

**MENTION « SCIENCES DU MÉDICAMENT »**  
**Parcours M2 : PHARMACOTECHNIE ET BIOPHARMACIE**

---

**Informations indispensables**

Laboratoire d'accueil : Institut Charles Gerhardt Montpellier, UMR 5253 CNRS/UM

Adresse complète du lieu du stage :

Campus CNRS Occitanie Est

Pole Chimie Balard

Institut Charles Gerhardt Montpellier

1919, Route de Mende

34293 MONTPELLIER cedex 5 – France

Nom de la personne responsable : MORILLE Marie / LAPINTE Vincent

Adresse e-mail : [marie.morile@umontpellier.fr](mailto:marie.morile@umontpellier.fr); [vincent.lapinte@umontpellier.fr](mailto:vincent.lapinte@umontpellier.fr)

Dates de stage : 20 janvier – 18 juillet 2025

---

**Titre du Sujet : Administration de peptides par des vésicules extracellulaires : un moyen original d'inhiber l'infection par le cytomégalovirus humain**

---

**Contexte**

Le cytomégalovirus humain (HCMV) peut provoquer des maladies graves chez les patients immunodéprimés et est également la cause infectieuse la plus fréquente de malformation congénitale. Les antiviraux actuels ont des effets indésirables et un traitement prolongé peut sélectionner des mutations de résistance aux médicaments. Il est donc nécessaire d'identifier de nouvelles molécules thérapeutiques ciblant d'autres étapes de la réplication. Nos collaborateurs de l'institut INFINITY à Toulouse (Gaétan Ligat) ont développé un nouveau médicament à base de peptides, ciblant le complexe terminase du HCMV essentiel à la réplication du virus, appelé peptide WF10 (1, 2). L'utilisation d'un peptide de pénétration membranaire (CPP) fusionné au peptide antiviral a permis l'internalisation cellulaire et une inhibition significative de la réplication du virus. Cependant, pour une administration thérapeutique rationnelle, ces peptides doivent être optimisés pour améliorer leur stabilité, leur pénétration et leur efficacité thérapeutique. Contrairement aux systèmes cationiques, tels que les CPP, les vésicules extracellulaires (EVs) sont des nanocarriers naturels, équipés pour traverser les barrières extra- et intra-cellulaires, et n'exposent aucune toxicité. Dans ce contexte, sur la base de notre expertise en ingénierie des EV dérivées des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) (3-5), nous voulons évaluer le potentiel des MSC-EVs pour permettre l'administration intracellulaire de peptide antiviral et évaluer l'effet antiviral de cette stratégie.

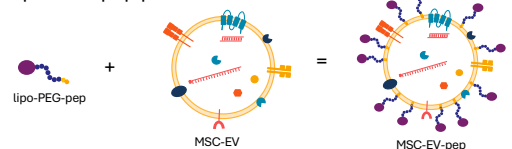
**Aim / Organisation of the traineeship**

Nous avons récemment montré que les MSC-EV peuvent être modifiés en surface avec des protéines cargo, fonctionnalisées avec une ancre lipidique, de manière température et dose-dépendante, et que cette stratégie pouvait permettre une administration intracellulaire efficace de la protéine cargo (4). Dans le cadre de ce stage de Master, ces protocoles établis seront utilisés pour associer le peptide WF10 aux EVs. La première étape consistera en l'optimisation de la conjugaison de ce peptide à différentes ancres lipidiques (deux ancres seront testées). Ce conjugué lipo-PEG-peptide sera ensuite associé des mMSC-EVs via un protocole de post-insertion également établi. La séparation du peptide non associé sera effectuée par chromatographie d'exclusion stérique. Pour caractériser l'efficacité de l'association, des méthodes d'analyse des nanoparticules dites « bulk » (diffusion dynamique de la lumière, zétamétrie, analyse de suivi des nanoparticules associée à la détection de fluorescence) mais aussi à l'échelle de particules individuelles (nano-cytométrie en flux (nanoFCM), imagerie par microscopie à super-résolution (ONI Nanoimager)) seront utilisées. L'efficacité de l'administration intracellulaire sera évaluée en

(1) peptide conjugation



(2) Lipo-PEG-pep pos-insertion to EVs



suivant l'endocytose du couple EV (marqué CFSE) et du peptide fluorescent (marqué rhodamine) au sein de fibroblastes (MRC5) non infectés en cytométrie en flux. Les EVs fonctionnalisés au WF10 seront lyophilisés et expédiés à notre collaborateur à Toulouse pour évaluer l'effet antiviral au sein de cellules infectées.

### Institution

Institut Charles Gerhardt Montpellier, UMR 5253 CNRS/UM

Campus CNRS Occitanie Est

Pole Chimie Balard

Institut Charles Gerhardt Montpellier

1919, Route de Mende

34293 MONTPELLIER cedex 5 – France

L'Institut Charles Gerhardt Montpellier (ICGM ; UMR 5253 CNRS-UM), est un laboratoire de chimie des matériaux développant des recherches pluridisciplinaires pour créer des matériaux complexes appliqués aux domaines de l'énergie, de l'environnement et de la santé. Au sein du Département Chimie Macro Moléculaire & Matériaux (C3M) de l'ICGM, chimistes, physico-chimistes, pharmaciens et biologistes travaillent ensemble pour développer des matériaux pour l'ingénierie tissulaire ou l'administration de molécules peu solubles ou fragiles (nanomédecine, drug delivery). Marie Morille (MCU, Université de Montpellier) mène des recherches multidisciplinaires axées sur l'ingénierie des nanoparticules naturelles (vésicules extracellulaires) et synthétiques (modification de surface, chargement de petites molécules/biomolécules).

### Encadrants

Dr. Morille Marie (Ass. Prof, ICGM) - [marie.morille@umontpellier.fr](mailto:marie.morille@umontpellier.fr)

Dr Ligat Gaetan (Ass. Prof., INFINITY Institut Toulousain des Maladies Infectieuses et Inflammatoires

Equipe ViNeDys) - [gaetan.ligat@inserm.fr](mailto:gaetan.ligat@inserm.fr)

### References

1. G. Ligat, R. Cazal, S. Hantz, S. Alain, The human cytomegalovirus terminase complex as an antiviral target: a close-up view. *FEMS MICROBIOLOGY REVIEWS* 42, 137-145 (2018). 2. G. Ligat *et al.*, Identification of a short sequence in the HCMV terminase pUL56 essential for interaction with pUL89 subunit. *SCIENTIFIC REPORTS* 7, (2017). 3. L. Simon *et al.*, Surface modification of extracellular vesicles with polyoxazolines to enhance their plasma stability and tumor accumulation. *Biomaterials* 313, 122748-122748 (2024). 4. A. Marquant *et al.*, Investigation of Lipid-PEG Anchorage of Proteins onto Mesenchymal Stem Cell Derived Extracellular Vesicles for Intracellular Delivery: A Quantitative Assessment. *bioRxiv*, 2024.2008.2028.610030 (2024). 5. S. Le Saux *et al.*, Post-production modifications of murine mesenchymal stem cell (mMSC) derived extracellular vesicles (EVs) and impact on their cellular interaction. *Biomaterials* 231, 16 (2020).