



UTILISATION DE BACTÉRIES LACTIQUES RECOMBINANTES INVASIVES COMME OUTIL NOVATEUR POUR LA VACCINATION ADN PAR VOIE MUQUEUSE

Présentée par Sylvia INNOCENTIN Discipline : BIOLOGIE

Résumé :

Nous avons étudié la possibilité d'utiliser les Bactéries Lactiques (BL) pour vectoriser des vaccins ADN par voie muqueuse. Des BL alimentaires avaient déjà été utilisées pour délivrer des protéines par cette voie. Nous avons montré que la BL modèle *Lactococcus lactis* peut délivrer un vecteur plasmidique d'expression eucaryote codant pour un allergène majeur du lait de vache, la beta-lactoglobuline (BLG) dans la lignée Caco-2 et permettre l'expression de la protéine BLG par les cellules. Pour améliorer l'efficacité du transfert d'ADN, nous avons utilisé des souches de *L. lactis* rendues invasives par expression des gènes *InIA* de *Listeria monocytogenes* et *FnBPA* de *Staphylococcus aureus*. Ces deux types de souches présentent des taux d'internalisation similaires et la même capacité à vectoriser un plasmide d'expression de la GFP (1% des cellules Caco-2 exprimant la GFP). Nous avons ensuite testé les lactocoques invasifs comme vecteurs d'ADN vaccinant dans deux modèles pathologiques chez la souris : l'allergie à la BLG et l'infection par le virus de la grippe. In vitro, les cellules Caco-2 exprimaient 30 fois plus de BLG après co-incubation avec les souches invasives comparées aux souches non-invasives. In vivo, l'administration intranasale de souches invasives *FnBPA+* et de souches non-invasives induit respectivement une réponse immunitaire

Th2 et Th1 contre la BLG. L'administration intranasale de souches invasives FnBPA+ conçues pour permettre l'expression de l'hémagglutinine et de la nucléoprotéine du virus de la grippe se sont révélées moins efficaces que la vaccination génétique classique (ADN nu par voie intradermique) pour protéger les souris contre une épreuve virale.

Abstract :

In this study, we evaluate the potential of Lactic Acid Bacteria (LAB) as mucosal DNA vaccine delivery vectors. LAB are food-grade bacteria already used to deliver proteins at the mucosal level. We showed that *Lactococcus lactis*, a model LAB, can deliver a eukaryotic expression plasmid coding for a major cow's milk allergen, beta-lactoglobulin (BLG) gene in Caco-2 cell line with subsequent expression of BLG protein by the cells. To improve DNA delivery, we used *L. lactis* strains rendered invasive by expressing *Listeria monocytogenes* InlA or *Staphylococcus aureus* FnBPA genes. Both showed comparable internalization rates and ability to deliver a GFP expression plasmid: 1% of Caco-2 cells expressed GFP while no GFP was detected with non invasive strains. We then tested invasive *L. lactis* as DNA vaccine carrier in two disease models of mouse: allergic response to BLG and influenza virus infection. In vitro, Caco-2 cells expressed 30-fold more BLG when co-incubated with invasive strains compared to non invasive. In vivo, intranasal administration of invasive FnBPA+ strain and non invasive strains induced a Th2 and Th1 immune responses against BLG, respectively. Intranasal administration of invasive FnBPA+ strains designed to express hemagglutinin and nucleoprotein of influenza virus was less efficient than intradermal naked DNA immunization to protect mice from viral challenge.

Besides, we found that type I IFN is detectable in 2 peaks (24 hours and day 5 - 6) in afferent lymph in parallel to the viral dissemination. Only lymph plasmacytoid (pDC) and not cDC were producing type I IFN (IFN α) to BTV, independently on viral serotype, on viral replication and on endosomal acidification. Collectively these findings suggest the hypothesis that BTV replication in cDC and/or cDC and pDC responses might be involved in inter-indiv

INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

Annik MERCENIER, Directeur de recherche à Nestlé Research Center suisse - Rapporteur

Catherine GRILLOT-COURVALIN, Directeur de recherche à l'Institut Pasteur Paris - Rapporteur

Marc NADAL, Professeur des Universités à l'Université de Paris Sud 11 - Examineur

Jean-Luc VAYSSIERE, Professeur des Universités, à l'Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines - Examineur

François LEFEVRE, Directeur de Recherche, à l'Institut National de la Recherche Agronomique, Jouy-en-Josas - Directeur de thèse

Philippe LANGELLA, Directeur de recherche à l'Institut National de la Recherche Agronomique, Jouy-en-Josas - Examineur

Jerry Wells, Professeur des Université à l'University of Wageningen - Pays Bas - Examineur

Nicolas ESCRIOU, Chargée de recherche à l'Université Pasteur PARIS - Examineur

Contact : Direction de la recherche des Etudes Doctorales et de la Valorisation : uvsq-theses@admin.uvsq.fr