

Avis de Soutenance

Madame Lylia AZZOUG

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Nouvelles méthodologies pour la chimio-ingénierie des protéines : bioconjugaison de peptides riches en ponts disulfures, auxiliaire solubilisant et identification de ligands en configuration miroir

dirigés par Monsieur Vincent AUCAGNE

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

Unité de recherche : CBM - Centre de Biophysique Moléculaire

Soutenance prévue le **vendredi 06 février 2026** à 14h00

Lieu : Bâtiment administratif, Délégation CNRS Centre Limousin Poitou-Charentes 3E avenue de la Recherche

Scientifiques - 45071 Orléans cedex 2, France

Salle : Amphithéâtre Charles Sadron

Composition du jury proposé

M. Vincent AUCAGNE	Université d'Orléans	Directeur de thèse
M. Gilles GUICHARD	Université de Bordeaux	Rapporteur
Mme Sonia CANTEL	Université de Montpellier	Rapporteure
Mme Séverine MORISSET-LOPEZ	Université d'Orléans	Examinaterice
M. Franck SUZENET	Université d'Orléans	Examinateur
M. Vangelis AGOURIDAS	Université de Lille	Examinateur

Mots-clés : D-protéines, Nanobody, Bioconjugaison, Ligation chimique, DRP, Solubilité

Résumé :

Les D-protéines synthétiques, constituées uniquement d'acides aminés de configuration D et de la glycine achirale, représentent la version « miroir » des protéines naturelles. Leur grande résistance à la protéolyse ainsi que leur faible immunogénicité *in vivo* en font des candidats prometteurs pour le développement d'outils thérapeutiques innovants. En dépit de leur potentiel, elles ne sont que peu utilisées du fait du manque de procédés de découverte efficaces et généraux. Dans ce projet, nous explorons une nouvelle approche multidisciplinaire permettant la conception de D-VHHS, pouvant se lier à deux cibles biologiques : le récepteur 5-HT7 et la protéine LINGO-1. Cette stratégie que nous avons nommée « Mirror Image Immunization Strategy, MIIS », repose sur l'immunisation de camélidés avec la version « miroir » d'un peptide issu d'une protéine cible naturelle. Ce D-peptide qui n'est pas immunogène en soi, le devient lorsqu'il est administré sous forme d'un conjugué hybride où le D-peptide est lié de façon covalente à une protéine L fortement immunogène. Dans ce contexte, nous avons mis au point une stratégie de bioconjugaison de peptides riches en ponts disulfures, qui repose sur l'introduction d'un espaceur rigide afin d'éloigner le thiol exogène nécessaire à la conjugaison thiol-maléimide et ainsi préserver la connectivité native des ponts disulfure de l'antigène. En parallèle, les L-VHHS découverts par MIIS contre un D-peptide issu du 5-HT7R ont été produits de façon recombinante et leur interaction stéréospécifique a été confirmée par ITC et FIDA. Au cours de la synthèse chimique totale d'un des VHH, nous avons été confrontés à un obstacle majeur : la faible solubilité de certains segments peptidiques nécessaires à son assemblage par ligation chimique native (NCL). Pour pallier cette limitation, nous avons développé un nouvel auxiliaire solubilisant temporaire, composé de trois lysines pré-installées sur un dérivé du groupement Hmb (2-hydroxy-4-méthoxybenzyle), lequel est stable dans les conditions de NCL et peut être ensuite coupé dans des conditions douces. L'efficacité de l'auxiliaire solubilisant a été validée par la synthèse par NCL de la protéine SUMO-2, dont la partie C-terminale est connue pour sa propension à l'agrégation. En parallèle, afin de valider le nouveau processus de découverte, nous avons exploité les séquences des boucles hypervariables 3 (CDR3) des VHHS pour la conception de D-ligands cycliques miniaturisés.