

Proposition de stage de M2

Matériaux biomimétiques et outils analytiques pour la quantification de biomolécules dans des milieux biologiques : une association envisageable ?

Laboratoire d'accueil : Institut des Biomolécules Max Mousseron, UMR CNRS 5247, Equipe Sciences analytiques, Pôle Chimie Balard Recherche, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5

Contact : Dr Yoann Ladner, + 33 (0) 04 48 79 20 44, yoann.ladner@umontpellier.fr

Condition : 5 à 6 mois de stage (de début Janvier ou Février 2025 à fin juillet 2025)

Financement : stage rémunéré (environ 577 euros par mois)

Description du projet : La quantification de molécules dans des milieux biologiques pose des défis analytiques considérables en raison de la complexité des matrices. Les molécules ciblées se trouvent souvent à des concentrations extrêmement faibles, ce qui nécessite des méthodes d'analyse particulièrement sensibles. Les interférences provenant des divers composants de la matrice peuvent également engendrer des erreurs de quantification, rendant indispensable le recours à des méthodes spécifiques et fiables. La mise en place de stratégies de préparation d'échantillons peut également s'avérer fastidieuse. En outre, la dénaturation potentielle des biomolécules durant les étapes de manipulation et d'analyse complique encore davantage le processus, tout comme l'absence de protocoles standardisés pour assurer la comparabilité des résultats entre différentes études. Un défi majeur consiste aussi à analyser des échantillons de faibles volumes, en particulier dans le cas de fluides biologiques tels que le liquide céphalorachidien, où la quantité d'échantillon disponible peut être limitée. Dans ce contexte, l'intérêt pour le développement des polymères à empreinte moléculaire (MIPs) ne cesse de croître dans les domaines des sciences analytiques et du diagnostic. Nous avons récemment développé une méthode pour créer des impressions biomimétiques et fonctionnalisées dans des conditions biocompatibles, dans le but d'imiter les mécanismes naturels de reconnaissance moléculaire afin d'améliorer la sensibilité et la spécificité des outils analytiques^{1,2}.

En utilisant des dérivés d'acides aminés silylés, des empreintes majoritairement composées d'acides aminés tels que la leucine, la sérine, l'arginine et la tyrosine, imitant ainsi les surfaces du paratope des anticorps ont été conçues. Les matériaux hybrides imprimés, obtenus en moins de 30 min à l'intérieur d'un capillaire de 30 μm de diamètre interne, ont été évalués par électrochromatographie capillaire après injection de 5 nL d'échantillon. Les analyses d'un mélange de 5 protéines dans une solution tampon phosphate pH 7 a montré une excellente spécificité du support MIP pour les molécules ciblées (Figure 1). Ces résultats très prometteurs doivent être maintenant validés dans des milieux biologiques afin de démontrer la viabilité de notre approche MIP pour les biomolécules d'intérêt, tant en termes de spécificité que de sensibilité.

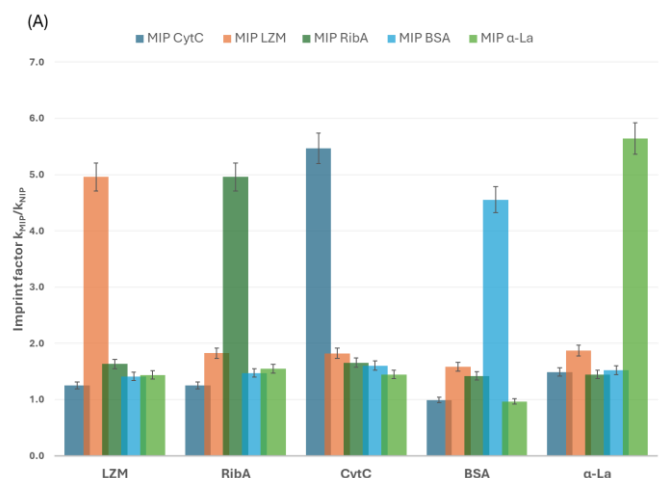


Figure 1 : Variation du facteur d'empreinte en fonction de la nature support MIP et des protéines analysées.

L'objectif de ce projet est de tester l'efficacité de notre matériau biomimétique pour quantifier un nanobody (Nb-DN13)³ dans un milieu biologique complexe utilisé pour des traitements thérapeutiques ciblés. Un stagiaire

de niveau M2 ou en 3ème année d'ingénierie synthétisera des acides aminés silylés en suivant des protocoles éprouvés. L'élaboration des MIPs à l'intérieur des capillaires sera ensuite réalisée. Les tests analytiques commenceront par évaluer la spécificité des MIPs pour le nanobody sélectionné en milieu plasmatique. Par la suite, des méthodes d'extraction et de préconcentration en ligne seront développées pour des échantillons biologiques non traités en électrophorèse capillaire afin d'atteindre des niveaux de concentration cibles de l'ordre de quelques nM, nécessitant un gain de sensibilité d'au moins un facteur 100 par rapport aux premiers tests de sensibilité réalisés. Enfin, la quantification du nanobody dans des fluides biologiques (plasma ou le liquide céphalorachidien) issus de souris sera réalisée. L'outil sera comparé aux méthodes existantes en termes de sensibilité, spécificité, temps d'analyse et coût.

Connaissances et compétences requises : Etudiant de M2 Professionnel, M2 Recherche ou 3^{ème} d'école d'ingénieur. Formation en chimie analytique ou en physico-chimie.

Savoir-être : Autonome. Rigoureux(se) et engagement au travail. Curiosité scientifique, esprit critique, résolution de problèmes.

Envoyez votre CV et lettre de motivation avant le 4 novembre à yoann.ladner@umontpellier.fr.

Références bibliographiques :

- 1 R. Gutiérrez-Climente, G. Ngo, M. Clavié, J. Gouyon, Y. Ladner, P. Etienne, P. Dumy, C. Perrin, A. Mehdi, P. Martineau, M. Pugnière and G. Subra, *Mater. Today Chem.*, 2023, **27**, 101317.
- 2 J. Gouyon, M. Clavié, G. C. Raquel, G. Ngo, P. Dumy, P. Etienne, P. Martineau, M. Pugnière, M. Ahmad, G. Subra, C. Perrin and Y. Ladner, *Electrophoresis*, 2024, **45**, 557–572.
- 3 J. Meng, C. Xu, P. A. Lafon, S. Roux, M. Mathieu, R. Zhou, P. Scholler, E. Blanc, J. A. J. Becker, J. Le Merrer, J. González-Maeso, P. Chames, J. Liu, J. P. Pin and P. Rondard, *Nat. Chem. Biol.*, 2022, **18**, 894–903.