

Résumé en vue de l'obtention de l'HDR - soutenance du 18/03/19 à Nantes :

Mes activités et projets de recherche s'inscrivent dans le domaine de la thérapie génique. Depuis une dizaine d'année mon objectif est d'améliorer l'efficacité de vecteurs viraux ou non viraux à l'aide de procédés chimiques innovants.

De 2004 à 2007, j'ai effectué ma thèse, qui portait sur les **vecteurs non-viraux**, au laboratoire CEMCA (CNRS UMR6521) à l'Université de Bretagne Occidentale à Brest. J'ai synthétisé des vecteurs phospholipidiques neutres et cationiques pour le transfert d'acides nucléiques et étudié les relations existant entre les propriétés physico-chimiques des assemblages lipides cationiques / ADN et leurs efficacités de transfection *in vitro* et *in vivo*. J'ai innové en montrant que des formulations à base de phospholipides neutres et cationiques dérivés d'amino-acides augmentaient l'efficacité de transfection d'un facteur 500 en comparaison avec des formulations à base du lipide neutre commercial DOPE. Ces nano-vecteurs (~100nm) véhiculant un gène thérapeutique (FGF-2) ont amélioré la régénération tissulaire de tendons de rats lésés sans engendrer de toxicité.

A la suite de mon doctorat, je suis parti en stage post-doctoral à Londres dans l'équipe du Pr. Andrew Miller au Gene Therapy Center pour effectuer la synthèse de nanoparticules peptidiques et l'étude de leurs comportements en milieu enzymatique pour une application en thérapie génique contre les cancers. L'injection de nanoparticules par voie systémique nécessite d'optimiser à la fois les paramètres pharmacocinétiques et le trafic intracellulaire des formulations utilisées. Il faut éviter la dégradation des acides nucléiques par les nucléases et les interactions des nanoparticules avec les protéines des fluides biologiques. A cette fin, l'utilisation de polyéthylènglycol (PEG) s'est beaucoup développée pour l'obtention de ce type de formulation. Cependant même si la présence de PEG permet d'augmenter le temps de circulation des nanoparticules dans l'organisme, elle empêche aussi le relargage du « gène médicament » dans les cellules ou l'organe.

C'est pourquoi, nous nous sommes orientés vers le développement de nouveaux vecteurs lipidiques PEGyillés portant une séquence peptidique clivable par des enzymes spécifiques de l'organe à transfecter, ce qui permet le relargage du PEG et l'internalisation plus efficace de la nanoparticule. Pour cela, j'ai introduit un espaceur peptidique, Ala-Ala-Pro-Val, clivable enzymatiquement par les « Human Leucocytic Elastase (HLE) » entre le PEG et la partie hydrophobe du lipide. J'ai ainsi pu montrer *in vitro* que ces nanoparticules en présence d'enzymes

spécifiques permettaient d'augmenter l'expression d'un gène rapporteur validant donc notre nouvelle approche.

De 2009 jusqu'à fin 2013, j'ai travaillé à l'Institut du Thorax à Nantes (INSERM UMR1085 / CNRS UMR6291). Cette période post-doctorale m'a donné l'occasion de travailler sur la délivrance d'acides nucléiques ((ADN, siRNA) par des vecteurs synthétiques. Les vecteurs synthétiques cationiques utilisés jusqu'à présent s'avèrent être efficaces pour le transfert de gène *in vitro*. Par contre, la forte densité de charges positives présentes à la surface des complexes vecteurs/ADN, vecteurs/siRNA conduit à une transfection non spécifique. L'utilisation de ces systèmes *in vivo* ne permet pas également d'obtenir un ciblage plus spécifique d'un organe.

Dans le cadre de mon stage post-doctoral, j'ai montré qu'il était possible de cibler des hépatocytes à l'aide de ces particules avec un ADN plasmidique codant la luciférase et permettant ainsi un suivi de la biodistribution par imagerie de fluorescence. L'objectif suivant était d'utiliser les vecteurs synthétiques avec un siRNA permettant d'inhiber l'expression d'une protéine (PCSK9) responsable de l'augmentation du taux de cholestérol dans l'organisme.

Depuis 2014, date à laquelle j'ai intégré en tant que chercheur / ingénieur hospitalier l'UMR1089, je travaille dans l'équipe innovation en vectorologie dirigée par Eduard Ayuso. L'originalité et la richesse de ce projet de recherche réside dans son aspect pluridisciplinaire et multi-site. En effet, la partie synthèse chimique du projet est réalisée dans l'équipe CORAIL du laboratoire CEISAM UMR CNRS6230 de l'UFR S&T de Nantes. L'objectif de ce projet de recherche est de répondre à cette problématique en développant des **AAV chimiquement modifiés** (NextGenAAV) afin de renforcer la délivrance du gène d'intérêt en ciblant spécifiquement un organe ou tissu. Ces modifications permettraient d'augmenter « l'activité spécifique » ou encore « l'index thérapeutique » de la particule virale recombinante. L'idée du projet NextGenAAV repose sur la **bioconjugaison** de molécules chimiques, ayant des propriétés de ciblage, sur les résidus d'AA présents à la surface de la capsid de AAV2. Parmi les conséquences souhaitées, les particules virales modifiées pourraient favoriser la transduction spécifique de l'organe ou tissu ciblé et également présenter un avantage fonctionnel vis à vis de facteurs sériques ou tissulaires neutralisants. Cette dernière propriété, s'il elle était démontrée, ouvrirait notamment des possibilités de réduction des doses administrées et d'injections répétées.