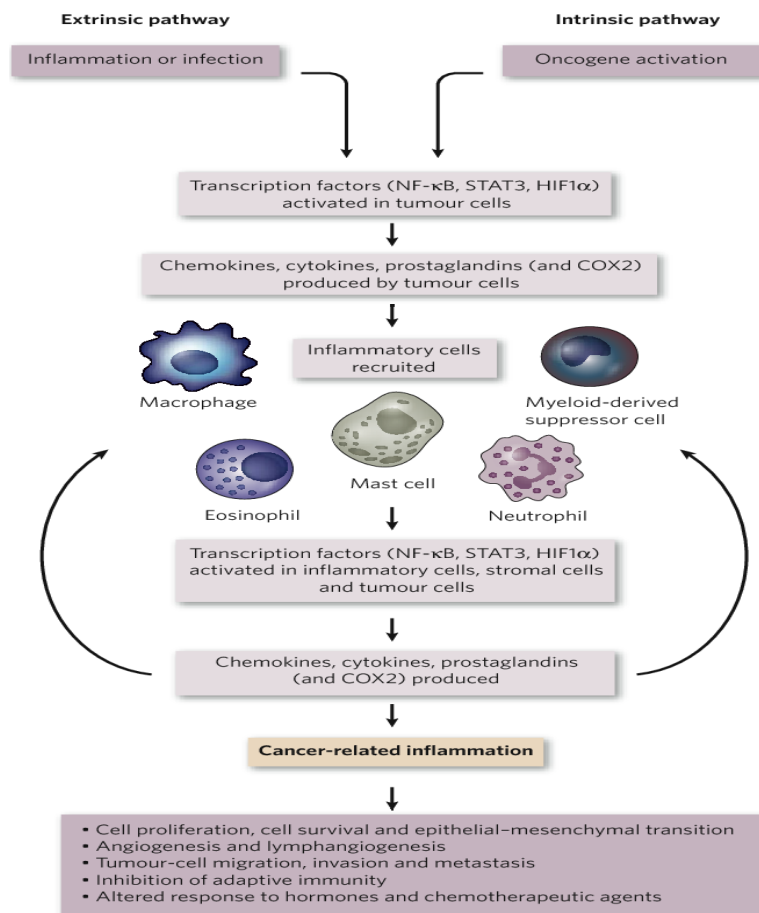


Figure 1.8. Voies qui relient l'inflammation et le cancer(49).

1.4.2. PTGS2 dans l'auto-immunité

1.4.2.1. Les maladies auto-immunes (MAI)

Les maladies auto-immunes (MAI) sont la conséquence d'une dérégulation du système immunitaire entraînant une réponse immunologique inadaptée de l'organisme contre les antigènes du soi à l'origine d'un processus pathologique (50).

Les mécanismes à l'origine des MAI sont variés. En l'absence de toute pathologie, il existe chez l'individu sain des lymphocytes B et des lymphocytes T autoréactifs, ainsi que des autoanticorps. L'apparition de manifestations auto-immunes est en règle la conséquence d'un défaut de vigilance/contrôle du système immunitaire entraînant une rupture de tolérance vis-à-vis des antigènes du soi. Il peut s'agir d'un déficit quantitatif ou qualitatif de certaines populations de lymphocytes dont le rôle est de réguler le système immunitaire (les lymphocytes T régulateurs ou Treg) ou de l'émergence d'un clone lymphocytaire T ou B autoréactif, c'est à-dire reconnaissant un autoantigène (51).

1.4.2.2. PTGS2 et le diabète de type 1

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune caractérisée par la destruction des cellules B des îlots pancréatiques de Langerhans responsables de la production d'insuline, suivie d'une perte de synthèse d'insuline et d'une hyperglycémie. Il est suggéré que les interactions entre les facteurs environnementaux, le système immunitaire et les gènes de l'hôte conduisent au diabète de type 1, mais les événements initiaux de la pathogenèse qui causent la mort des cellules B ne sont pas résolues. L'exposition à des toxines ou à des agents infectieux (52) a été étudiée pour son rôle potentiel dans le déclenchement de la mort des cellules B, qui est considérée comme un événement précoce conduisant à l'activation des cellules T et à la perte de tolérance (53).

PTGS-1 et PTGS-2 sont impliqués dans le mécanisme déclencheur du DT1 (10). Très probablement, les deux enzymes sont exprimées dans le tissu pancréatique, et il existe des preuves que PTGS-2 plutôt que PTGS-1 est principalement exprimée dans les îlots de Langerhans (54). Les rôles joués par les enzymes PTGS dans les cellules B n'ont pas été entièrement établis, mais il existe de bonnes preuves qu'au moins PTGS-2 est impliqué dans les lésions des cellules B médiées par les cytokines (48).


1.4.3. PTGS2 dans l'immunité anti-infectieuse

La COX2 participe à la régulation de la réplication virale et à la modulation des réponses inflammatoires après infection. Un certain nombre d'études soutiennent le rôle de la PGE2 dans la modulation de la réplication et de la virulence du virus d'une manière sélective de type cellulaire et de virus. L'infection virale stimule également l'expression d'un certain nombre de produits géniques pro-inflammatoires, notamment la COX-2, l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) ainsi que les cytokines pro-inflammatoires (55).

1.4.3.1. PTGS2 et virus de l'immunodéficience humaine

L'activation immunitaire chronique accompagne l'infection chronique par le (virus de l'immunodéficience humaine) VIH et accélère le développement d'une déficience immunitaire. Alors que la caractéristique de la primo-infection à VIH est une perte de lymphocytes T CD4 aux sites muqueux et ailleurs, l'infection chronique à VIH est caractérisée par l'incapacité du système immunitaire pour contrôler la réplication virale ainsi que par un état d'activation immunitaire chronique (56).

L'infection chronique par le VIH est caractérisée par une activation immunitaire chronique et des lymphocytes T dysfonctionnels avec AMP cyclique intracellulaire (AMPc), qui inhibe la



capacité d'activation des lymphocytes T. L'AMPc peut être induit par la prostaglandine E2 après une régulation positive induite par le LPS de la COX-2 dans les monocytes en raison des taux élevés de LPS chez les patients atteints d'une infection chronique par le VIH (57,58).

1. 4.3.2. PTGS2 dans l'infection au nouveau coronavirus humain

COVID-19 ou coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SRAS-COV-2) est une maladie virale hautement contagieuse. Récemment (30 avril 2020) nous avons effectué une recherche documentaire pour tous les documents publiés sur le COVID 19 et l'acide arachidonique (AA) (59).

