

NICOLA BERTHET, CHERCHEUR
INSTITUT PASTEUR – UNITE EPVO. 25 RUE DU DOCTEUR
ROUX. 75724 PARIS
EMAIL: NICOLAS.BERTHET@PASTEUR.FR
[HTTPS://RESEARCH.PASTEUR.FR/FR/MEMBER/NICOLAS-
BERTHET/](https://RESEARCH.PASTEUR.FR/FR/MEMBER/NICOLAS-BERTHET/)

MICHAEL BAUDOIN, PROFESSEUR
INSTITUT UNIVERSITAIRE DE FRANCE
UNIVERSITE DE LILLE, LABORATOIRE IEMN
EMAIL: MICHAEL.BAUDOIN@UNIV-LILLE.FR
[HTTPS://PRO.UNIV-LILLE.FR/EN/MICHAEL-BAUDOIN](https://PRO.UNIV-LILLE.FR/EN/MICHAEL-BAUDOIN)

Postdoctorat Institut Pasteur Paris / IEMN Lille

Développement d'une pince acoustiques pour l'enrichissement cible d'ADN pour la microfluidique en goutte

Aspects pratiques

Durée : 18 mois

Date de début : dès que possible

Lieu principal : Institut Pasteur – Unité EPVO. 25 rue du docteur Roux. 75724 Paris avec des missions à l'IEMN, Avenue Poincaré, 59652 Villeneuve d'Ascq

Sujet

Les progrès récents des technologies de séquençage de nouvelle génération (NGS) et des méthodes de calcul sont en train de révolutionner la recherche scientifique dans le domaine de la santé publique ainsi que des maladies infectieuses émergentes (MIE). Le NGS est devenu un outil essentiel pour la caractérisation moléculaire des communautés virales qui pourraient aider à déterminer l'origine des épidémies et découvrir de nouveaux agents pathogènes. La réalisation d'une étape d'enrichissement qui se focalise sur un ou plusieurs pathogènes permet d'optimiser le séquençage. Cependant, la capture par hybridation, largement utilisée, est non seulement laborieuse (>2-3 jours de travail) et coûteuse car elle nécessite la conception et la synthèse de milliers d'amorces ou de sondes d'hybridation, mais elle requiert également des quantités d'ADN. De plus, cette approche peut souvent produire des résultats manquant d'uniformité et une absence d'homogénéité de la couverture au niveau de la région cible. La microfluidique en gouttelettes est une approche alternative qui permet de cibler des fragments d'intérêt en encapsulant une réaction d'amplification et d'identification indépendante (PCR ou autres systèmes équivalents tels que RPA et/ou CRISPR/Cas13a) dans des millions de gouttelettes microscopiques. L'enrichissement ciblé est ensuite réalisé en triant ces gouttelettes. Actuellement, les gouttelettes sont générées par des puces microfluidiques et triées avec un trieur de cellules activé par fluorescence (FACS). Cependant, les puces nécessitent un environnement de laboratoire complexe et le FACS est un instrument coûteux qui peut endommager les gouttelettes.

Il est aujourd'hui possible de générer des millions de gouttelettes d'un seul coup en étalant la solution mère sur des plaques microstructurées (microplaques). Les rugosités de ces microplaques déstabilisent le film liquide de solution mère, ce qui forme un très grand nombre de microgouttelettes. Cependant, ces plaques ne sont pas compatibles avec le FACS, et le tri de gouttelettes est pour l'instant impossible. Cependant, les pinces acoustiques permettent la manipulation de micro-objets (tels que des cellules ou les microgouttelettes) sans contact, mais elles n'ont pas été testées pour de l'enrichissement cible d'ADN en gouttes. Ce projet de post-doctorat propose de générer les gouttelettes en utilisant une plaquette microstructurée (microplaque) puis de les trier en utilisant une pince acoustique. Il s'articule en trois axes :

Objectifs de ce projet :

1. Utiliser des microplaques pour générer des millions de gouttelettes en quelques secondes sans aucune pompe.
2. Utiliser des micro-pinces acoustiques afin d'extraire des gouttelettes millimétriques individuelles des plaques.
3. Développer et valider des systèmes de détection en one-pot se basant sur la combinaison de la RPA et CRISPR/cas13a dans ces microgouttelettes.

Ce stage post doctoral sera réalisé à l'institut Pasteur de Paris dans l'unité EPVO et en collaboration avec l'université de Lille avec l'équipe du Pr Michael Baudoin.

Compétences nécessaires.

- Nous cherchons des candidats motivés par un travail pluridisciplinaire à l'interface entre la physique (acoustique, microfluidique), la biologie et la chimie.
- Une solide expérience en physique et/ou biologie et/ou chimie expérimentale est nécessaire et une expérience de microfabrication en salle blanche serait un gros plus.
- Enfin, des connaissances théoriques de base en physiques des ondes (plus particulièrement en acoustique) et/ou en microfluidique seraient appréciées.

Références

[1] M. Baudoin, J.-L. Thomas, R.A. Sahely, J.C. Gerbedoen, Z. Gong, A. Sivery, O. Bou Matar, N. Smagin, A. Vlandas, Spatially selective manipulation of cells with single beam acoustical tweezers, **Nature Commu.**, 11: 4244 (2020),

[2] M. Baudoin, J.-C. Gerbedoen, A. Riaud, O. Bou Matar, N. Smagin, J.-L. Thomas, Folding a focalized acoustical vortex on a flat holographic transducer: miniaturized selective acoustical tweezer, **Science Advances**, 5: eaav1967 (2019)

[3] Mao L, Ying J, Selekon B, Gonofio E, Wang X, Nakoune E, Wong G, Berthet N. Development and Characterization of Recombinase-Based Isothermal Amplification Assays (RPA/RAA) for the Rapid Detection of Monkeypox Virus. *Viruses*. 2022 Sep 23;14(10):2112. doi: 10.3390/v14102112. PMID: 36298667; PMCID: PMC9611073