

Physiopathologie, autoimmunité et immunothérapie

Développement et sélection de nouveaux vecteurs AAV ciblant les cellules du microenvironnement tumoral et leurs utilisations dans le contexte tumoral afin d'augmenter l'immunogénicité et les réponses immunitaires anti-tumorales.

Development and selection of novel AAV vectors targeting cells of the tumor microenvironment and their implementation in the tumor context to increase immunogenicity and anti-tumor immune responses

Unité de recherche / Research Unit

INSERM U1234

Université de ROUEN

Sujet de thèse / Thesis subject

En Français :

Les AAV recombinants représentent des vecteurs de thérapie génique sûrs, efficaces, et approuvés en clinique. L'identification de vecteurs AAV ciblant plus efficacement les cellules du microenvironnement tumoral serait associée à un fort potentiel translationnel. Le but de ce projet est de sélectionner et d'évaluer de nouveaux AAV plus 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 AAV présentant des modifications aléatoires dans une région particulière impliquée dans le tropisme des AAV. 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 AAV 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.

En Anglais :

Recombinant AAV represent safe, effective, and clinically approved gene therapy vectors. The identification of AAV vectors targeting more efficiently cells from the tumor microenvironment would be associated with a high translational potential. The goal of this project is to select and evaluate novel AAV vectors 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 AAV variants with random modifications in a specific region involved in AAV 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 AAV 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

En Français :

Le candidat devra :

- (1) être titulaire d'un Master 2 d'Université ;
- (2) avoir réalisé un(des) stage(s) dans un(des) laboratoire(s);
- (3) avoir des connaissances théoriques en immunologie, onco-immunologie et/ou dans le domaine de des 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 carcinogenèse expérimentale
 - Utilisation des vecteurs AAV in vivo
 - Analyse des réponses immunitaires par ELISA et/ou ELISpot
 - Immunophénotypage des cellules immunitaires par cytométrie en flux
 - Techniques de digestion enzymatique d'organes et/ou de tumeurs
 - Expérience en biologie moléculaire (qRT-PCR, clonage, génération de construction plasmidiques)
 - Culture cellulaire de cellules primaires, de cellules tumorales et/ou de cellules immunitaires

En Anglais :

The candidate should:

- (1) hold a University Master degree;
- (2) have followed one of several internship and trainings research laboratories;
- (4) have fundamental knowledge in immunology, onco-immunology, and/or recombinant viral vectors
- (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 AAV vectors in vivo
 - Analysis of immune responses by ELISA and/or ELISpot
 - Immunophenotyping of immune cells by flow cytometry
 - Enzymatic digestion of organs and/or tumor
 - Experience in molecular biology (qRT-PCR, cloning, generation of plasmid constructs)
 - Cell culture of primary cells, tumor cells, and/or immune cells

Contacts

Sahil ADRIOUCH

sahil.adriouch@univ-rouen.fr

02 35 14 85 43