

Développement d'une plateforme micro-fluidique d'analyse des exosomes, une source de biomarqueurs pour le diagnostic de pathologies

Laboratoire d'accueil / Host Institution

Intitulés / Name : Institut Galien Paris Saclay (UMR CNRS 8612)
Adresse / Address : Faculté de Pharmacie -92290 Chatenay-Malabry
Directeur / Director (legal representative) : Prof. Myriam Taverna
Tél / Tel :
E-mail : myriam.taverna@u-psud.fr

Equipe d'accueil / Hosting Team : Protéines et nanotechnologie en sciences analytiques (PNAS)

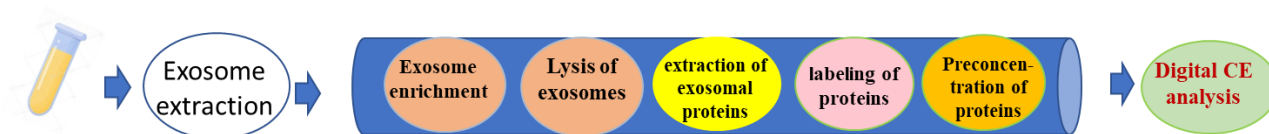
Adresse / Address : Faculté de Pharmacie -92290 Chatenay-Malabry
Responsable équipe / Team leader : Myriam Taverna
Site Web / Web site : http://www.umr-cnrs8612.u-psud.fr/pres_eq4.php
Encadrant(e)s / Direct Supervisor : Myriam Taverna et Thanh Duc Mai
Fonction / Position : Professeur et maître de conférences, respectivement
Tél / Tel : 33(0)1 46 83 54 62
E-mail : myriam.taverna@u-psud.fr

Description du projet

Les exosomes sont des structures vésiculaires extracellulaires (50-150 nm en diamètre) sécrétées par toutes les cellules et qui se retrouvent dans les fluides biologiques. Ils sont aujourd'hui considérés comme une nouvelle source de biomarqueurs de pathologies, car ils transportent des composants moléculaires telles que des lipides, protéines, ADN, reflétant l'état physiologique de la cellule parent et pourraient ainsi contenir des informations précieuses (et cachées) liées à des états pathologiques particuliers. Cependant, plusieurs difficultés sont encore à surmonter pour isoler efficacement les exosomes et analyser les protéines exosomales qu'ils contiennent. La méthode établie pour l'isolement des exosomes, l'ultracentrifugation, prend du temps (4-5 h), et conduit à des rendements de récupération très modestes [1]. La détection sensible des biomarqueurs / espèces exosomales constitue également un autre défi. Pour surmonter ces défis, les approches électrophorétiques (pour manipuler les espèces cibles grâce à un champ électrique) sont apparues récemment comme une nouvelle voie pleine de potentiel pour l'isolement, l'enrichissement et la détection des exosomes et des vésicules extracellulaires (EVs) [2]. Acteur actif de cette tendance, notre groupe a récemment mis au point une approche performante pour la séparation et la caractérisation des EVs de différentes origines biologiques, en utilisant l'électrophorèse capillaire (EC) couplée à la détection par fluorescence induite par laser (LIF) [3]. Cela ouvre la voie à la recherche de biomarqueurs de pathologies provenant d'un environnement peu exploré, celui de l'intérieur des EVs cibles.

Le but du projet est donc de développer une nouvelle plateforme analytique permettant d'intégrer toutes les étapes de l'extraction des exosomes jusqu'à l'analyse de certaines protéines exosomales en réalisant chacune d'entre elle dans des gouttes microfluidiques. La manipulation en gouttes, également très nouvelle permet d'automatiser le procédé mais aussi d'éviter les contaminations ou les pertes d'échantillons. L'analyse reposera sur un principe d'électrophorèse capillaire mais qui sera « digitalisée » pour pouvoir injecter et analyser des gouttes discrètes de quelques nL- 1 µL (ce qui n'est pas encore faisable avec un instrument d'EC commercial). Les étapes d'extraction quant à elle reposeront sur un train de gouttes microfluidiques en amont du module d'EC digitalisé [4]. Les différentes étapes de préparation et traitement d'échantillons biologiques seront mises au point en exploitant la possibilité de fusion, rupture et échauffement des gouttelettes. La lyse des exosomes

pourra être effectuée par des approches chimiques ou physiques. Enfin pour la récupération des protéines cibles contenues dans les exosomes plusieurs stratégies seront développées et comparées, telles que l'immuno-capture sur microbilles magnétiques ou la préconcentration électrocinétique en gouttes. Une application biomédicale sera choisie et développée à l'issue de ces développements en discutant avec nos partenaires cliniciens, afin de démontrer la faisabilité du système développé et concevoir un nouveau diagnostic moléculaire.



Références :

- [1] R. Szatanek, J. Baran, M. Siedlar, M. Baj-Krzyworzeka - Isolation of extracellular vesicles: Determining the correct approach (Review) - *Int J Mol Med* 2015, 36, 11-7.
- [2] M. Morani, T.D. Mai, Z. Krupova, G. van Niel, P. Defrenaux, M. Taverna - Recent electrokinetic strategies for isolation, enrichment and separation of extracellular vesicles - *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 135, 2021, 116179
- [3] M. Morani, T.D. Mai, Z. Krupova, P. Defrenaux, E. Multia, M-L, Riekkola, M. Taverna - Electrokinetic characterization of extracellular vesicles with capillary electrophoresis: A new tool for their identification and quantification - *Anal. Chim. Acta* 1128, 2020, 42-51
- [4] T. Liénard--Mayor, M. Taverna, S. Descroix, T.D. Mai - Droplet-interfacing strategies in microscale electrophoresis for sample treatment, separation and quantification : A review - *Anal. Chim. Acta* 1143, 2021, 281-297

Qualification :

- Vous êtes très motivé pour travailler à l'interface de la chimie analytique, la biochimie, la microfluidique, la nanotechnologie.
- Vous avez un diplôme de master M2 ou un équivalent (obtenu depuis moins de 4 ans) en chimie analytique / biochimie / nanosciences / microfluidique
- Vous avez une expérience pratique en chimie analytique et / ou microfluidique
- Une bonne connaissance de la biochimie / biologie, en particulier des dosages immunologiques / diagnostiques / biomarqueurs sera un atout.
- Vous avez de bonnes compétences en communication et un bon niveau d'anglais (oral et écrit)
- Vous aimez affronter des obstacles scientifiques et relever des défis avec une attitude optimiste.