La COX-2 et les prostaglandines (PG), en particulier la PGE2, ont une action pro-inflammatoire dans la physiopathologie du COVID19. L'acide arachidonique peut agir comme composé antiviral endogène. Une carence en AA peut rendre les humains plus sensible au COVID-19. Cibler ces médiateurs pro-inflammatoires peut aider à diminuer le taux de mortalité et de morbidité chez les patients COVID-19 (60). En ce qui concerne les différences entre les sexes, Pace et al. observé que dans humains au cours d'une inflammation aiguë, il y avait une augmentation expression de COX-2 et PGE2 chez les hommes vs femmes (61). Suite à ces constatations, il est possible que l'augmentation de PGE2 chez les hommes peuvent être l'un des facteurs soulignés contribuant à une infection plus sévère au COVID-19 chez les hommes (62).

1.5. Implications thérapeutiques


1.5.1. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)

L'observation que la COX est la cible pharmacologique des anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) a été rapportée initialement par Vane en 1971 (10).

Il démontrait que l'acide acétylsalicylique (aspirine) inhibait la production de PGs impliquées dans l'inflammation en bloquant l'activité enzymatique de la COX. Les AINS sont depuis utilisés pour supprimer l'inflammation, diminuer la douleur, la fièvre et prévenir les thromboses.

Les AINS traditionnels comme l'aspirine, l'ibuprofène et l'indométacine inhibent les deux isoformes de la COX en les modifiant de façon covalente ou en créant une compétition de liaisons avec le substrat au site actif. De légères différences aux sites actifs des deux isoformes expliquent les effets différents des inhibiteurs sur l'activité enzymatique des deux enzymes (40).

En plus de leur rôle anti-inflammatoire et analgésique, plusieurs AINS sont reconnus depuis le début des années 90 comme étant des agents pouvant prévenir certaines formes de



cancers. Plusieurs études épidémiologiques démontrent que la prise quotidienne d'AINS diminue l'incidence de cancer du côlon, du sein et des poumons (23,50).

Les caractéristiques analgésiques, anti-inflammatoires ainsi que la potentielle propriété anti-cancer de plusieurs AINS sont reliées selon de nombreuses études à leur capacité d'inhiber particulièrement l'activité enzymatique de la COX-2 (17,40). La COX-2 est effectivement devenue une cible thérapeutique pour la prévention et/ou la thérapie de nombreuses tumeurs solides telle que le cancer du sein (11) .

1.5.2.Les inhibiteurs synthétiques

Plusieurs molécules synthétisées sont maintenant considérées comme les principaux agents thérapeutiques pour le traitement et la prévention des maladies inflammatoires. Les AINS regroupent l'ensemble des médicaments symptomatiques inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines. Ils agissent principalement au niveau de la cascade de l'acide arachidonique et plus précisément par blocage d'enzymes de cyclooxygénases , Développement et validation de la plateforme de criblage virtuel (20).

COX-2 est la cible des AINS (par exemple, l'indométhacine, le flurbiprofène) et d'inhibiteurs spécifiques (par exemple, le rofécoxib, le célécoxib, l'étoricoxib). Ces anti-inflammatoires sont pour la plupart des inhibiteurs compétitifs de COX-2. COX-2 présente une extension du côté C-term et un site de liaison aux AINS plus important qui permet la reconnaissance spécifique de COX-2 par les inhibiteurs spécifiques (Figure 9). L'un des premiers AINS à avoir été découvert est l'acide acétylsalicylique (aspirine), qui a été isolé en 1829 (6). L'aspirine est capable d'acétyler le site actif de COX sur un résidu sérine qui conduit à une inhibition irréversible (2,15).

1.5.3.Les inhibiteurs spécifiques de la PTGS2 ou coxibs

Les nouveaux AINS sont des inhibiteurs spécifiques de la COX-2. Ils ont été élaborés pour cibler l'excès de PGs au site inflammatoire en respectant les PGs produites par la COX-1 dans les tissus sains. L'utilisation d'AINS non-spécifiques est associée à des effets indésirables créés par l'inhibition de la COX-1. En effet, ils inhibent la synthèse des PGs impliquées dans l'homéostasie cellulaire et qui sont des produits majoritairement synthétisés par la COX-1. Les AINS non-spécifiques perturbent également l'homéostasie corporelle par l'inhibition de l'agrégation des plaquettes et la réduction des PGs cytoprotectives comme la PGI2 ou la PGE2, qui se traduit par des effets néfastes sur les reins ainsi que par des ulcérations et perforations du tractus gastro intestinal (11).

Les inhibiteurs de COX-2 peuvent être séparés en trois catégories. Il y a tout d'abord les AINS classiques qui sont capables d'inhiber l'activité de COX-1 et de COX-2. Puis, il y a les inhibiteurs spécifiques de COX-2 ou coxibs, qui n'inhibent que l'activité de COX-2. Enfin, il y a le nimésulide et le méloxicam qui sont souvent désignés comme inhibiteurs préférentiels de COX-2 en raison de leur capacité à inhiber COX-1 mais seulement pour les plus fortes posologies recommandées (4).

La sélectivité de différents AINS est indiquée dans le tableau 1.3.

AINS non-sélectifs	AINS sélectifs de la COX-2	AINS hautement sélectifs à la COX-2
Aspirine® Diclofenac (Voltaren®) Ibuprofène (Advil®, Motrin®) Indométacine Resvératrol (Polyphénol, Trihydroxystilbène)	Etodolac (Lodine®) Meloxicam (Mobic®, Metacam®) Nimesulide	Célécoxib (Celebrex®) Rofecoxib (Vioxx®) Parecoxib

Tableau 1.3 : Sélectivité de différents AINS pour la COX-1 et la COX-2 (4) .

1.4.3.1. Le médicament rofécoxib (vioxx) qui a été retiré du marché

Le développement récent d'AINS COX-2 sélectifs a permis d'améliorer nettement la sécurité gastro-intestinale de cette famille de produits en comparaison aux AINS non sélectifs conventionnels. Une controverse est cependant apparue dans la littérature internationale à propos de la sécurité cardio-vasculaire des AINS COX-2 sélectifs. Le médicament rofécoxib a été retiré du marché en, en raison d'une incidence accrue de complications cardio-vasculaires, en particulier d'infarctus aigu du myocarde. Ce scandale sanitaire a soulevé la suspicion vis-à-vis l'ensemble de la classe des AINS COX-2 sélectifs (63).

1.6.Elaboration des amorces

1.6.1.Définition des amorces

Les amorces sont de courtes séquences oligonucléotidiques d'ADN monocaténaire, utilisées lors des réactions de polymérisation en chaîne (PCR) pour borner l'amplicon. Elles doivent être spécifiques de la séquence à amplifier, stables et compatibles entre elles.

1.6.2.Définition de PCR :

La polymerase chain reaction (PCR) permet d'amplifier des séquences autour des sites de mutations en quantités suffisantes pour réaliser l'analyse par RFLP (l'anglais restriction fragment length polymorphism), le concept technologique de la PCR.

