



UNIL | Université de Lausanne

Faculté de biologie
et de médecine

Ecole Doctorale

Soutenance de thèse

Monsieur Daniel BLESSING

Titulaire d'un Master ès sciences de Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule
Universität d'Aachen, Allemagne

Soutiendra en vue de l'obtention du grade de

Doctorat ès sciences de la vie (PhD)

de l'Université de Lausanne

sa thèse intitulée :

Transient transfection of cultivated animal cells for the production of AAV vectors for clinical use: studies of cGMP implications and scale-up

Directrice de thèse :

Madame la Professeure Nicole DEGLON

Cette soutenance aura lieu le

Vendredi 18 mai 2018 à 17h00

A la salle 340 de l'Amphipôle,
quartier UNIL-Sorge, 1015 Lausanne

L'entrée est publique

Prof. Niko GELDNER
Directeur de l'Ecole Doctorale

04.05.2018

Production de vecteurs AAV par transfection transitoire de cellules animales: amplification et purification à grande échelle pour la clinique

Plus de 5'000 maladies sont dues à des mutations génétiques et ces gènes représentent des cibles thérapeutiques potentielles. Des stratégies visant à bloquer l'expression ou substituer le gène muté ont été développées. L'un des principaux obstacles au succès de la thérapie génique a été le développement de technologies qui permettent une administration sûre et efficace dans le cerveau. Les virus sont des particules qui transmettent efficacement leur matériel génétique aux cellules hôtes afin de se répliquer. Cette propriété a été utilisée pour élaborer des vecteurs, dont le matériel génétique viral a été éliminé et remplacé par le gène médicament. Par conséquent, le vecteur viral conserve sa capacité à pénétrer dans la cellule cible et à véhiculer le transgène mais il ne peut s'y répliquer. En particulier, les vecteurs dérivés du virus adéno-associé (AAV) se sont avérés efficaces et sûrs pour des applications dans le cerveau. Cependant, le développement et la validation clinique de ces vecteurs nécessite la production de quantités considérables de vecteurs AAV purifiés et performants. Pour ce faire, il est nécessaire d'adapter les méthodes et procédés à un environnement en bioréacteurs et une production à grande échelle. Ces vecteurs viraux sont produits dans des cellules hôtes comme la lignée cellulaire HEK293, d'origine humaine.

Ce travail de thèse décrit un nouveau protocole basé sur un bioréacteur à rotations orbitales et une lignée cellulaire HEK 293 caractérisée et adaptée à la production d'AAV. Nous avons comparé la production d'AAV2 dans des cellules HEK293 en suspension versus des cellules HEK293 adhérentes. Les études réalisées chez l'animal montrent que les vecteurs dérivés de cellules en suspension permettent un meilleur transfert du gène médicament dans les cellules cibles malades du cerveau de patients atteints des maladies de Parkinson, Alzheimer, Huntington ou de la sclérose latérale amyotrophique.

Afin d'améliorer la productivité, nous avons également utilisé des transfusions transitoires de cellules d'insecte S2 cultivées à haute densité afin de générer des vecteurs AAV. Après avoir adapté les plasmides nécessaires à la production avec des cellules d'insectes, nous avons pu produire avec succès des vecteurs AAV et avons identifié les éléments clés à optimiser pour améliorer encore ce système de production.