

# Sujet de stage Semestre 4 - Master 2<sup>ème</sup> année

## IBMP | 2021-2022

### Titre/Title

Français : Développement d'un système actif de capture de composés thérapeutiques dans les pseudo-particules virales

English : Development of an active system for capturing therapeutic compounds in viral pseudo-particles

### Contacts

#### Responsable du projet :

NOM Prénom ERHARDT Mathieu  
Tél: 03 67 15 53 67  
Courrier-E : mathieu.erhardt@ibmp-cnrs.unistra.fr

#### Responsable de l'équipe :

NOM Prénom RITZENTHALER Christophe  
Tél : 03 67 15 53 32  
Courrier-E : ritzenth@unistra.fr  
[www.ibmp.cnrs.fr/equipes/biologie-et-biotechnologie-des-virus-de-la-vigne/](http://www.ibmp.cnrs.fr/equipes/biologie-et-biotechnologie-des-virus-de-la-vigne/)

### Description du projet (20 lignes max) | **Project Description** (20 lines max.)

Français :

Les nanoparticules et plus particulièrement les pseudo-particules virales (PPV) connaissent un intérêt croissant en médecine, notamment en oncologie et en immunologie. Résultant de l'auto-assemblage d'une ou plusieurs protéines structurales virales, les PPV sont structurellement identiques aux virions mais ne sont cependant pas infectieuses car dépourvues de matériel génétique. L'agencement hautement ordonné des PPV est particulièrement intéressant car il permet de présenter des antigènes ou des composés thérapeutiques (CT) de manière répétitive ("display"), favorisant l'interaction avec les cellules ciblées et la stimulation du système immunitaire. De plus, les PPV peuvent servir simultanément de plateformes pour la présentation d'Ag et de cages nanométriques dans lesquelles des molécules, telles que des protéines, des CT ou des adjuvants, peuvent être encapsulés ("encaging").

Au laboratoire nous disposons de PPV polyvalentes dérivées d'un virus de plante, le *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), désignées PPV<sub>GFLV</sub> qui résultent de l'auto-assemblage de la protéine de capsid (CP<sub>GFLV</sub>). Cette protéine tolère à la fois des fusions N- ou C-terminales, permettant ainsi d'accueillir simultanément jusqu'à soixante protéines recombinantes respectivement dans la cavité interne et en surface externe des PPV<sub>GFLV</sub> (Figure 1)(Belval *et al*, 2016). L'utilisation simultanée de trois Nanobodies spécifiques de la CP<sub>GFLV</sub> non compétitifs, permet de tripler (3x60) le nombre de protéines exposées sur chaque PPV par rapport à la fusion génétique avec la CP seule (Orlov *et al*, 2020). En revanche, la capacité d'encaging des PPV<sub>GFLV</sub> reste limité à de petites protéines par fusion génétique avec la CP. L'objectif du stage de M2 à forte composante en microscopie est d'étendre la polyvalence des PPV<sub>GFLV</sub> en développant un système d'encapsulation actif de CT dans la perspective plus lointaine d'utiliser ces PPV fonctionnalisées pour stimuler la réponse immunitaire à des fins thérapeutiques.

English :

Nanoparticles and more particularly viral-like particles (VLP) are of growing interest in medicine, particularly in oncology and immunology. Resulting from the self-assembly of one or more viral structural proteins, VLP are structurally identical to virions but are however not infectious because they lack genetic material. The highly ordered arrangement of VLP is particularly attractive because it allows antigens (Ag) or therapeutic compounds (TC) to be displayed repeatedly, promoting interaction with target cells and stimulation of the immune system. In addition, VLP can simultaneously serve as platforms for Ag presentation (display) and as nanoscale cages in which molecules, such as proteins, TC or adjuvants, can be encapsulated (encaging).

In the laboratory we developed polyvalent VLP derived from a plant virus, Grapevine fanleaf virus (GFLV), called VLP<sub>GFLV</sub> which result from the self-assembly of the capsid protein (CP<sub>GFLV</sub>). This protein tolerates both N- or C-terminal fusions, thus making it possible to accommodate simultaneously up to sixty recombinant proteins in the internal cavity and



on the external surface of VLP<sub>GFLV</sub>, respectively (Belval *et al.*, 2016)(Figure 1). The simultaneous use of three nanobodies specific to the CP<sub>GFLV</sub>, makes it possible to triple (3x60) the number of proteins exposed on each VLP compared to genetic fusion alone (Orlov *et al.*, 2020). In contrast, the encaging capacity of VLP<sub>GFLV</sub> is so far limited to small proteins via genetic fusion to the CP.

The goal of the M2 internship with a strong microscopy component is to extend the versatility of VLP<sub>GFLV</sub> by developing an active encaging system of TC with the further prospect of using these functionalized VLP to stimulate the immune response for therapeutic purposes.

### Méthodologies (mots clés) :

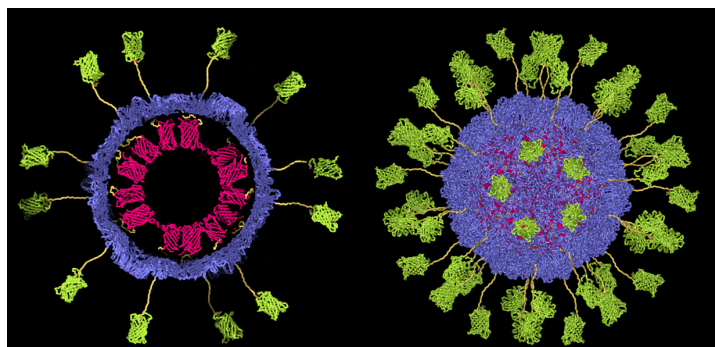
Microscopie à fluorescence et électronique, clonage Golden-Gate, chromatographie d'affinité, expression de protéines recombinantes, biochimie des protéines.

### Références (maximum 3) :

Belval L, Hemmer C, Sauter C, Reinbold C, Fauny JD, Berthold F, Ackerer L, Schmitt-Keichinger C, Lemaire O, Demangeat G *et al* (2016) Display of whole proteins on inner and outer surfaces of grapevine fanleaf virus-like particles. *Plant Biotechnol J* 14: 2288-2299

Orlov I, Hemmer C, Ackerer L, Lorber B, Ghannam A, Poignavent V, Hleibieh K, Sauter C, Schmitt-Keichinger C, Belval L *et al* (2020) Structural basis of nanobody recognition of grapevine fanleaf virus and of virus resistance loss. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117: 10848-10855

### Illustration (1 photo ou 1 schéma, petit format)



**Figure 1.** Représentation d'une VLP<sub>GFLV</sub> avec 60 RFP à l'intérieur de la particule et 60 GFP exposées en surface externe.

### Parcours de Master (cochez le ou les parcours souhaités) :

Master « Sciences du Vivant », Faculté des Sciences de la Vie, Université de Strasbourg

- 1- Biologie et génétique moléculaire : X
- 2- Microbiologie : X
- 3- Plantes, biologie moléculaire et biotechnologies : X
- 4- Plantes, environnement et génie écologique :
- 5- Plantes, molécules bioactives et valorisation :
- 6- Virologie : X
- 7- Autres masters équivalents en France ou à l'étranger : X