Découvertes par Kary Mullis en 1983, les techniques PCR sont devenues essentielles pour beaucoup de procédures communes, telles que le clonage de fragments d'ADN spécifiques, la détection et l'identification de gènes à des fins de diagnostic en médecine légale ainsi que dans la recherche sur les modes d'expression génique (64,65).

1.6.3.Le but de la PCR :

Le but de la PCR est de reproduire partiellement in vitro le mécanisme de réplication naturelle de l'ADN au lieu de répliquer un génome complet et d'obtenir des millions de copies d'une séquence d'ADN.

1.6.4.Principe de la PCR

La PCR est basée sur le mécanisme de la réplication de l'ADN in vivo: l'ADN bicaténaire est déroulé en ADN monocaténaire, puis dupliqué et «ré enroulé». Cette technique comprend les cycles répétitifs suivants:

-La dénaturation :

C'est la séparation des deux brins d'ADN obtenue par élévation de la température de 94 °C.

-L'hybridation : En abaissant la température, les amorces spécifiques s'hybrident sur les molécules simples-brin d'ADN (50°C pendant 30 secondes à une minute).

-L'élongation :

Extension de la chaîne d'ADN par addition de nucléotides (dNTPs)

(désoxyribonucléoside triphosphate) à partir des amorces en utilisant l'ADN polymérase comme catalyseur en présence d'ions Mg^{2+} (72°C pendant 30 secondes à 2 minutes) (

Figure 1.9).

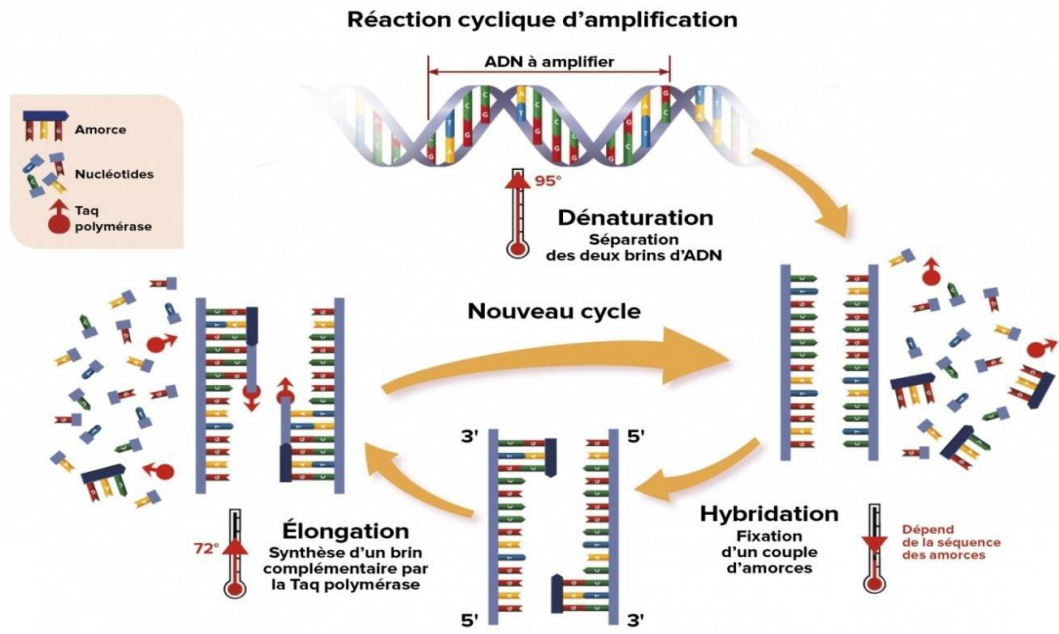


Figure 1.9: Les étapes de l'amplification PCR

Chapitre II

2. Matériels et méthodes

2.1. Conception des amorces pour la PCR

La conception des amorces appropriées est essentielle à la réussite d'une expérience de PCR. Lors de la conception d'un ensemble d'amorces à une région spécifique de l'ADN désiré pour l'amplification, une amorce doit s'hybrider au brin plus, qui, par convention est orienté dans le sens 5' → 3' (aussi connu comme le sens ou non template brin) et l'autre amorce doit compléter le brin moins, qui est orientée dans la 3' → 5' (antisens ou brin matrice) (66).

La conception des amorces est sans doute le paramètre le plus important pour le succès de la PCR. Toutes choses égales par ailleurs, une amorce mal conçue peut empêcher le fonctionnement de la réaction PCR. La séquence d'amorce détermine plusieurs choses, telles que la position et la longueur du produit, sa température de fusion et finalement le rendement (67) .


2.2. Sélections d'amorces

Plusieurs variables doivent être prises en considération lors de la conception des amorces pour la PCR .Les plus importantes sont :

- La longueur de l'amorce.
- La température de fusion (Tf).
- La spécificité.
- Les séquences d'amorce non complémentaires.
- La teneur en G/C et suites polypyrimidine (T, C) ou polypurine (A, G).
- La séquence à l'extrémité 3'.

2.2.1. La longueur de l'amorce

La température et le temps d'hybridation dépendent en partie de la longueur de l'amorce. Ce paramètre est essentiel pour le succès de la PCR. En général, les oligonucléotides entre 18 et 24 bases sont extrêmement spécifiques de la séquence, à condition que la température d'hybridation soit optimale. La longueur de l'amorce est également proportionnelle à



l'efficacité de l'hybridation. Pour qu'une séquence d'amorce soit choisie, poly C et poly G ne doivent pas être présents.

2.2.3. La température de fusion

La température de fusion optimale pour les apprêts varie de 52 à 58 °. Les températures finales pour les deux amorces ne doivent pas différer de plus de 5 °C. Le plus simple est d'utiliser les logiciels de conception d'amorces déjà disponibles sur le marché (67).

2.2.4. La spécificité

Comme mentionné ci-dessus, la spécificité de l'amorce dépend au moins en partie de la longueur de l'apprêt. Les amorces doivent être choisies de façon à ce qu'elles aient une séquence unique dans l'ADN matrice à amplifier. Un apprêt conçu avec une séquence très répétitive entraînera un frottis (un prélèvement médical au moyen d'un écouvillon stérile, d'une petite brosse ou d'une petite spatule) lors de l'amplification de l'ADN génomique. Cependant, la même amorce peut donner une seule bande si un seul clone de la bibliothèque génomique est amplifié (68).

2.2.5. Les séquences d'amorce complémentaire

Les amorces doivent être conçues sans aucune homologie intra-amorce au-delà de 3 paires de bases. Si un apprêt a une telle région d'auto-homologie, un «retour en arrière» peut se produire. Un autre danger lié est l'homologie inter-amorces: une homologie partielle au milieu des deux amorces peut interférer avec l'hybridation. Si l'homologie doit se produire à l'extrémité 3' de l'une ou l'autre des amorces, la formation de dimères d'amorce se produira.

