



Université Claude Bernard



Lyon 1

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **26 novembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame BOUSQUET Delphine**

Titre de la thèse : « *Les ARNs sécrétés par le virus de l'hépatite B sont associés aux vésicules extracellulaires dans le surnageant d'hépatocytes infectés.* »

Résumé



L'infection chronique par le virus de l'hépatite B (VHB) demeure un problème de santé publique puisque les stratégies antivirales actuelles ne permettent pas d'obtenir une guérison complète. Le développement de biomarqueurs non invasifs est nécessaire pour améliorer la prise en charge des patients et l'évaluation de nouvelles thérapies.

Les milieux de culture d'hépatocytes infectés par le VHB et traités ou non avec de la lamivudine (3TC) ont été collectés et concentrés. Les vésicules extracellulaires (VEs) ont été séparés par un gradient de densité. La distribution des protéines (virales ou marqueurs d'exosomes) et la distribution des ARN-VHB a été étudiée. L'analyse de suivi des nanoparticules (NTA), la microscopie électronique (MET) et l'analyse protéomique basée sur la spectrométrie de masse (MS) ont été utilisés pour caractériser les exosomes.

L'expression de marqueur des exosomes a été détectée dans les fractions légères, dépourvues de protéine de capsid. De plus, 15% des ARN-VHB ont été détectés dans ces fractions enrichies en exosomes, comme le confirment les analyses NTA et MET. L'analyse spécifique des ARN-VHB a suggéré que l'ARN de 3,5 Kb n'est pas l'unique espèce d'ARNs sécrétée par les hépatocytes infectés. Le traitement avec le 3TC augmente la sécrétion d'ARN-VHB, principalement dans les fractions associées aux exosomes. Enfin, l'analyse MS a montré que le VHB impacte la sécrétion des protéines extracellulaires.

Nos résultats montrent que les exosomes transportent des ARN-VHB. Ces connaissances aideront au développement et à l'interprétation des ARN sériques du VHB en tant que nouveau biomarqueur de l'infection chronique par le VHB.

Mots Clés : Virus de l'hépatite B, Vésicules Extracellulaires, Exosomes, ARNs Viraux, Biomarqueur