

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : CIFRE
Titre de la thèse : Optimisation du potentiel thérapeutique des vésicules extracellulaires par tri en cytométrie en flux.		3 mots-clés : vésicule extracellulaire, poisson zèbre, glioblastome
Unité/équipe encadrante : INSERM UMR 1307/CNRS UMR6001		
Directeur de thèse : Guillaume van Niel		N° de tél : 0613571771 Mail : guillaume.van-niel@inserm.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u> Les vésicules extracellulaires (EVs) sont des structures membranaires de 50 nm à plusieurs microns qui sont sécrétées par la plupart des types cellulaires et retrouvées dans les fluides biologiques. La composition (spécifique en protéines, transmembranaires ou solubles, en lipides et en acides nucléiques) et la sécrétion de ces vésicules reflète en effet l'état physiopathologique d'une cellule, d'un organe. Leur capacité à être relargués directement dans des fluides biologiques (sang, sueur, salive, fluide cerebrospinal, larmes...) en font une nouvelle source biomarqueurs non-invasifs dans la diagnostic, le pronostic et le suivi thérapeutique de nombreuses thérapies ; notamment dans le glioblastome dont la localisation et les difficultés post-traitement en font une pathologie de choix. L'utilisation des EVs comme nouvelles sources de biomarqueurs est pour l'instant freinée d'une part par un manque de connaissances fondamentales sur les EVs (variété et l'hétérogénéité des sous-populations d'EVs) et d'autre part par l'immaturation de technologies conciliables en clinique notamment des approches de tri capables de détecter et trier de nouveaux bio-marqueurs associés à des sous-populations mineures d'EVs dont la majorité font autour de 100nm ni de les trier sans affecter leur intégrité.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u> La Start-up Hekat développe une nouvelle technologie qui permettrait d'analyser et de trier les vésicules extracellulaires les plus petites sans affecter leur intégrité. En isolant des sous-populations pertinentes d'EVs à partir de milieu complexe comme le plasma, cette technologie améliorerait grandement l'utilisation des EVs comme biomarqueurs. Pour ce faire, cette technologie doit d'abord être paramétrée avec des EVs de référence pour obtenir une preuve de concepts. Elle doit ensuite être confrontée à un modèle cellulaire pathologique in vitro pour dresser un profil de biomarqueurs potentiels. Elle doit enfin être mise dans une situation in vivo pour montrer sa capacité à isoler les EVs d'intérêt à partir d'un milieu complexe.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u> Ce projet de thèse est le fruit d'une collaboration entre le laboratoire académique de G van Niel et la start-up Hekat. Nous développerons des vésicules extracellulaires de références en utilisant des rapporteurs fluorescents de différentes sous-populations d'EVs développé dans le laboratoire de G van Niel et en développant de nouvelles approches de marquages des EVs. La caractérisation des EVs avant et après tri par la technologie Hekat permettra de générer des preuves de concept et d'affiner la technologie proposée par Hekat. Puis nous appliquerons cette technologie à de sous-population d'EVs de tumeurs gliales primaires et de lignées immortalisées en collaboration avec l'équipe de Julie Gavard. Dans ce cadre, nous adapterons les meilleures stratégies de marquages dans ces modèle cellulaires. Après tri, nous étudierons alors la composition, la pureté et l'intégrité des « Single EV population » et pourrons alors réaliser des analyses poussées de spectrométrie de masse (protéomique, lipidomique) et de séquençage pour déterminer d'éventuels nouveaux biomarqueurs du GBM. Enfin, nous reproduirons les conditions d'un isolement in-vivo d'EVs tout en conservant un contrôle des paramètres de libération et de bio-distribution de ces vésicules pour nous permettre d'évaluer l'efficacité de la technologie de tri. Nous utiliserons notre modèle in vivo pré-clinique basé sur le poisson-zèbre (Danio Rerio) par injection d'EVs marquées ou xenogreffes de GBM . Nous récupérerons et trierons les EVs dans cet organisme modèle afin de valider l'efficacité de la technologie Hekat dans l'isolement de sous-populations d'EVs d'intérêt in vivo.</p>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u> Le candidat doit avoir une formation en biologie cellulaire avec une connaissances des vésicules extracellulaires ainsi que des compétences en culture cellulaire, biochimie, biologie moléculaire, imagerie et idéalement des poissons zèbres.</p>		
<p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u> - Verweij J F et al.,...,van Niel G. The power of imaging to understand Extracellular Vesicle biology in vivo. Nature Methods 2021. Nat Methods. 2021 doi: 10.1038/s41592-021-01206-3. Review - Androuin A, Verweij FJ, van Niel G. Zebrafish as a preclinical model for Extracellular Vesicle-based therapeutic development. Adv Drug Deliv Rev. 2021 doi: 10.1016/j.addr.2021.05.025. Review. - Verweij FJ, et al, van Niel G. Live Tracking of Inter-organ Communication by Endogenous Exosomes In Vivo. Dev Cell. 2019 Feb 25;48(4):573-589.e4. doi: 10.1016/j.devcel.2019.01.004. Epub 2019 Feb 7. PubMed PMID: 30745143.</p>		
<p><u>Collaborations nationales et internationales :</u> Pour ce projet : Julie Gavard (CRCI2NA, Nantes) Frederik verweij (Utrecht, Netherlands),</p>		