2.2.6. La teneur en G/C et suites polypyrimidine (T, C) ou polypurine (A, G)

Les amorces devraient être composées à 45-55 % de GC. La séquence d'amorce doit être choisie de telle sorte qu'il n'y ait aucune suite poly-G ou poly-C pouvant promouvoir une hybridation non spécifique. Les suites polypyrimidine (T, C) et polypurine (A, G) devraient également être évitées. Idéalement, l'amorce présentera un mélange presque aléatoire de nucléotides, une teneur de 50 % en GC et une longueur d'environ 20 bases. La Tf se situera alors entre 56 et 62 °C (69) .

2.2.7. La séquence à l'extrémité 3'

Il est bien établi que la position 3' terminale dans les amorces PCR est essentielle pour le contrôle du mauvais amorçage (<https://doi.org/10.1093/nar/18.4.999>) . Les amorces

devraient être plus «collantes» à leurs extrémités 5' qu'à leurs extrémités 3'. Une extrémité "collante" 3' comme indiqué par un contenu G / C élevé pourrait recuire potentiellement à plusieurs sites sur l'ADN matrice. Un "G" ou "C" est souhaitable à l'extrémité 3' mais la première partie de cette règle devrait s'appliquer. Cette pince GC réduit les parasites bandes secondaires (70).

Finalement, une bonne paire d'amorces doit :

- être spécifique à la région désirée seulement
- ne pas avoir de complémentarité entre les amorces sens et anti sens,
- avoir une longueur entre 20 a 25 nucléotides
- avoir une teneur en GC =40% en 3'
- avoir une différence entre température d'hybridation (Tm) et amorces <4 C°.

2.3. La séquence du gène PTGS2

2.3.1. La séquence du gène PTGS2 a été extraite depuis la base de données db SNP de NCBI via le site (71) (Figure 2.10),(Figure 2.11),(Figure 2.12) .

Figure 2.10 : Plateforme de la base de données Ensembl

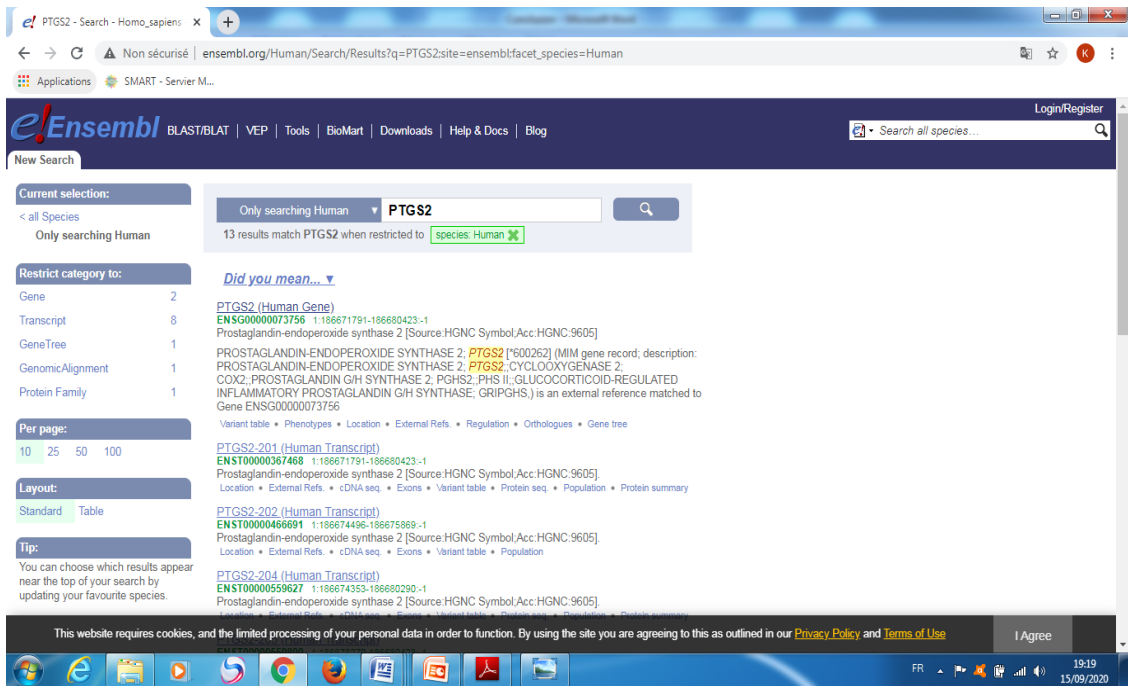


Figure 2.11 : Introduction du gène PTGS2 dans la base de données ENSEMBL

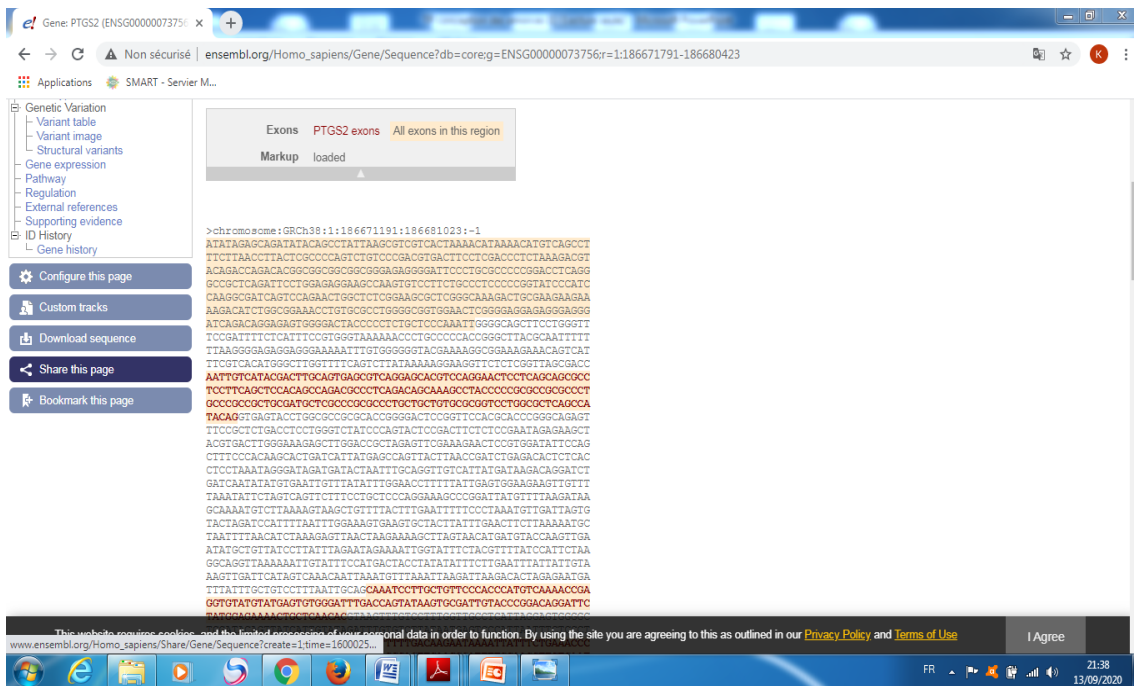


Figure 2.12: Code donné pour le gène PTGS2

2.3.2- Primer Blast :

L'outil Primer-Blast est le logiciel qui nous permet une conception d'amorces les plus spécifiques de la séquence que l'on veut amplifier. Ce Logiciel (Primer3) est retrouvé en

ligne en libre-service, dans la banque de données du National Center for Biotechnology Information (ncbi) www.ncbi.nlm.nih.gov (72,73).

