

Développement d'une nouvelle approche analytique pour doser la TDP-43 exosomale - un biomarqueur potentiel de la sclérose latérale amyotrophique (SLA)

Discipline : Chimie analytique

Laboratoire : Institut Galien Paris Sud (UMR CNRS 8612)

Equipe : Protéines et nanotechnologie en sciences séparatives (Pr. Taverna)

http://www.UMR-CNRS8612.u-psud.fr/pres_eq4.php

Lieu : Faculté de Pharmacie de Paris Sud-92290 Chatenay-Malabry

Durée : 4 à 6 mois (gratifications) au premier semestre 2018

Responsables du stage : Myriam Taverna/ Duc Mai

Les exosomes sont des vésicules extracellulaires (50-150 nm de diamètre) sécrétées par certaines cellules dans les liquides biologiques. Ils sont considérés actuellement comme une source nouvelle d'information dans le domaine du diagnostic ou de la thérapie de certaines maladies. En effet, ils contiennent des lipides, protéines et DNA spécifiques de la cellule qui les a produits et pourraient refléter l'état physiologique de la cellule ou le stade de progression de certaines maladies (1). L'isolement des exosomes et l'analyse de leur contenu reste actuellement un défi majeur dans le domaine du diagnostic. Les méthodes d'isolement actuelles reposent sur des étapes successives d'ultracentrifugations qui s'avèrent longues de mise en œuvre, qui nécessitent des protocoles complexes et difficilement reproductibles tout en produisant des rendements médiocres (5-25%). L'isolement de ces exosomes par des billes magnétiques et par immunocapture semble être une alternative intéressante pour surmonter ces difficultés [2, 3].

La TDP-43 est une protéine qui se retrouve dans le sang et le liquide céphalorachidien et qui est potentiellement un biomarqueur d'une maladie neurodégénérative appelée la sclérose latérale amyotrophique (SLA) puisqu'elle est impliquée dans la physiopathologie de la SLA. On ne dispose pas aujourd'hui encore de diagnostic moléculaire de la SLA. La présence de TDP-43 dans les exosomes a été démontrée récemment [4] mais actuellement il n'a pas été démontré son potentiel en diagnostic. Le TDP-43 exosomal et des caractéristiques structurales particulières à ce niveau (modification post traductionnelles par exemple) permettraient peut-être de l'utiliser pour réaliser un diagnostic de cette pathologie.

L'objectif de ce projet est de développer une nouvelle approche reposant sur l'utilisation de billes magnétiques pour isoler les exosomes du plasma. Cette étape sera réalisée en s'appuyant sur des travaux déjà menés au laboratoire sur le développement d'immunodosages sur billes magnétiques [5, 6].

L'étudiant devra, au cours de ce stage mettre au point l'immobilisation chimique des anticorps "anti exosomes" sur des billes magnétiques pour réaliser l'immunocapture à petite échelle de ceux-ci à partir de plasma. Pour cette phase du travail des exosomes rendus fluorescents seront utilisés pour pouvoir les suivre par spectrophotométrie de fluorescence. Parallèlement des méthodes séparatives telles que l'électrophorèse capillaire ou l'UPLC couplées à la spectrométrie de masse ainsi que des méthodes ELISA seront développées pour analyser la TDP 43. Dans une étape plus avancée et en se basant sur les caractéristiques physicochimiques des exosomes, un protocole de traitement des exosomes à petite échelle permettant l'extraction de TDP-43 sera mis au point.

Ce travail sera mené en collaboration avec une équipe de cliniciens en Allemagne spécialisée dans les maladies neurologiques et neurodégénératives.

Ce sujet de stage s'adresse à un étudiant motivé par la recherche à l'interface de la biologie et de la chimie, souhaitant éventuellement poursuivre par un doctorat et qui souhaite non seulement exploiter ses

connaissances en chimie analytique et bioanalyse mais également s'ouvrir au domaine du diagnostic biomédical et de la miniaturisation des techniques.

Refs:

- 1) Properzi F., Logozzi M., Fais S.; *Exosomes: the future of biomarkers in medicine*; Biomarkers Med. 2013, 7, 769-778
- 2) Liga A., Vliegenthart A.D., Oosthuyzen W., Dear J.W., Kersaudy-Kerhoas M.; *Exosome isolation: a microfluidic road-map*; Lab. Chip. 2015, 15, 2388-2394
- 3) Im H., Lee K., Weissleder R., Lee H., Castro C.M.; *Novel nanosensing technologies for exosome detection and profiling*; Lab Chip, 2017, 17, 2892-2898
- 4) Feneberg E., Steinacker P., Lehnert S., Schneider A., Walther P., Thal D.R., Linsenmeier M., Ludolph A.C., Otto M.; *Limited role of free TDP-43 as a diagnostic tool in neurodegenerative diseases*; Amyotroph. Lat. Scl. Fr., 2014, 1-6
- 5) Mai T.D., Pereiro I., Hiraoui M., Viovy J.L., Descroix S., Taverna M., Smadja C.; *Magneto-immunocapture with on-bead fluorescent labeling of amyloid- β peptides: towards a microfluidized-bed-based operation*; Analyst, 2015, 140, 5891
- 6) Mai T.D., Ferraro D., Aboud N., Renault R., Serra M. Tran N.T., Viovy J.L., Smadja C., Descroix S., Taverna M.; *Single-step immunoassays and microfluidic droplet operation: Towards a versatile approach for detection of amyloid- β peptide-based biomarkers of Alzheimer's disease*; Sens. Actuators B: Chem., 2017, DOI: /10.1016/j.snb.2017.09.003

Contact: envoyer un CV et une lettre de motivation à myriam.taverna@u-psud.fr