

par Charles Vragniau

Institut de Biologie Structurale

Groupe de Microscopie Electronique et Méthodes

## **Modification des dodécaèdres bases de l'adénovirus de sérotype 3 : Design et caractérisation d'un nouveau vecteur multi-épitopique polyvalent**

### **Thèse de Doctorat de l'Université de Grenoble**

Certains adénovirus humains (HAdV) comme le sérotype 3 (appartenant au sous-groupe B) sont capables de former des particules pseudo-virales composées des deux protéines impliquées dans l'entrée virale : la base du penton et la fibre (= penton). En effet, 12 pentons sont capables de s'auto-assembler de manière symétrique pour former des particules appelées dodécaèdres (Dd). Dans le présent travail, nous avons modifié et caractérisé les dodécaèdres bases (c'est à dire des Dds sans fibres) de l'HAdV3 afin d'en faire une plateforme vectorielle multi-épitopique versatile appelée ADDomer (ADenovirus Dodecamer). Pour cela, nous avons identifié des régions de la base du penton permettant l'insertion de peptides d'intérêt et créé une plateforme génétique générique permettant l'insertion facile de ceux-ci par biologie synthétique. L'insertion de séquences codant un peptide d'intérêt directement dans le gène de l'ADDomer, résulte dans son exposition de manière multivalente à la surface de la VLP du fait de la pentamérisation puis de la dodécamérisation de la base. L'ADDomer a été produit et caractérisé afin d'évaluer sa capacité à vectoriser des épitopes linéaires ou structurellement complexes. Nous avons ensuite conçu une deuxième stratégie de vectorisation, toujours basée sur l'ADDomer mais cette fois-ci en utilisant l'interaction base/fibre. Un peptide mimant la partie de la fibre de l'HAdV3 (les 20 résidus N-terminaux) interagissant avec la base du penton a été élaboré pour servir d'adaptateur formant des liaisons covalentes avec l'ADDomer.

Le comportement de l'ADDomer *in vivo* a été étudié dans un contexte vaccinal. Pour cela, nous avons injecté l'ADDomer chez la souris afin de valider son transport vers le système lymphatique. Nous avons également démontré que l'ADDomer était capable de s'internaliser dans les monocytes et dans des cellules dendritiques dérivées de monocytes et d'induire les caractères spécifiques de maturation de ces dernières. Fort de ces résultats, nous avons généré un ADDomer vectorisant un épitope du virus Chikungunya décrit pour être la cible d'anticorps neutralisants de patients infectés par ce virus. Pour finir cette étude *in vivo*, nous avons évalué la capacité de l'ADDomer-TevChik à induire la réponse anti-épitopique et nous avons ainsi démontré que la façon dont l'épitope est présenté à la surface de l'ADDomer était importante pour obtenir une réponse significative.