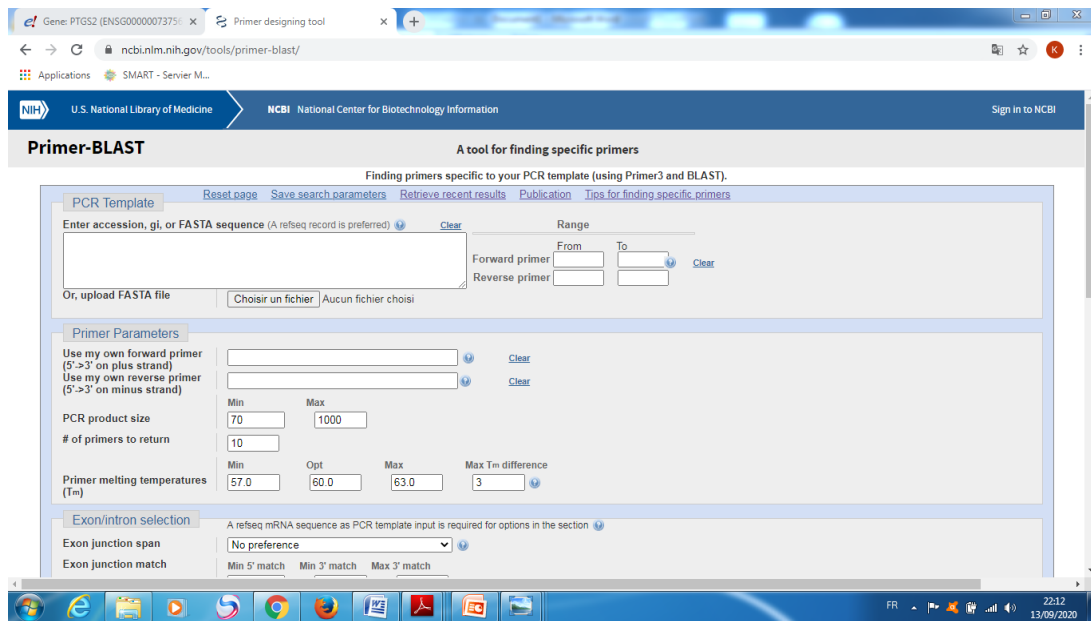


Figure 2.13 : Interface du logiciel Primer-Blast

Nous avons choisi notre paire d'amorces pour répondre aux conditions ci-dessus. Afin de nous assurer que notre produit spécifique est amplifié, il faut cibler l'amorce avec le moins de produits aspécifiques (Figure 2.14).

Primer-BLAST

A tool for finding specific primers

Finding primers specific to your PCR template (using Primer3 and BLAST).

[Primers for target on one template](#)

[Primers common for a group of sequences](#)

PCR Template [Reset page](#) [Save search parameters](#) [Retrieve recent results](#) [Publication](#) [Tips for finding specific primers](#)

Enter accession, gi, or FASTA sequence (A refseq record is preferred) [Clear](#)

```
TCCGATTTTCTCATTTCGGTAAAGAAACCCCTGCCCCACCAGGTTACGCAATTTTTTAAGGGGAGAGGGGAAAA
ATTTGTGGGGGTACGAAAAGCGAAAAGAACAGTCATTTCGTACATGGGCTGGTTTTCACTTATAAAAAAGGAAG
TTCTCTCGGTAGCGACCAATTGTCTACGACTTGCAGTGAAGGCTCAGGACACGTCCAGGAACTCTCAGCAGCGCTCC
TTCAAGCTCCAGCGAGACCGCTTCAAGCAGCAAGCAAGCTACCCCGCCCGCCGCTTGGCCCGCTGCGATGCTCGCCG
CGCCCTGCTGTGCGGCTCTGGGCTCAGCCATACAGGTGAGTACTTGGCCCGCCGACACCGGGGACTCCGTTCCAC
```

Or, upload FASTA file Aucun fichier choisi

Range

Forward primer

Reverse primer

Primer Parameters

Use my own forward primer (5'->3' on plus strand) [Clear](#)

Use my own reverse primer (5'->3' on minus strand) [Clear](#)

PCR product size

of primers to return

Primer melting temperatures (Tm) [Clear](#)

Exon/intron selection [A refseq mRNA sequence as PCR template input is required for options in the section](#)

Exon junction span

Figure 2.14: Séquence du gène PTGS2 avec le paramètre qui convient

III. Résultats de conception des amorces « Primer Blast » : (Figure 2.15),((Figure 2.16)

Primer pair 4

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GGGGTACGAAAAGCGGAAA	Plus	20	90	109	60.61	55.00	4.00	0.00
Reverse primer	CGGTCCAAGCTCTTTCCCAA	Minus	20	507	488	60.25	55.00	4.00	1.00
Product length	418								

Products on potentially unintended templates

>[NC_000001.11](#) Homo sapiens chromosome 1, GRCh38.p13 Primary Assembly

product length = 418

Features associated with this product:

[prostaglandin G/H synthase 2 precursor](#)

```
Forward primer 1 GGGGTACGAAAAGCGGAAA 20
Template 186680514 ..... 186680495
Reverse primer 1 CGGTCCAAGCTCTTTCCCAA 20
Template 186680097 ..... 186680116
```

>[NC_000006.12](#) Homo sapiens chromosome 6, GRCh38.p13 Primary Assembly

product length = 3009

Features flanking this product:

[32156 bp at 5' side: connector enhancer of kinase suppressor of ras 3 isoform 3](#)
[188145 bp at 3' side: SR-related and CTD-associated factor 8 isoform a](#)

```
Forward primer 1 GGGGTACGAAAAGCGGAAA 20
Template 154545277 ....ATG.....G..... 154545258
Reverse primer 1 CGGTCCAAGCTCTTTCCCAA 20
Template 154542269 A..G...G...G..... 154542288
```

