

nodigt U graag uit op de openbare verdediging van het proefschrift van

Camille Lozada

ter behaling van de graad van Doctor in Wetenschappen

Gezamenlijk doctoraat met CY Cergy Paris Universit 

Titel van het proefschrift:

Alteration of the membranotropic properties of cell penetrating and fusion peptides by means of conformationally constrained tryptophan derivatives

Curriculum vitae

Promotoren:

Prof. dr. Steven Ballet (VUB)

Prof. dr. Nad ge Lubin-Germain (CY Cergy Paris Universit )

De verdediging heeft plaats op

Donderdag 22 juni 2023 om 14h30 in het MIR auditorium, 1 Rue Descartes, 95000, Neuville-sur-Oise, France.

Samenstelling van de jury

Dr. Abdelghani Oukhaled (CY Cergy Paris Universit , voorzitter)

Prof. dr. Ulrich Hennecke (VUB, secretaris)

Dr. Simon Gonzalez (CY Cergy Paris Universit )

Dr. Timo De Groof (VUB)

Dr. Sophie Faure (Universit  Clermont Auvergne)

Prof. dr. José C. Martins (Universiteit Gent)

Camille Lozada behaalde het diploma van Master of Chemistry aan CY Cergy Paris Universit  in 2019. Daaropvolgend startte ze een joint PhD in de groep Biomol cules: Conception, Isolement, Synthèse (BioCIS) onder de supervisie van Prof. Dr. Nad ge Lubin-Germain aan CYU, in samenwerking met de onderzoeksgroep Organische Chemie, geleid door Prof. Dr. Steven Ballet aan de VUB. Ze publiceerde een review artikel en diende een peer-gereviewd experimenteel manuscript in als eerste (gedeelde) auteur.

Tijdens haar doctoraatsonderzoek, begeleidde ze bachelor en master studenten en ze was betrokken bij het onderwijs via verscheidene practica op bachelorniveau.

Abstract van het doctoraatsonderzoek

Membranotropische peptiden zijn korte sequenties die interageren met membranen. Twee categorieën van zulke bioactieve peptiden werden hier bestudeerd: cel-penetrerende peptiden (CPPs) en virale fusiepeptiden (FPs). CPPs zijn vaak kationisch en werden reeds grondig bestudeerd omwille van hun vermogen voor het openbreken van celmembranen. Ze worden daarom vaak ingezet voor het verbeteren van de opname van polaire therapeutische middelen. FPs daarentegen zijn korte hydrofobe sequenties die terug te vinden zijn in virale proteïnen. Ze vormen een essentieel onderdeel van omhulde virussen voor het binnendringen van het gastcelmembraan, hetgeen het virale membraan toelaat om te fuseren tijdens infectie. We hebben eerder een vectormethode ontwikkeld waarbij FPs van het hepatitis C virus (HCV) dienst doen als verankeringen in biologische membranen. Preliminair resultaten legden een beperkte membranotropische activiteit bloot, mogelijks door het gebrek aan structuratie, hetgeen cruciaal is voor het verklaren van membranotropisch gedrag. Dus werd voorgesteld om conformationeel verstrakte aminozuren in te zetten ter bevordering van peptidestructuratie. Twee cyclische Trp-surrogaten werden gekozen voor lokale verstrakking. Geschikte bouwstenen werden gesynthetiseerd met het oog op hun incorporatie in ongeordende membranotropische peptiden: de tetrahydro- -carboline-afgeleide **Tcc** en de indoloazepinonstructuur **Aia**. Deze structuren worden gekenmerkt door vastgelegde dihedrale hoeken en beperkte zijketenori ntatie, hetgeen de peptidestructuur en/of de membranotropische activiteit beïnvloedt. Om de invloed van lokale verstrakkingen op membraanactiviteit en structuratie te bestuderen werden vier referentiepeptiden uitgekozen: een CPP (**RW9**) en drie virale peptiden (**HCV7**, **Flav** en **C8**). Deze peptiden werden gesynthetiseerd via SPPS en de Trp aminozuren werden vervangen door zowel de **Tcc** als **Aia** bouwstenen. Het aantal modificaties en hun plaatsing werden hierbij gevarieerd, wat aanleiding gaf tot een reeks van 34 peptiden. Hun membranotropische activiteit werd onderzocht met behulp van spectrofluorescente titraties in aanwezigheid van liposomen, hetgeen toeliet de partiticoëfficiënten (K_p) te bepalen. Resultaten toonden aan dat activiteitsverhoging bij de introductie van **Tcc** of **Aia** zowel afhankelijk is van de sequentie als van het aantal modificaties. De meest actieve peptiden waren [**Aia**^{1,4}]**RW9** (H-RRW-Aia-Arg-RWRR-NH₂) en [**Tcc**^{1,4}]**C8** (Ac-Tcc-ED-Tcc-VGWI-NH₂), met K_p -waarden die driemaal hoger lagen dan diegene van hun oorspronkelijke tegenhangers. Bijkomende moleculair-dynamische (MD) simulaties lagen in de lijn van de eerder experimenteel vastgestelde trends. Verder structureel onderzoek werd uitgevoerd met behulp van circulair dichro isme (CD) metingen. Tot slot werden fluoresce negelabelde varianten van deze peptiden toegevoegd aan CHO-K1-celcultuurmedium voor het uitvoeren van permeatiestudies aan de hand van confocale microscopie. Verdere studies zullen uitwijzen wat het vermogen van de aangepaste sequenties is in het binnenbrengen van bioactieve bestanddelen in cellen.