



Université Claude Bernard



Lyon 1

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **28 novembre 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **LE QUELLEC Sandra**

Titre de la thèse : « *Quand la création de nouvelles molécules recombinantes de facteur IX de la coagulation rencontre la thérapie génique : pourrait-on davantage améliorer le niveau plasmatique de facteur IX chez les patients hémophiles B?* »



Résumé :

Introduction : L'hémophilie B (HB) est une maladie hémorragique héréditaire caractérisée par un déficit en facteur IX (FIX) de la coagulation. La thérapie génique de l'HB par injection de virus adéno-associés (AAV) montre des résultats prometteurs, mais entraîne une toxicité hépatique à forte dose. La création de nouveau transgène de FIX permettant d'injecter de moindres doses d'AAV est un réel enjeu. **Matériel et Méthodes :** Des transgènes thérapeutiques exprimant une protéine humaine de FIX à demi-vie prolongée par fusion à l'albumine (hFIX-Alb) ou exprimant un FIX une activité spécifique augmentée, le hFIX-E410H, ont été créés et injectés à des modèles murins. Une nouvelle molécule recombinante de hFIX à demi-vie prolongée par fusion à la sous-unité B du FXIII via un linker clivable par le facteur X activé (hFIX-LXa-FXIIIIB) a été créée, produite et caractérisée. **Résultats :** Le transgène hFIX-Alb n'accumulait pas le niveau plasmatique du FIX par rapport au FIX sauvage. Des expériences ont été entreprises pour comprendre les mécanismes responsables du défaut d'expression. Le transgène hFIX-E410H, montrant une activité spécifique augmentée *in vitro* et *in vivo* chez les souris HB, permettait de diminuer les doses d'AAV d'environ 2,5 fois. La molécule hFIX-LXa-FXIIIIB était fonctionnelle, corrigeait la génération de thrombine chez les souris HB, et présentait une demi-vie augmentée 3,9 fois chez la souris et 2,3 fois chez le rat. **Conclusion :** Nous avons développé et caractérisé de nouveaux transgènes de FIX modifiés et une nouvelle molécule de FIX à demi-vie prolongée, qui pourraient constituer de nouvelles perspectives thérapeutiques de l'HB.

Mots clés : facteur IX, hémophilie, thérapie génique, activité coagulante augmentée, demi-vie allongée