>[NC_000014.9](#) Homo sapiens chromosome 14, GRCh38.p13 Primary Assembly

Figure 2.15: Résultats de la conception sur primer blast

```
product length = 3709
Features flanking this product:
129258 bp at 5' side: protein cordon-bleu isoform c
1586073 bp at 3' side: POM121-like protein 12

Reverse primer 1 CGGTCCAAGCTCTTTCCCAA 20
Template 51449598 .A.G.....C.....G 51449579

Reverse primer 1 CGGTCCAAGCTCTTTCCCAA 20
Template 51445890 AAA.....G...C. 51445909

product length = 1661
Features associated with this product:
protein cordon-bleu isoform X8
protein cordon-bleu isoform X11

Reverse primer 1 CGGTCCAAGCTCTTTCCCAA 20
Template 51083990 .CT.....C....C. 51083971

Reverse primer 1 CGGTCCAAGCTCTTTCCCAA 20
Template 51082330 .....G.AGG...G. 51082349

product length = 1213
Features flanking this product:
3682 bp at 5' side: gamma-secretase-activating protein isoform X8
116332 bp at 3' side: tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 12 isoform 1

Forward primer 1 GGGGTACGAAAAGCGGAAA 20
Template 77421214 TA..A.G.....A.... 77421195

Reverse primer 1 CGGTCCAAGCTCTTTCCCAA 20
Template 77420002 AAT.....GA..... 77420021

>NC\_000004.12 Homo sapiens chromosome 4, GRCh38.p13 Primary Assembly

product length = 3281
Features associated with this product:
complement C1q tumor necrosis factor-related protein 7 is...
```

Figure 2.16: Résultats de la conception sur primer blast

IV-Conclusion et perspectives

COX-2 est une enzyme clé dans le processus inflammatoire. Elle joue un rôle important dans la stimulation de la réponse immunitaire anti-inflammatoire. Son inhibition permet de lutter contre l'inflammation. Son niveau d'expression est corrélé avec stade avancé des cancers. Elle a également un rôle central dans les maladies auto-immunes notamment dans le DT 1 et dans l'immunité anti-infectieuse.

Pour les traitements de COX 2 sélectifs nous utilisons le AINS qui inhibent COX2 pour supprimer l'inflammation, fièvre.....

Ce travail qui reprend largement les données de la littérature nous a également permis d'élaborer une amorce PCR valide afin de permettre l'amplification du gène PTGS2.

Le gène PTGS2 amplifié permettra d'étudier l'impact COX2 dans l'induction de l'immunité contre les antigènes et contre diverses maladies dangereuses ou invalidantes.

Liste des références


1. Lefebvre Y. [Not Available]. Can Fam Physician Med Fam Can. août 1975;21(8):103-5.
2. Minghetti L. Cyclooxygenase-2 (COX-2) in Inflammatory and Degenerative Brain Diseases. J Neuropathol Exp Neurol. sept 2004;63(9):901-10.
3. Chandrasekharan N, Simmons DL. [No title found]. Genome Biol. 2004;5(9):241.
4. Prescott SM, Fitzpatrick FA. Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer. mars 2000;1470(2):M69-78.
5. Xie CY, Knowles P. Spatial genetic substructure within natural populations of jack pine (*Pinus banksiana*). Can J Bot. 1 mars 1991;69(3):547-51.
6. Funk SG, Champagne MT, Wiese RA, Tornquist EM. Barriers to using research findings in practice: The clinician's perspective. Appl Nurs Res. mai 1991;4(2):90-5.
7. Campbell CG, Mehra RB, Agrawal SK, Chen YZ, Abdel Moneim AM, Khawaja HIT, et al. Current status and future strategy in breeding grasspea (*Lathyrus sativus*). In: Muehlbauer FJ, Kaiser WJ, éditeurs. Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 1994 [cité 19 sept 2020]. p. 617-30. (Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture; vol. 19). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-94-011-0798-3_37

8. Van Der Ouderaa FJ, Buytenhek M, Nugteren DH, Van Dorp DA. Purification and characterisation of prostaglandin endoperoxide synthetase from sheep vesicular glands. *Biochim Biophys Acta BBA - Lipids Lipid Metab.* mai 1977;487(2):315-31.
9. Blain H, Jouzeau JY, Netter P, Jeandel C. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Rev Médecine Interne.* nov 2000;21(11):978-88.
10. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. CYCLOOXYGENASES 1 AND 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* avr 1998;38(1):97-120.
11. Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell.* mars 2010;140(6):805-20.
12. Miller YI, Choi S-H, Fang L, Harkewicz R. Toll-Like Receptor-4 and Lipoprotein Accumulation in Macrophages. *Trends Cardiovasc Med.* oct 2009;19(7):227-32.
13. Mangoni AA, Crilly MA, Knights KM. Cardiovascular toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: moving beyond cyclooxygenase selectivity. *Expert Rev Clin Pharmacol.* mai 2011;4(3):299-302.
14. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KLT, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci.* 15 oct 2002;99(21):13926-31.
15. Ljungqvist A, Jenoure P, Engebretsen L, Alonso JM, Bahr R, Clough A, et al. The International Olympic Committee (IOC) Consensus Statement on periodic health evaluation of elite athletes March 2009. *Br J Sports Med.* 1 sept 2009;43(9):631-43.
16. Brache V, Cochon L, Jesam C, Maldonado R, Salvatierra AM, Levy DP, et al. Immediate pre-ovulatory administration of 30 mg ulipristal acetate significantly delays follicular rupture. *Hum Reprod.* 1 sept 2010;25(9):2256-63.
17. Kurumbail RG, Stevens AM, Gierse JK, McDonald JJ, Stegeman RA, Pak JY, et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature.* déc 1996;384(6610):644-8.
18. Smith WL, Malkowski MG. Interactions of fatty acids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and coxibs with the catalytic and allosteric subunits of cyclooxygenases-1 and -2. *J Biol Chem.* 01 2019;294(5):1697-705.
19. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem.* 15 juill 1991;266(20):12866-72.
20. Otto JC, Smith WL. Prostaglandin endoperoxide synthases-1 and -2. *J Lipid Mediat Cell Signal.* oct 1995;12(2-3):139-56.
21. Copeland RA, Williams JM, Giannaras J, Nurnberg S, Covington M, Pinto D, et al. Mechanism of selective inhibition of the inducible isoform of prostaglandin G/H synthase. *Proc Natl Acad Sci.* 8 nov 1994;91(23):11202-6.

