

Développement d'un microsystème dédié à la capture sélective de protéines cibles de l'uranium dans une lignée cellulaire

La miniaturisation des étapes analytiques communément effectuées en laboratoire permet de réaliser des analyses rapides et sensibles de composés en très faible quantité dans des matrices complexes, ainsi que des réplicats expérimentaux à partir d'échantillons dont les volumes sont très restreints, à l'instar de certains échantillons biologiques. La réduction d'échelle conduit de plus à la diminution de consommation de solvants, de réactifs, de production de déchets, répondant à des problématiques à fort impact sociétal. L'objectif de ce projet est de développer un microsystème intégrant un module dédié à la capture selon le mode IMAC (Immobilized Metal Affinity Chromatography), de protéines liant sélectivement l'uranium (U) dans une lignée cellulaire neuronale humaine en culture, puis de les identifier. La connaissance des molécules cibles intracellulaires de l'U est en effet essentielle pour mieux en décrire la neurotoxicité, mal connue, mais reste un véritable défi dans la mesure où les extraits cellulaires et les molécules cibles sont en quantité très limitée. La stratégie repose sur l'implantation d'un support monolithique dans le canal d'un microsystème, combinée à la possibilité de fonctionnaliser à façon ce support pour immobiliser différents types d'ions métalliques à sa surface. La synthèse *in situ* et l'ancrage d'un monolithe phosphaté seront mis au point dans le microcanal d'une puce, pour immobiliser à sa surface l'U sous sa forme uranyle UO_2^{2+} . La capture de protéines de référence sélectives de l' UO_2^{2+} et leur quantification par spectrométrie de masse ciblée permettront d'établir la preuve de concept de ce microsystème et le gain apporté par la miniaturisation. Ce microsystème ainsi développé sera mis en application pour capturer les protéines cibles inconnues de l' UO_2^{2+} dans des extraits cellulaires neuronaux, en amont de leur identification par une approche protéomique. Les informations obtenues à l'issue de cette étape constitueront une base pour formuler des hypothèses quant à la nature et au rôle de ces protéines, en cohérence avec les mécanismes de neurotoxicité de l'U.

Ce projet post doctoral (24 mois) sera mené en collaboration entre trois laboratoires :

- Le LANIE (Laboratoire de développement Analytique Nucléaire, Isotopique et Élémentaire), Service d'Etudes Analytiques et de Réactivité des Surfaces, CEA Saclay (laboratoire d'accueil)
- le PNAS (Proteins and Nanotechnology in Analytical Science), Institut Galien Paris Sud, Châtenay Malabry
- le LEMM (Laboratoire d'Etudes du Métabolisme des Médicaments), Service de Pharmacologie et Immunoanalyse, CEA Saclay.

Le/la candidat(e) bénéficiera des moyens instrumentaux et des compétences de chaque partenaire dans les domaines de la miniaturisation de techniques analytiques, du couplage de techniques séparatives chromatographiques et électrophorétiques à différents spectromètres de masse (ICP-MS et ESI-MS), d'analyses élémentaires et isotopiques de haute précision, de l'analyse protéomique.

Profil recherché:

Doctorat dans le domaine de la chimie analytique, avec une forte expérience dans le développement de microsystèmes et si possible en synthèse photochimique *in situ* de monolithes. Une expérience en biochimie sera un plus.

Le/la candidat(e) sera en charge de la gestion du projet, couvrant la réalisation des expériences, la synthèse, l'analyse et le compte rendu des résultats ainsi que la rédaction de publications. Il/elle devra être très autonome et force de proposition, démontrer une aptitude à rédiger, communiquer et à travailler dans une démarche interdisciplinaire. Des expériences seront menées dans les laboratoires de chacun des partenaires, le/la candidat(e) devra être mobile et également démontrer une capacité d'adaptation et d'intégration rapide dans des environnements différents.

Prise de fonctions:

Premier trimestre 2018 – Les laboratoires sont situés à 10-20 km de Paris

Pour déposer sa candidature, envoyer CV et lettre de motivation à

carole.bresson@cea.fr, DPC/SEARS/LANIE, CEA Saclay - Tel : 01.69.08.83.48

thuy.tran-maignan@u-psud.fr, PNAS, Institut Galien Paris Sud, Université Paris Sud, Châtenay Malabry

- Tel : 01 46 83 59 03

Références

- Araya-Farias M., Dziomba S., Carbonnier B., Guerrouache M., Ayed I., Aboud N., Taverna M., Tran N. T., *Analyst* 2017, 142, 485-494. *A lab-on-a-chip for monolith-based preconcentration and electrophoresis separation of phosphopeptides.*
- Basset C., Dedieu A., Guerin P., Quémeneur E., Meyer D., Vidaud C., *J. Chromatogr. A* 2008, 1185, 233-240. *Specific capture of uranyl protein targets by metal affinity chromatography*
- Paredes E., Avazeri E., Malard V., Vidaud C., Reiller P., Ortega R., Nonell A., Isnard H., Chartier F., Bresson C., *PNAS* 2016, 113, 49, 14007-14012. *Evidence of isotopic fractionation of natural uranium in cultured human cells*
- Barthélemy N. R., Fenaille F., Hirtz C., Sergeant N., Schraen-Maschke S., Vialaret J., Buée L., Gabelle A., Junot C., Lehmann S., Becher F. *J Proteome Res.* 2016, 15(2):667-676. *Tau Protein Quantification in Human Cerebrospinal Fluid by Targeted Mass Spectrometry at High Sequence Coverage Provides Insights into Its Primary Structure Heterogeneity*