

FICHE SUJET DE THESE

| | | |
|--|--|--|
| Sujet N° (à remplir par l'ED) : | FINANCEMENT : <input type="checkbox"/> Demandé <input checked="" type="checkbox"/> Acquis | Origine du financement : - Nantes Université NU - Université de Reims Champagne-Ardenne URCA |
| Titre de la thèse : Criblage et Identification de nouveaux Inhibiteurs des Facteurs de Réparation de l'ADN à visée thérapeutique par des approches Nanotechnologiques (CIFRAN) | | 3 mots-clés : RAD51; Inhibiteurs peptidiques; quantum dots; interactions protéine-protéine ; criblage multiparamétrique |
| Unité/équipe encadrante : US2B équipe 3 Mécanisme et régulation de la réparation de l'ADN | | |
| Directeur de thèse : Fabrice FLEURY (NU) / Alena SUKHANOVA (URCA) | | N° de tél : 0251125638 / 0625683663 Mail : fleury-f@univ-nantes.fr / alyona.sukhanova@univ-reims.fr |
| <p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u></p> <p>Les thérapies anticancéreuses se heurtent fréquemment aux résistances des cellules cancéreuses et le mécanisme de réparation des cassures doubles brin (CDB) de l'ADN par la recombinaison homologue (RH), est apparue comme une cible thérapeutique pour sensibiliser les tumeurs et ainsi optimiser les traitements anti-cancéreux.</p> <p>La surexpression de la protéine clef de la RH, RAD51, est à l'origine de certaines chimiorésistances des cancers et il est décrit que son inhibition potentialise les traitements anticancéreux. RAD51 constitue donc une cible thérapeutique pertinente.</p> <p>Le développement d'outils de détection apparait nécessaire pour mieux comprendre le fonctionnement de RAD51 et pour le criblage et l'identification de nouvelle molécules capables d'inhiber son activité mais aussi ses interactions avec ses partenaires.</p> <p>Les méthodes de détection sensibles et spécifiques basées sur des conjugués de biomolécules et des nanocristaux « quantum dots » (QDs) fluorescents constituent un avantage important pour le criblage de chimiothèques. Les QDs ont bénéficié d'une perspective d'application remarquable dans le domaine de la biomédecine et présentent des avantages considérables par rapport à leurs homologues organiques : plus photostables, spectre d'émission plus étroit, photoluminescence excitable dans une large gamme spectrale et surtout la dépendance des transitions optiques par rapport à la taille physique des QD, ce qui a permis d'utiliser les QD dans la biodétection multiplexe.</p> | | |
| <p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u></p> <p>La détection sensible et spécifique basées sur des conjugués de biomolécules et des nanocristaux « quantum dots » (QDs) fluorescents, constitue un avantage pour le criblage de chimiothèques. L'objectif du projet est d'utiliser des peptides spécifiques des domaines fonctionnels de la protéine RAD51 conjugués à des QDs pour développer des outils de criblage en multiplex et ainsi identifier de nouvelles molécules thérapeutiques et pour suivre le trafic intracellulaire des partenaires de RAD51 dans des contextes pathologiques et normaux. Au cours de ces dernières années, nous avons synthétisé et étudié plusieurs peptides inhibiteurs, et les études biochimiques et biophysiques <i>in vitro</i> ont permis d'identifier les peptides d'intérêt, avec une activité inhibitrice de l'ordre du micromolaire. Ainsi, l'analyse multiplex des interactions des formes monomériques et polymériques de RAD51 avec des peptides modèles dont les séquences correspondent à différents domaines de protéines régulatrices, par exemple BRCA2, peut sans aucun doute aider à comprendre les particularités de la régulation positive et négative de RAD51, et devenir la base du développement d'agents anticancéreux innovants.</p> | | |
| <p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u></p> <p>Le but principal de ce projet est le développement d'outils nanophotoniques pour le criblage multiplexé de l'activité fonctionnelle du RAD51 en utilisant des conjugués de peptides et des QDs fluorescents, permettant une détection et une visualisation très précises.</p> <p>Les grandes étapes sont les suivantes :</p> <p>(1) Préparation, purification et caractérisation de Rad51 recombinant de type sauvage, de mutants RAD51, de peptides spécifiques qui se lient</p> | | |

spécifiquement à différents domaines fonctionnels de RAD51 et inhibent l'activité fonctionnelle de RAD51 ainsi que l'interaction de RAD51 avec les protéines régulatrices; 2) Préparation d'une série de QDs avec différentes propriétés optiques, stables dans les tampons biologiques et ayant des groupes fonctionnels à la surface pour la liaison chimique à des peptides ; (3) Fonctionnalisation de la surface des QDs par des peptides ; (4) Criblage multiplex des molécules issues des chimiothèques en utilisant des conjugués de QDs et de peptides qui se lient spécifiquement à différents domaines fonctionnels du RAD51 pour découvrir de nouvelles molécules à des fins thérapeutiques ; (5) Evaluation au niveau cellulaire les inhibiteurs les plus performants ainsi que l'analyse du trafic intracellulaire de RAD51 et ses protéines partenaires dans des contextes pathologiques et normaux.

Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :

Compétences interdisciplinaires seraient idéales : Biochimie des protéines ; chimie fonctionnalisation ; Biologie moléculaire et cellulaire ; nanotechnologie

3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :

1- Nifontova G., **Fleury F.**, Nabiev I., **Sukhanova A.** Label-Free Multiplexed Analysis Using Photonic Crystal-Based Biosensors (2022) J. Phys. Conf. Ser., 2407 (1), art. no. 012031. DOI: 10.1088/1742-6596/2407/1/012031

2- Lafont F., Ayadi N., Charlier C., Weigel P., Nabiev I., Benhelli-Mokrani H., **Fleury F.** Assessment of DNA-PKcs kinase activity by quantum dot-based microarray (2018) Sci. Rep., 8 (1), art. no. 10968. DOI: 10.1038/s41598-018-29256-2

3- Ayadi N., Lafont F., Charlier C., Benhelli-Mokrani H., Sokolov P., **Sukhanova A.**, **Fleury F.**, Nabiev I. Comparative Advantages and Limitations of Quantum Dots in Protein Array Applications (2020) Meth. Mol. Biol., 2135, pp. 259 – 273. DOI: 10.1007/978-1-0716-0463-2_16

Collaborations nationales et internationales :

BioSpecT (BioSpectroscopie Translationelle) - EA 7506, URCA, Reims