

Avis de Soutenance

Monsieur Albert NGALLE LOTH

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Développement et caractérisation de système de délivrance lipidique d'ARNm thérapeutique pour la médecine régénérative

dirigés par Monsieur Federico PERCHE et Madame Delphine LOGEART

Ecole doctorale : Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant - SSBCV

Unité de recherche : CBM - Centre de Biophysique Moléculaire

Soutenance prévue le **mardi 03 juin 2025** à 11h00

Lieu : 3 Avenue de la Recherche Scientifique, 45071 Orléans

Salle : Amphithéâtre Charles Sadron

Composition du jury proposé

M. Federico PERCHE	Université d'Orléans	Directeur de thèse
Mme Delphine LOGEART	B3OA, UMR CNRS 7052 INSERM U1271	Co-directrice de thèse
AVRAMOGLOU		
Mme Nathalie MIGNET	UTCBS, CNRS UMR8258, INSERM U1267, Université de Paris Cité	Examinatrice
M. Sylvain ROUTIER	ICOA, CNRS UMR7311	Examinateur
Mme Catherine LADAVIERE	IMB CNRS UMR5223	Rapporteuse
M. Hervé HILLAREAU	CNRS UMR8612 Institut Galien, Saclay	Rapporteur

Mots-clés : Liposome,LNP,Thérapie à base d'ARNm,Trafic intracellulaire,Médecine régénérative

Résumé :

Le développement de systèmes de délivrance, comme les nanoparticules lipidiques (LNP) pour les vaccins contre le COVID-19, a été un facteur clé dans l'évolution des thérapies à base d'ARNm qui depuis connaissent un succès international. Cependant, plusieurs aspects cruciaux tels que, le stockage, l'efficacité de transfection, l'échappement endosomal, ou la biocompatibilité des formulations, représentent encore des défis majeurs à relever pour améliorer ces thérapies. Dans ce cadre, les objectifs de cette thèse ont été d'optimiser et de caractériser des LNP et liposomes pour la délivrance d'ARNm. Dans une première étude trois formulations de LNP (DSPC/chol*, DOPE/chol* et DOPE/ β S*) ont été comparées. L'objectif était d'identifier la meilleure formulation pour la délivrance d'un ARNm thérapeutique conçu pour la vaccination. Nos résultats montrent que celles formulées avec le DOPE induisent une meilleure expression des gènes rapporteurs in cellulo et in vivo. Cette première étude démontre l'intérêt du choix des lipides auxiliaires pour la transfection des cellules dendritiques et l'administration d'ARNm par voie intramusculaire pour la vaccination. Dans une seconde étude, nous avons optimisé le protocole de préparation d'un liposome cationique (désigné Lip100) conçu pour délivrer de l'ARN et déjà développé au laboratoire. Nous avons ajouté une étape de lyophilisation permettant de stocker de manière stable les liposomes 15 mois à -20°C sans perte d'efficacité de transfection, puis une étape d'extrusion pour obtenir une solution monodisperse de liposome de 150 nm (désignée LYX). Les performances biologiques des lipoplexes (LYX/ARNm) ont été évaluées et leurs structures analysées par SAXS et cryoTEM. Le LYX transfecte efficacement diverses lignées cellulaires et cellules primaires, pour la délivrance d'ARNm codant des protéines rapportrices et des facteurs ostéoinducteurs (BMPs), dans le cadre d'une application en régénération osseuse. Toutefois, avec une efficacité inférieure à celle d'un vecteur commercial (Lipofectamine MessengerMAX™). Une analyse des mécanismes de transfection des deux vecteurs démontre une internalisation plus lente et un échappement endosomal moins efficace du LYX par rapport à la Lipofectamine. Néanmoins, nous avons démontré une meilleure efficacité du LYX incorporé dans un hydrogel pour délivrer de l'ARNm in vitro et in vivo. Cette étude démontre que le LYX est un vecteur prometteur pour la délivrance d'ARNm. En conclusion, nos travaux nous ont permis d'optimiser deux systèmes de délivrance (LNP et liposomes) et d'approfondir nos connaissances des

mécanismes de transfection, contribuant ainsi à l'amélioration des thérapies à base d'ARNm. * DSPC : 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine DOPE : 1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine Chol : Cholestérol β S : β -sitostérol.