22. Fletcher BS, Kujubu DA, Perrin DM, Herschman HR. Structure of the mitogen-inducible TIS10 gene and demonstration that the TIS10-encoded protein is a functional prostaglandin G/H synthase. *J Biol Chem*. 5 mars 1992;267(7):4338-44.
23. Christie P, White A, Deguit E. Starting point or solution? Community-based marine protected areas in the Philippines. *J Environ Manage*. déc 2002;66(4):441-54.
24. Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, et al. ACC/AHA 2005 Guideline Update for the Diagnosis and Management of Chronic Heart Failure in the Adult—Summary Article. *J Am Coll Cardiol*. sept 2005;46(6):1116-43.
25. Rouzer CA, Marnett LJ. Cyclooxygenases: structural and functional insights. *J Lipid Res*. avr 2009;50(Supplement):S29-34.
26. Hinz B, Brune K. Cyclooxygenase-2—10 Years Later. *J Pharmacol Exp Ther*. 1 févr 2002;300(2):367-75.
27. Gauthier N. Une grande dame, Chrodoara d'Amay. *Antiq Tardive*. janv 1993;2:251-61.
28. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J*. sept 1992;6(12):3051-64.
29. Britt Jr. RD, Locy ML, Tipple TE, Nelin LD, Rogers LK. Lipopolysaccharide-induced Cyclooxygenase-2 Expression in Mouse Transformed Clara Cells. *Cell Physiol Biochem*. 2012;29(1-2):213-22.
30. Tsatsanis C, Androulidaki A, Venihaki M, Margioris AN. Signalling networks regulating cyclooxygenase-2. *Int J Biochem Cell Biol*. janv 2006;38(10):1654-61.
31. Luong Q-T, Faugeras OD. The fundamental matrix: Theory, algorithms, and stability analysis. *Int J Comput Vis*. janv 1996;17(1):43-75.
32. Miyamoto J. Degradation, metabolism and toxicity of synthetic pyrethroids. *Environ Health Perspect*. avr 1976;14:15-28.
33. de Melo TRF, Chelucci RC, Pires MEL, Dutra LA, Barbieri KP, Bosquesi PL, et al. Pharmacological evaluation and preparation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs containing an N-acyl hydrazone subunit. *Int J Mol Sci*. 4 avr 2014;15(4):5821-37.
34. Mccall GE, Byrnes WC, Fleck SJ, Dickinson A, Kraemer WJ. Acute and Chronic Hormonal Responses to Resistance Training Designed to Promote Muscle Hypertrophy. *Can J Appl Physiol*. 1 févr 1999;24(1):96-107.
35. Sofroniew MV, Howe CL, Mobley WC. Nerve Growth Factor Signaling, Neuroprotection, and Neural Repair. *Annu Rev Neurosci*. mars 2001;24(1):1217-81.
36. Cao Z, Xiong J, Takeuchi M, Kurama T, Goeddel DV. TRAF6 is a signal transducer for interleukin-1. *Nature*. oct 1996;383(6599):443-6.
37. Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell*. nov 1995;83(3):493-501.

38. Langhendries J-P, Maton P, François-Adant A, Chantrain C, Bury F, Philippet P. Les prostaglandines et l'immunité du chorion sous-muqueux intestinal. Questions à propos de l'usage répété du paracétamol et de l'ibuprofène en bas âge. Arch Pédiatrie. mars 2015;22(3):311-9.
39. Veselovsky AV, Ivanov YuD, Ivanov AS, Archakov AI, Lewi P, Janssen P. Protein-protein interactions: mechanisms and modification by drugs. J Mol Recognit. nov 2002;15(6):405-22.
40. Kuntz ID, Blaney JM, Oatley SJ, Langridge R, Ferrin TE. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. J Mol Biol. oct 1982;161(2):269-88.
41. Jayr C. [Analgesic effects of cyclooxygenase 2 inhibitors]. Bull Cancer (Paris). mai 2004;91 Spec No:S125-131.
42. Musil M. Serological differences between some isolates of bean yellow mosaic virus. Acta Virol. nov 1975;19(6):473-80.
43. Diatchenko L, Lau YF, Campbell AP, Chenchik A, Moqadam F, Huang B, et al. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. Proc Natl Acad Sci. 11 juin 1996;93(12):6025-30.
44. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. Oncotarget. 23 janv 2018;9(6):7204-18.
45. Cochet M, Pannetier C, Regnault A, Darche S, Leclerc C, Kourilsky P. Molecular detection and in vivo analysis of the specific T cell response to a protein antigen. Eur J Immunol. oct 1992;22(10):2639-47.
46. Dallegri F, Ottonello L. Tissue injury in neutrophilic inflammation. Inflamm Res. 1 oct 1997;46(10):382-91.
47. Crenn P, Coudray-Lucas C, Thuillier F, Cynober L, Messing B. Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. Gastroenterology. déc 2000;119(6):1496-505.
48. Heitmeier MR, Kelly CB, Ensor NJ, Gibson KA, Mullis KG, Corbett JA, et al. Role of Cyclooxygenase-2 in Cytokine-induced β -Cell Dysfunction and Damage by Isolated Rat and Human Islets. J Biol Chem. 17 déc 2004;279(51):53145-51.
49. Chandesris M-O, Lanternier F, Lecuit M, Lortholary O. [Infectious complications of immune deficiencies]. Rev Prat. 15 oct 2007;57(15):1653-64.
50. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. Nature. juill 2008;454(7203):436-44.
51. Gupta RA, DuBois RN. Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. Nat Rev Cancer. oct 2001;1(1):11-21.
52. Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, Dang C, Howe LR, Weksler BB, et al. Cyclooxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. Lancet Oncol. sept 2001;2(9):544-51.

