



Avis de Soutenance

Monsieur Pinpin WANG

Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Evaluation de l'activité de NS1, une protéine non structurale dérivée du virus de l'influenza A pour une traduction améliorée de l'ARNm de BMP2 pour la régénération osseuse

dirigés par Madame Chantal PICHON

Soutenance prévue le jeudi 20 février 2020 à 13h30

Lieu : Rue Charles Sadron, 45071 Orleans

Salle : de conference du CBM

Composition du jury proposé

| | | |
|-----------------------|-----------------------------------|--------------------|
| Mme Chantal PICHON | Université d'Orléans | Directeur de thèse |
| M. Tristan MONTIER | Université de Bretagne | Rapporteur |
| M. Jérôme GUICHEUX | Université de Nantes | Rapporteur |
| Mme Nathalie ROCHET | Université Côte d'Azur | Examinateur |
| M. Federico PERCHE | Centre de Biophysique Moleculaire | Examinateur |
| Mme Isabelle COUILLIN | Université d'Orléans | Examinateur |

Mots-clés : matrice de collagène-hydroxyapatite, ostéogenèse, senseurs ARN, protéine de morphogenèse osseuse, délivrance d'ARNm, protéine 1 non-structurale,

Résumé :

L'utilisation de l'ARN messager (ARNm) codant une protéine de morphogenèse osseuse pour la régénération osseuse est une alternative prometteuse à l'ADN, aux protéines recombinantes et aux peptides. Cependant, l'ARNm synthétique transcrit in vitro (IVT mRNA) déclenche une réponse immunitaire en activant des senseurs qui entraînent sa dégradation et inhibe sa traduction. Par mimétisme avec les virus ARN qui inhibent les senseurs ARN, nous avons exploité NS1, une protéine non structurale du virus de la grippe (A/Texas/36/1991) pour amplifier l'expression des IVT mRNA. La co-délivrance de l'ARNm de NS1 a entraîné une inhibition dose-dépendante des senseurs ARN qui est corrélée avec une traduction accrue d'un ARNm rapporteur dans plusieurs types cellulaires. La co-délivrance des ARNm de NS1 et de BMP-2, une protéine de morphogenèse osseuse dans les cellules souches pluripotentes murines (C3H10T1/2) a favorisé la différenciation ostéogénique, démontrée par une plus forte expression de marqueurs ostéoblastiques et une minéralisation plus dense. Dans une perspective clinique, nous avons utilisé des cellules souches mésenchymateuses dérivées de la moelle osseuse humaine (hMSC) pour l'ostéoinduction in vitro. La co-délivrance des ARNm de NS1 et de BMP2 a permis une meilleure différenciation ostéogénique de ces cellules, et une calcification extracellulaire plus dense comparé à l'ARNm BMP2 seul. Ensuite, nous avons fabriqué des matrices de collagène renforcées par de l'hydroxyapatite chargé avec les ARNm de NS1 et de BMP2 formulés en complexes ternaires liposome/polymère/ARNm (lipopolyplexes: LPR). Ces matrices activées en ARNm appelés RAM (RNA Activated Matrices) ont été évaluées pour leur capacité ostéoinductive vis-à-vis des hMSCs. L'imagerie par microscopie électronique et les tests mécaniques ont montré que, si

l'incorporation des LPR n'influence pas la microstructure des matrices, elle augmente leur résistance à la compression. Nos résultats démontrent que la libération des ARNm des matrices se prolonge jusqu'à 16 jours ce qui a permis de doubler la période d'expression de BMP2 par rapport à la transfection directe des hMSCs. Enfin, les RAM ont été implantées à des souris et les analyses par microCT et histologie, de leur effet osteoinductif in vivo sont en cours d'évaluation. L'ensemble de nos résultats montrent que la co-délivrance des ARNm de NS1 et de BMP-2 est une stratégie prometteuse et que la matrice RAM pourrait être un produit standard pour la chirurgie orthopédique.