



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **10 décembre 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **COOLEN Anne-Line**

Titre de la thèse : « *Formulation et vectorisation d'un ARN messenger vaccinal codant l'antigène Gag du VIH-1 à l'aide de nanoparticules biodégradables de poly(acide lactique)* »



Résumé

Le développement de vaccins à ARNm est en plein essor dans le domaine de la vaccinologie. Un des défis majeurs de ces approches est de parvenir à transporter et délivrer les ARNm dans le cytoplasme des cellules dendritiques (DC) pour permettre la production d'antigène et l'activation des réponses immunitaires.

L'objectif de ce travail a porté sur la conception et l'évaluation de nouvelles stratégies de vectorisation des ARNm par des nanoparticules de poly(acide lactique) (NP-PLA). Une stratégie basée sur l'adsorption des ARNm à la surface des NP-PLA par l'intermédiaire du LAH4-L1, un peptide cationique amphipathique, a été développée. Des polyplexes formés suite à la condensation de l'ARNm par le LAH4-L1 ont été adsorbés sur les NP-PLA pour former des nanocomplexes. L'intérêt des polyplexes et nanocomplexes pour le ciblage des DC et l'activation des réponses immunitaires *in vitro* a été évalué. Dans des tests de transfection, ces formulations ont induit une expression efficace d'ARNm modèles dans des DC. La présence des NP-PLA dans les formulations semble favoriser l'expression des ARNm. Le traitement avec des inhibiteurs a révélé que les polyplexes et nanocomplexes semblent internalisés par phagocytose et endocytose clathrine-dépendante, et s'échappent des endosomes par un mécanisme dépendant de la pompe à protons v-ATPase. Suite à la transfection de DC dérivées de monocytes (moDC), nous avons montré que nos formulations stimulent les récepteurs de l'immunité innée et induisent une réponse pro-inflammatoire. Cette activation est associée à la maturation des moDC, à la présentation de peptides antigéniques sur le CMH-I et -II et à la sécrétion de cytokines et chémokines impliquées dans l'immunité adaptative.

Ces données soulignent l'intérêt des NP-PLA associées au LAH4-L1 pour vectoriser des ARNm, cibler des DC et activer les réponses immunitaires. Dans le contexte du VIH-1, ce type de réponse pourrait aider le système immunitaire à contrôler la charge virale

Mots-clés : Vaccins à ARNm, nanoparticules, formulation, cellules dendritiques, réponses immunitaires