

**Sujet de thèse / Thesis subject**

Les rAAV représentent des vecteurs de thérapie génique sûrs, efficaces, et approuvés en clinique. L'identification de rAAV ciblant plus efficacement les cellules du microenvironnement tumoral serait associée à un fort potentiel translationnel. Le but de ce projet est de sélectionner de nouveaux rAAV sélectifs des cellules du microenvironnement tumoral dans l'objectif d'induire son remodelage et de favoriser les réponses immunitaires anti-tumorales. Ce projet s'inscrit dans le cadre d'un financement ANR-DFG obtenu en collaboration avec le Pr Büning. Notre partenaire est chargé de générer une large banque de variants rAAV présentant des modifications aléatoires dans une région particulière impliquée dans le tropisme des rAAV. La sélection successive in vivo, et le séquençage NGS, permettra d'identifier à partir de cette banque de nouveaux variants présentant un meilleur tropisme pour : les cellules tumorales, les cellules myéloïdes, les cellules endothéliales, ou les fibroblastes du microenvironnement tumoral. Ces variants seront utilisés pour générer de nouveaux rAAV plus sélectifs qui coderont pour : - la flagelline, un puissant adjuvant capable d'activer l'immunité innée et l'inflammasome; - l'un des inducteurs de mort cellulaire par pyroptose tel que la gasdermine D ou la gasdermine E; - un antigène tumoral, susceptible d'être ciblé par la réponse immunitaire. La transduction sélective des cellules de l'environnement tumoral, l'expression locale d'antigène tumoraux, d'adjuvants naturels, ou des inducteurs de mort cellulaire immunogénique, devraient conduire à une restructuration massive du microenvironnement tumoral connu pour constituer un facteur de résistance aux traitements. Cette stratégie devrait permettre l'émergence et l'amplification des réponses immunitaires anti-tumorales, notamment en réponse aux « anti-checkpoints » et offre le potentiel considérable d'augmenter l'immunogénicité des tumeurs « froides » qui représentent un défi clinique.

rAAVs represent safe, effective, and clinically approved gene therapy vectors. The identification of rAAVs targeting efficiently cells from the tumor microenvironment would be associated with a high translational potential. The goal of this project is to select novel rAAV that selectively targets cells from the tumor microenvironment with the aim of inducing its restructuration/remodeling and to promote anti-tumor immune responses. This project is part of an ANR-DFG funded project obtained in collaboration with Pr Büning. Our partner will generate a large library of rAAV variants with random modifications in a specific region involved in rAAV tropism. Successive in vivo selection, and NGS sequencing, will allow the identification from the library of new variants presenting a better selectivity profile for: tumor cells, myeloid cells, endothelial cells, or fibroblasts of the tumor microenvironment. These variants will be used to generate novel, and more selective rAAV that will encode for: - flagellin, a potent adjuvant able to activate innate immunity and inflammasome; - one of the inducers of cell death by pyroptosis such as gasdermine D or gasdermine E; - a tumor antigen, which can be targeted by the immune response. Selective transduction of cells from the tumor environment, local expression of tumor antigens, of natural adjuvants, or inducers of immunogenic cell death, should lead to a significant modeling of the tumor microenvironment known to represent an important factor in resistance to treatment. This strategy should allow the emergence and amplification of anti-tumor immune responses, particularly in response to "anti-checkpoints", and offers the potential to increase the immunogenicity of "cold" tumors that still represent a major clinical challenge.

**Expérience et formation souhaitées / searched skills**

Le candidat devra : (1) Être titulaire d'un Master 2 d'Université ; (2) Avoir réalisé un(des) stage(s) dans un(des) laboratoire(s) d'immunologie ou de biothérapies ; (3) Avoir des connaissances théoriques en immunologie, onco-immunologie et dans le domaine de la thérapie génique par vecteur viraux recombinants; (4) Avoir des compétences techniques dans au moins une partie des méthodologies suivantes : -Expérimentation animale et prélèvement d'organes -Modèles de transfert de cellules tumorales et/ou de carcinogénèse expérimentale -Utilisation des vecteurs rAAV in vivo -Analyse des réponses immunitaires par ELISA et/ou ELISpot -Immunophénotypage des cellules immunitaires par cytométrie en flux -Techniques de digestion enzymatique de la tumeur et d'analyse du microenvironnement tumoral -Expérience en biologie moléculaire (qRT-PCR, clonage, génération de construction plasmidiques) -Culture cellulaire de cellules tumorales et de cellules immunitaires.

The candidate should: (1) hold a University Master degree; (2) have followed one of several internship and trainings in immunology and/or biotherapy; (4) have fundamental knowledge in immunology, onco-immunology, and recombinant viral vectors gene therapy. (3) have a technical expertise in at least some of the following methodologies and technical approaches: - Animal experimentation and organ harvesting - Tumor cell transfer and/or experimental carcinogenesis models - Use of rAAV vectors in vivo - Analysis of immune responses by ELISA and/or ELISpot - Immunophenotyping of immune cells by flow cytometry - Enzymatic tumor digestion and tumor microenvironment analysis - Experience in molecular biology (qRT-PCR, cloning, generation of plasmid constructs) - Cell culture of tumor cells and immune cells.

**Contacts**