

Sujet de thèse EUR EIPHI 2021 / projet NOVICE

Institut FEMTO-ST /UBFC

Sujet de thèse : Analyse morphomécanique à haute vitesse et discriminante de sous-populations de vésicules extracellulaires piégées sur puce multiplexe

1^{er} Oct 2021 – 30 SEPT 2024

La microscopie à force atomique (AFM) constitue un nanooutil parfaitement adapté à la qualification des nanoobjets biologiques et en conditions physiologiques. De plus, si cette investigation nanométrique est réalisée alors que ces nanoobjets ou sous-populations de nanoobjets d'intérêt sont capturés sur une surface de biodétection sensible et sélective, cela présente l'avantage de ne nécessiter aucune étape préanalytique. Notre approche autour de l'AFM, valorisée au travers d'une plateforme nanobioanalytique (NBA) par couplage à la technologie d'imagerie SPR, est aujourd'hui reconnue (Obeid et al, Biosens Bioelec 2017 & NBM 2019).

Une biopuce en format multiplexe et présentant plusieurs ligands est au cœur de ce couplage instrumental et permet le piégeage sélectif des différents nanoobjets d'intérêt coexistant dans l'échantillon. Les nanoobjets d'intérêt sont tout particulièrement les vésicules extracellulaires (EVs), circulant dans tous nos fluides biologiques, et pouvant être utilisées soit comme potentiels biomarqueurs de diverses pathologies, soit comme vecteurs thérapeutiques. Notre approche nanobioanalytique permet d'établir un profiling complet des populations d'EVs dans un fluide biologique, du point de vue phénotypique, métrologique et morphomécanique.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'un programme collaboratif scientifique impliquant l'ICB (Dijon), une équipe japonaise (Kwansei) et une entreprise (société Horiba). Dans ce programme, les objectifs sont d'augmenter le débit analytique dans la caractérisation de ces EVs ; cela passe par une évolution de la plateforme NBA :

- Concernant la biopuce, un besoin de multiplexage augmenté, de miniaturisation et de design adapté à l'analyse AFM engendreront la conception et la réalisation de biopuces de nouvelles générations,
- Concernant le module d'acquisition AFM, la thèse consistera à mettre en place un module d'acquisition AFM haute-vitesse sur ces biopuces multiplexes SPRi. Une caractérisation métrologique mais aussi morphomécanique des sous-populations d'EVs sera réalisée.
- Concernant l'implémentation d'un module additionnel sur la plateforme analytique, l'intérêt porte sur l'obtention de signatures spectrales, par spectroscopie infrarouge et Raman, des EVs piégées sur biopuce multiplexe. Le couplage AFM/spectroscopie infrarouge est une technologie mise en place par le partenaire de l'ICB (Dijon). Les collaborations avec l'équipe japonaise et la société Horiba permettront quant à elles d'éprouver la méthode de TERS (Tip Enhanced Raman spectroscopy) sur EVs.

La thèse, du domaine de la nanoinstrumentation, et dont l'objectif est une analyse haut-débit et discriminante des sous-populations de EVs, aura donc comme jalons : 1/ la réalisation de biopuces nanostructurées / nanopatternées -, 2/ la mise en place de la technologie AFM haute-vitesse sur ces biopuces de haute densité de spots, et 3/ l'analyse métrologique, morphomécanique et spectroscopique de ces sous-populations d'EVs sur biopuce.

Profil multidisciplinaire : microscopie à force atomique, chimie des biointerfaces, biodétection et analyse spectrale de nanoobjets

Encadrement : (lieu de la thèse : Besançon)

Céline Elie-Caille (Institut FEMTO-ST, Besançon) – caille@femto-st.fr

Eric Lesniewska (ICB, Dijon) - eric.lesniewska@u-bourgogne.fr

Wilfrid Boireau (Institut FEMTO-ST, Besançon) - wboireau@femto-st.fr

Partenaires impliqués dans le projet :

Shinsuke Shigeto (Univ Kwanseï Gakuin, Japon) et Marc Chaigneau (Horiba, Groupe Nanoscopie, Lille): *spectroscopie Raman sous pointe (TERS)*

Kiyotaka Shiba (Japanese Foundation for Cancer Research) : *ligands innovants spécifiques de vésicules extracellulaires*

Torsten Mueller (Bruker, Berlin), *pour l'accompagnement en instrumentations*

Références :

Obeid S., et al, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 2019, pii: S1549-9634(19)30061-9.

They et al, *JEV* 2018, VOL. 8, 1535750

Obeid S. et al, *Biosens Bioelectron.* 2017, 93:250-259

Kalluri et al, *Science* 2020, 367(6478), eaau6977, DOI: 10.1126/science.aau6977

Szvicsek et al, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2019, 76:2463–2476

Cernigliaro V et al, *Cells* 2020, 9(2), 386

Sebaihi et al, *Measurement Science and Technology*, 2017, 28(3)

Yokota et al, *PLOS ONE* 2019, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224091>