

## **Nouvelles approches électrocinétiques et analytiques pour la détection de biomarqueurs dans les exosomes cellulaires: vers un diagnostic précoce de la sclérose latérale amyotrophique**

**Établissement :** Université Paris-Sud - **Unité de recherche :** Institut Galien Paris-Sud, Faculté de Pharmacie

**Directeur de la thèse :** Prof. Myriam TAVERNA

**École doctorale :** Sciences Chimiques : Molécules, Matériaux, Instrumentation et Biosystèmes (2MIB)

**Spécialité :** chimie

**Début de la thèse :** le 1 octobre 2018 ;

**Date limite de candidature :** 20 avril 2018

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative fatale, dans laquelle la dégénération des neurones moteurs provoque une paralysie musculaire progressive [1]. La plupart des patients décèdent dans les 2 à 4 ans après les premiers symptômes [2]. L'absence de thérapeutiques efficaces soulève le besoin d'un diagnostic précoce de cette maladie afin de découvrir de nouveaux traitements. Les biomarqueurs potentiels les plus cités pour la SLA sont les neurofilaments [1]. Néanmoins, aucun des biomarqueurs potentiels de la SLA n'a pu être appliqué avec succès à des fins de diagnostic [3]. Récemment, un intérêt particulier s'est porté vers la protéine TDP-43 présente dans le liquide céphalo-rachidien (CSF) [4]. Cependant, plusieurs défis doivent encore être surmontés pour que la pertinence de la TDP-43 comme biomarqueur de diagnostic puisse être démontrée.

Les exosomes sont des structures vésiculaires extracellulaires sécrétées par toutes les cellules des fluides corporels. Ils sont aujourd'hui considérés comme une nouvelle source d'information pour le diagnostic et la découverte de biomarqueurs, car ils transportent des éléments cellulaires spécifiques pouvant refléter la progression d'une maladie. Cependant, plusieurs difficultés sont à surmonter pour isoler efficacement les exosomes et analyser ensuite les espèces exosomales. 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 [5]. La détection sensible des biomarqueurs des exosomes constitue également un autre défi. L'ELISA a souvent été la méthode de choix. Cependant cette méthode souffre d'une limite liée à la réaction croisée des anticorps soulevant le besoin de développer de nouvelles approches analytiques.

Le but du projet est donc de développer une nouvelle approche analytique pour la séparation et la détection de la TDP-43 exosomale, visant à surmonter les défis mentionnés. La puissance de l'immunocapture par des billes magnétiques [6, 7] sera exploitée pour la capture des exosomes et l'enrichissement de la TDP-43 exosomale. Un protocole de traitement d'échantillons en plusieurs étapes sera développé pour i) l'isolement des exosomes ii) la libération efficace de la TDP-43 à partir d'exosomes iii) l'enrichissement de la TDP-43. Ceci sera suivi par le développement d'une méthode de détection « anticorps-free » de la TDP-43 et de ses formes modifiées pathologiquement. L'électrophorèse capillaire (EC) couplée à la détection de fluorescence induite par laser ou à la détection par spectrométrie de masse sera l'option préférée. La performance du protocole développé intégrant le traitement de l'échantillon basé sur la magnéto-immunocapture et la séparation électrocinétique sera évaluée en collaboration avec une équipe de cliniciens neurologues en Allemagne spécialisée dans les maladies neurodégénératives. La comparaison interlaboratoire sera mise en œuvre en utilisant à la fois les approches développées et l'ELISA existant. Dans une étape plus avancée, l'étudiant ira vers le développement d'un dispositif compact adaptable au contexte hospitalier, en automatisant et intégrant toutes les étapes. Cet outil sera basé sur un nouveau concept de 'Lab-in-Droplet'. Parallèlement, la caractérisation complète et exhaustive de la TDP-43 exosomale sera également réalisée en utilisant principalement des approches de spectrométrie de masse en couplage éventuel à de l'UPLC ou EC.

### **Profil et compétences recherchées :**

- Bonnes compétences et expérience en science analytique et bioanalytique, intérêt pour les neurosciences.
- Des compétences en immuno-essai seraient appréciables, des connaissances en spectrométrie de masse et développement d'instrumentation sont un plus.
- Bon niveau d'anglais nécessaire.

**Pour candidater envoyez par email un CV et une lettre de recommandation à Myriam Taverna ([myriam.taverna@u-psud.fr](mailto:myriam.taverna@u-psud.fr)). Déposez votre candidature en ligne sur la plateforme ADUM de l'École doctorale 2MIB**

[1] Costa J., Carvalho M. - Clin. Chim. Acta 2016 455 7-16 [2] Stambler Net al. J.M. - Neurology 50, 1998, 66-72 [3] Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener 2014 1-7 [4] Hosokawa M., et al. - Inter J Neuroscience 2014 124 344 [5] A. Liga, et al. - Lab. Chip. 2015, 15, 2388-2394 [6] Thanh Duc Mai, et al. - Analyst 2015, 140, 5891 [7] Thanh Duc Mai, et al. Sens. Actuators B: Chem. 255, 2018, 2126-2135