

Identification des cibles protéiques d'un composé biologiquement actif par imagerie par spectrométrie de masse

Contexte et problématique :

L'identification de l'ensemble des partenaires d'interaction d'un composé biologiquement actif (ligand) en milieux complexes (cellules, tissus *in vivo*), constitue une étape clé dans le processus de développement d'un candidat médicament. En effet, un ligand peut exercer son activité biologique en interagissant avec une ou plusieurs cibles protéiques et peut avoir de nombreuses cibles secondaires, sources éventuelles de toxicité. Pour un ligand donné, connaître le répertoire complet de ses cibles protéiques devrait permettre d'une part de mieux comprendre son mode d'action et d'autre part d'optimiser sa sélectivité. Dans ce contexte, nous cherchons à développer une approche méthodologique originale permettant pour un ligand d'intérêt (LI), de cartographier et d'identifier ses partenaires privilégiés d'interaction *in vivo*. Notre stratégie s'appuie sur trois étapes clés : i) l'évaluation *in vivo* d'une sonde d'affinité, inspirée d'un LI, pouvant réagir spécifiquement avec ses partenaires privilégiés d'interaction, ii) La visualisation de la biodistribution des cibles protéiques liées de façon covalente à la sonde d'affinité par radio imagerie *ex vivo* et iii) l'identification de ces cibles par spectrométrie de masse via une stratégie de dérivation par une étiquette de masse.

Nous envisageons de réaliser la preuve de concept de cette stratégie en travaillant *ex vivo* sur coupes de cerveaux de souris et de concevoir une sonde à partir d'un composé agissant sur le système nerveux central et dont nous connaissons les cibles principales et secondaires. Dans ce contexte, plusieurs sondes de nature peptidique issues de la vasopressine et ciblant les récepteurs V1a, V1b et V2 seront produites et mises à disposition afin d'évaluer leur réactivité. Le but de ce stage sera de mettre en place les conditions de marquage et de détection par spectrométrie de masse sur cellules et sur coupe de tissus. Dans ce dernier cas, ceci comprendra i) le prétraitement des coupes avant marquage, ii) l'optimisation des conditions de distribution des sondes et des étapes de lavage, iii) l'optimisation des conditions de bio conjugaison sur tissus, iv) les conditions de digestion protéolytiques, ainsi que v) les conditions de distribution de la matrice pour l'imagerie MALDI.

Lieu du stage : Ce stage se déroulera sur le site du CEA de Saclay (91191 Gif/Yvette), dans le service de pharmacologie et Immunologie (SPI) appartenant à l'institut Joliot/DMTS.

Durée du stage : 6 mois à partir de mars 2022

Formations et compétences requises :

Etudiant(e) en Master 2 Chimie Analytique / Protéomique.

Compétences techniques recherchées :

Pré-traitement des échantillons

Solides connaissances en spectrométrie de masse et analyses protéomiques par MALDI (Désorption/ionisation laser assistée par matrice)

Missions :

- Bibliographie sur le sujet
- Analyses protéomiques par MALDI-MS/MS des différentes sondes produites
- Imagerie par spectrométrie de masse (MALDI-MSI) sur coupes de tissus comprenant :
Le pré-traitement des échantillons (cryostat, digestion protéolytique) et l'optimisation des conditions d'imagerie par spectrométrie de masse.
- Analyse et synthèse des résultats
- Rédaction d'un rapport.

Contacts responsables du stage : laurent.devel@cea.fr et benoit.colsch@cea.fr

Date de clôture des candidatures : 01/12/2021

Pièces à joindre à la candidature : CV détaillé avec les expériences en recherche, notes Master1 et lettre de motivation.