53. London J, Mouthon L. Définition et classification des maladies auto-immunes. In: Maladies rares en médecine d'urgence [Internet]. Paris: Springer Paris; 2013 [cité 12 sept 2020]. p. 1-12. (Références en médecine d'urgence. Collection de la SFMU). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-2-8178-0350-0_1
54. Hober D, Sauter P. Pathogenesis of type 1 diabetes mellitus: interplay between enterovirus and host. *Nat Rev Endocrinol.* mai 2010;6(5):279-89.
55. Mathis D, Vence L, Benoist C. β -Cell death during progression to diabetes. *Nature.* déc 2001;414(6865):792- 8.
56. Robertson RP. Dominance of cyclooxygenase-2 in the regulation of pancreatic islet prostaglandin synthesis. *Diabetes.* 1 sept 1998;47(9):1379- 83.
57. Douek DC, Roederer M, Koup RA. Emerging Concepts in the Immunopathogenesis of AIDS. *Annu Rev Med.* févr 2009;60(1):471- 84.
58. Pettersen FO, Torheim EA, Dahm AEA, Aaberge IS, Lind A, Holm M, et al. An Exploratory Trial of Cyclooxygenase Type 2 Inhibitor in HIV-1 Infection: Downregulated Immune Activation and Improved T Cell-Dependent Vaccine Responses. *J Virol.* 1 juill 2011;85(13):6557- 66.
59. Tréchet P, Jouzeau J-Y. Bases chimiques et pharmacologiques des AINS. *Rev Fr Allergol.* avr 2014;54(3):212- 7.
60. Yamaguchi S. [Preventive effects of anti-inflammatory drugs(non steroidal anti-inflammatory drugs) on Alzheimer disease]. *Nihon Rinsho Jpn J Clin Med.* janv 2004;62 Suppl:479- 83.
61. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Intake of Carotenoids and Retino in Relation to Risk of Prostate Cancer. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 6 déc 1995;87(23):1767- 76.
62. Hosono R, Hekimi S, Kamiya Y, Sassa T, Murakami S, Nishiwaki K, et al. The unc-18 Gene Encodes a Novel Protein Affecting the Kinetics of Acetylcholine Metabolism in the Nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Neurochem.* avr 1992;58(4):1517- 25.
63. Nock MK, Borges G, Bromet EJ, Alonso J, Angermeyer M, Beautrais A, et al. Cross-national prevalence and risk factors for suicidal ideation, plans and attempts. *Br J Psychiatry.* févr 2008;192(2):98- 105.
64. Schafer AI. Effects of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs on Platelet Function and Systemic Hemostasis. *J Clin Pharmacol.* mars 1995;35(3):209- 19.
65. Mukherjee D. Risk of Cardiovascular Events Associated With Selective COX-2 Inhibitors. *JAMA.* 22 août 2001;286(8):954.
66. Mullis KB, Faloona FA. [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. In: *Methods in Enzymology* [Internet]. Elsevier; 1987 [cité 20 sept 2020]. p. 335- 50. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0076687987550236>

- 
-
67. Mandaci M, Çakir Ö, Turgut-Kara N, Meriç S, Ari Ş. Detection of genetically modified organisms in soy products sold in Turkish market. *Food Sci Technol Camp.* déc 2014;34(4):717- 22.
68. Tearney GJ, Regar E, Akasaka T, Adriaenssens T, Barlis P, Bezerra HG, et al. Consensus Standards for Acquisition, Measurement, and Reporting of Intravascular Optical Coherence Tomography Studies. *J Am Coll Cardiol.* mars 2012;59(12):1058- 72.
- 69 Kimpton C, Fisher D, Watson S, Adams M, Urquhart A, Lygo J, et al. Evaluation of an automated DNA profiling system employing multiplex amplification of four tetrameric STR loci. *Int J Legal Med.* nov 1994;106(6):302- 11.
- 70 Shore P, Sharrocks AD. The transcription factors Elk-1 and serum response factor interact by direct protein-protein contacts mediated by a short region of Elk-1. *Mol Cell Biol.* mai 1994;14(5):3283- 91.
- 71 Kamel AA-E. Bioinformatic tools and guideline for PCR primer design. *Afr J Biotechnol.* 31 mai 2003;2(5):91- 5.
- 72 Kwok S, Kellogg DE, McKinney N, Spasic D, Goda L, Levenson C, et al. Effects of primer-template mismatches on the polymerase chain reaction: Human immunodeficiency virus type 1 model studies. *Nucleic Acids Res.* 1990;18(4):999- 1005.
- 73 Sheffield VC, Cox DR, Lerman LS, Myers RM. Attachment of a 40-base-pair G + C-rich sequence (GC-clamp) to genomic DNA fragments by the polymerase chain reaction results in improved detection of single-base changes. *Proc Natl Acad Sci.* 1 janv 1989;86(1):232- 6.

Résumé :

La cyclooxygénase 2 ou COX-2 est une enzyme clé dans la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines. Les prostaglandines qu'elle induit sont impliquées dans l'inflammation et la réponse à la douleur dans différents tissus du corps. Ainsi, elle joue un rôle prépondérant dans la pathogenèse des maladies infectieuses, inflammatoires, autoimmunes et des cancers. L'activation de PTGS2 produit la prostaglandine E2, qui agit sur un certain nombre de voies de signalisation cellulaire impliquant la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, l'apoptose, l'invasion et l'immunosuppression qui caractérisent ces maladies. La découverte du mécanisme d'action de la COX-2 a ouvert la voie à la production de nouvelles molécules anti-inflammatoires qui ambitionnent de réduire les effets secondaires des traitements anti-inflammatoires qui existent déjà.

Ce travail se propose de relater le rôle décrit dans la littérature de COX-2 dans l'inflammation et en particulier dans les maladies autoimmunes et les maladies infectieuses, ainsi que de créer une amorce pour Polymerase chain reaction à partir du gène de la COX-2.

Mots clés: PGs , PTGS2 , COX2 , PCR , amplification d' amorce

Abstract :

Cyclooxygenase 2 or COX-2 is a key enzyme in the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. The prostaglandins it induces are involved in inflammation and the pain response in different tissues of the body. Thus, it plays a preponderant role in the pathogenesis of infectious, inflammatory, autoimmune and cancer diseases. Activation of PTGS2 produces prostaglandin E2, which acts on a number of cell signaling pathways involving cell proliferation, angiogenesis, apoptosis, invasion and immunosuppression that characterize these diseases. The discovery of the mechanism of action of COX-2 paved the way for the production of new anti-inflammatory molecules which aim to reduce the side effects of anti-inflammatory treatments that already exist.

This work aims to relate the role described in the literature of COX-2 in inflammation and in particular in autoimmune diseases and infectious diseases, as well as to create a primer for Polymerase chain reaction from the COX-2 gene .

Keywords: PGs, PTGS2, COX2, PCR, primer amplification

ملخص :

كوكس 2 او سيكلوكوكسيناز 2 هو إنزيم رئيسي في تحويل حمض الأراكيدونيك إلى البروستاجلاندين. البروستاجلاندينات تحفز و تشارك في الالتهاب واستجابة الألم في أنسجة الجسم المختلفة، وبالتالي ، فإنه يلعب دورًا مرجحًا في التسبب في الأمراض المعدية والالتهابية وأمراض المناعة الذاتية والسرطان، يؤدي تنشيط -بي تي جي اس 2- إلى البروستاجلاندين 2 ، الذي يعمل على عدد من مسارات إشارات الخلايا التي تشمل تكاثر الخلايا وتكوين الأوعية وموت الخلايا الأمراض. مهد اكتشاف آلية عمل الطريق لإنتاج جزيئات جديدة مضادة للالتهابات تهدف إلى تقليل الآثار الجانبية للعلاجات المضادة للالتهابات الموجودة بالفعل.

يهدف هذا العمل إلى ربط كوكس 2 في الالتهاب وخاصة في أمراض المناعة الذاتية والأمراض المعدية ، بالإضافة إلى إنشاء مادة أولية لتفاعل البوليميراز المتسلسل من مورثة كوكس 2.

الكلمات البحث : PGS ، PTGS2 ، COX2 ، PCR ، تضخيم التمهيدي.