

Développement de nanosondes pour la détection et la quantification de miRNA

Description sujet de thèse

Les micro-ARN (miARN) constituent une famille d'ARN endogènes de petite taille (approximativement 19-23 nucléotides) non codants, qui jouent un rôle important dans divers processus cellulaires (Dong H. et al, Chem. Rev., 2013). Des altérations dans leur niveau d'expression ont été associées à un bon nombre de pathologies telles que le cancer. Par exemple, les micro-ARN miRNA-126 et miRNA-153 sont sous-exprimés dans plus de 80 % des tumeurs par rapport au tissu normal associé alors que le miRNA-21 est surexprimé dans plus de 80 % des cas, quel que soit l'organe étudié (Yin J.Q. et al, Trends Biotechnol., 2008). Ainsi, certains micro-ARN ont été identifiés comme d'authentiques oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeurs (Saito Y. et al, J. Gastroenterol., 2009). Outre leur rôle dans la cancérogénèse, les micro-ARN ont pris une place importante en biologie clinique comme nouveaux marqueurs diagnostiques et pronostiques, et comme indicateurs de réponse thérapeutique.

Actuellement, plusieurs méthodes de détection des micro-ARN, comme le Northern Blot, la PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR) et les microarrays sont utilisées mais chacune d'entre elles possède des limitations. Le Northern Blot est une méthode complexe et possède une faible sensibilité, tandis que la RT-qPCR et les microarrays ont une bonne sensibilité mais nécessitent un équipement et du matériel coûteux (Tian et al, Org. Biomol. Chem., 2015). Ainsi, le développement de méthodes plus sensibles, plus spécifiques mais aussi plus simples et moins coûteuses reste un véritable challenge. Les nanomatériaux représentent des outils de choix pour la détection de miRNA car ils offrent une spécificité et une sensibilité importantes.

Ce projet de thèse vise à développer des nanosondes (NS) capables de détecter des miARN pour le diagnostic précoce des cancers du sein. Ces nanosondes posséderont un cœur à base de nanoparticules d'oxydes de fer superparamagnétiques (SPIONs – SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles). La surface des SPIONs sera ensuite fonctionnalisée par l'ARN complémentaire (ARNc) du miARN cible, à l'aide du savoir-faire de l'unité sur la biofonctionnalisation de nanoparticules (Alric et al, RSC Advances, 2016 ; Perillo et al, JCIS, 2017 ; Hervé-Aubert et al, Bioconj. Chem, 2018). Deux stratégies d'association seront parallèlement développées. La première se fera par voie électrostatique en utilisant les charges négatives de l'ARNc et les charges positives présentes en surface des SPIONs. Cette stratégie s'appuiera sur des protocoles déjà développés au sein de l'unité pour l'association de siRNA et de SPIONs (David et al., IJP 2015 ; Bruniaux et al., IJP, 2017 ; Ben Djemaa et al, EJPB, 2018). La seconde stratégie consistera à fixer de façon covalente l'ARNc à la surface des SPIONs via des liaisons amine-acide carboxylique ou des interactions biotin-streptavidin. Ces nanosondes fonctionnalisées seront ensuite incubées avec les mi-ARN cibles. Puis après immobilisation des mi-ARN à la surface des NS, les nanosondes magnétiques seront isolées et reconcentrées par tri magnétique. Il sera alors possible d'identifier et de quantifier les miARN par différentes méthodes analytiques spectrales soit par spectrométrie de masse, soit par spectroscopie RAMAN et/ou spectroscopie RAMAN exaltée de surface, techniques

développées au sein de l'unité. Les miARN ciblés dans ce projet seront soit les miRNA-155 dont la surexpression est corrélée au développement des cancers du sein (Iorio et al, Cancer Res., 2005), soit les miRNA-125b circulants associés à une chimiorésistance des cancers du sein (Wang et al, PLoS One, 2012).

Les objectifs de ce projet de thèse sont multiples :

- Objectif technologique : développer de nouvelles nanosondes spécifiques et sélectives des miARN cibles permettant leur détection et leur quantification.
- Objectif fondamental : maîtriser la biofonctionnalisation de la surface de nanoparticules métalliques et contrôler l'isolement et la reconcentration des miARN.
- Objectifs à long terme : développer une méthode de détection et de quantification de miARN cibles, à base de nanosondes, utilisée en clinique pour le diagnostic et le pronostic des cancers du sein.

Laboratoire d'accueil

La thèse s'effectuera à l'Université de Tours au sein du laboratoire d'accueil EA6295 Nanomédicaments et Nanosondes (NMNS).

L'équipe EA6295 NMNS travaille depuis 2005 sur une thématique centrée sur le développement de nanomédicaments et de nanosondes dans le domaine de la cancérologie. Cette équipe pluridisciplinaire présente des compétences dans la production de nanosondes, dans leur caractérisation physico-chimique ainsi que dans leur évaluation biologique *in vitro* et *in vivo*. L'équipe possède également une forte expertise en bioanalyse et possède un large plateau instrumental.

<https://nmns.univ-tours.fr/accueil/>

Directeurs de thèse

Nom de l'encadrant responsable de la thèse : HERVE-AUBERT Katel

Email de l'encadrant : katel.herve@univ-tours.fr

Co-directeur éventuel : CHOURPA Igor

Financement

Bourse Université.

Montant : environ 1400 euros net.

Profil du candidat

Le candidat devra posséder des connaissances théoriques et pratiques en synthèse et fonctionnalisation de surface de nanoparticules. Il doit également avoir des bases solides en chimie.

De plus, il serait intéressant que le candidat possède des connaissances en chimie analytique et notamment en spectroscopie vibrationnelle.