

Offre de Thèse :

Mécanismes de désassemblage de nanoparticules lipidiques contenant des acides nucléiques pour la délivrance de gènes

Mots clés: *nanoparticules lipidiques, acides nucléiques, physico-chimie, microfluidique, biologie moléculaire et cellulaire*

Contexte et objectifs: Les thérapies à base d'acides nucléiques ont actuellement le vent en poupe avec l'avènement des formulations de vaccins à base d'ARN messager (ARNm) développées par des sociétés telles que Pfizer ou Moderna Therapeutics. On s'attend à ce que l'émergence de cette nouvelle technologie accélère considérablement la recherche sur tous les types de thérapies avec des approches basées sur l'ADN ou l'ARN, y compris l'ADN plasmidique, les oligonucléotides (ODN), les microARN (miARN), etc... Toutes ces approches partagent le même besoin d'optimiser l'internalisation cellulaire de nano-objets et la libération sûre et efficace d'acides nucléiques dans le cytoplasme ou dans le noyau des cellules ciblées. Cependant, si la formation des systèmes de

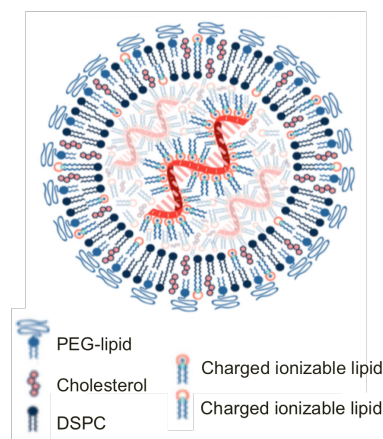


Fig. 1.- mRNA lipid nanoparticle structure.²

vectorisation (polyplexes, lipoplexes ou nanoparticules lipidiques) est bien documentée dans la littérature, peu d'études ont été consacrées aux mécanismes physicochimiques à l'origine du désassemblage des nanoparticules à l'issue de l'échappement endosomal, en particulier dans les conditions physico-chimiques de l'environnement intracellulaire.

Ce projet de recherche vise à étudier : *i)* les interactions entre les nanoparticules lipidiques à base d'acides nucléiques (ADN de thymus de veau, ADN plasmidique, oligonucléotides et ARNm) et les membranes lipidiques, afin de mimer la fuite endosomale ; et *ii)* les mécanismes de désassemblage de ces nanoparticules dans les conditions physico-chimiques rencontrées dans le milieu extra- et intracellulaire. Le projet se déroulera sur 4 volets. Le premier volet correspond à la formulation des nanoparticules lipidiques en microfluidique et à leur caractérisation colloïdale (taille et morphologie, charge de surface, stabilité). L'étude de leur dissociation dans un contexte biologique sera réalisée dans le volet 2. Dans ce volet, la capacité des osmolytes, des membranes lipidiques et des polyanions biologiques compétitifs (héparine, sulfate de chondroïtine, acide hyaluronique, etc) à perturber les nanoparticules sera évaluée par des techniques physico-chimiques, biophysiques et microscopiques. Des informations quantitatives sur la quantité d'ADN libérée après exposition à différents environnements biologiques seront obtenues par de l'électrophorèse sur gel ou par spectroscopie. Le volet 3 sera dédié à l'étude de la cinétique de désassemblage des nanoparticules dans les conditions physico-chimiques proches de celles rencontrées dans l'environnement extra- et intracellulaire en utilisant une technique de mélange rapide (*stopped flow mixing*) couplée à différents détecteurs (dichroïsme circulaire, diffusion de lumières et fluorescence). Enfin, le suivi du désassemblage extracellulaire et intracellulaire des nanoparticules sera effectué sur des cellules vivantes à partir des mesures de fluorescence en microscopie confocale.



Profil du/ de la candidat (e) : Le/la doctorant(e) aura une solide formation en physico-chimie des polymères et/ou des systèmes colloïdaux, ainsi que des connaissances et un intérêt pour la biologie moléculaire et cellulaire. Une partie importante de ce travail de thèse sera consacrée à l'analyse, l'interprétation et la présentation des résultats, en complément d'un travail de recherche et de veille bibliographique.

Techniques utilisées : microfluidique, potentiel- ζ , diffusion statique et dynamique de la lumière (SLS/DLS), électrophorèse sur gel, dichroïsme circulaire, microscopies, *stopped-flow*, spectroscopie de fluorescence, FRET.

Equipe d'accueil : Institut des Sciences chimiques de Rennes, Campus de Beaulieu, équipe Corint (Mónica Bravo, Fabienne Gauffre, Sylvain Tranchimand), Bâtiment 10A, 2ème étage.

Comment postuler ? Envoyer un CV et une lettre de motivation à Mónica Bravo lourdes-monica.anaya@univ-rennes1.fr, 02.23.23.52.22, Sylvain Tranchimand sylvain.tranchimand@ensc-rennes.fr, 02.23.23.80.96

PhD thesis offer :

Disassembly mechanisms of lipid nanoparticles containing nucleic acids for gene delivery

Keywords : *lipid nanoparticles, nucleic acids, physico-chemistry, microfluidics, molecular and cellular biology*

Background and objectives: Nucleic acid-based therapies are currently on the rise with the advent of messenger RNA (mRNA) vaccine formulations developed by companies such as Pfizer or Moderna Therapeutics. The emergence of this new technology is expected to greatly accelerate research into all types of therapies with DNA or RNA-based approaches, including plasmid DNA, oligonucleotides (ODNs), microRNAs (miRNAs), etc. All these approaches share the same need to optimize the cellular internalization of nano-objects and the safe and efficient release of nucleic acids into the cytoplasm or into the nucleus of the targeted cells. However, if the formation of vectorization systems (polyplexes, lipoplexes or lipid nanoparticles) is well documented in the literature, few studies have been devoted to the physicochemical mechanisms at the origin of the disassembly of the nanoparticles during and after the endosomal escape, especially under the physicochemical conditions of the intracellular environment.

This research project aims to study: *i)* the interactions between lipid nanoparticles based on nucleic acids (calf thymus DNA, plasmid DNA, oligonucleotides and mRNA) and lipid membranes, in order to mimic endosomal leakage; and *ii)* the disassembly mechanisms of these nanoparticles under the physical-chemical conditions encountered in the extra- and intracellular environment. The project will take place in 4 parts. The first part corresponds to the formulation of lipid nanoparticles through a microfluidics technique as well as their colloidal characterization (size and morphology, surface charge, stability). The study of their dissociation in a biological context will be carried out in part 2. In this part, the ability of osmolytes, lipid membranes and competitive biological polyanions (heparin, chondroitin sulphate, hyaluronic acid, etc.) to disrupt nanoparticles will be evaluated by physical-chemical, biophysical and microscopic techniques. Quantitative information on the amount of DNA released after exposure to different biological environments will be obtained by gel electrophoresis or by spectroscopy. Part 3 will be dedicated to the study of the disassembly kinetics of nanoparticles in physical-chemical conditions close to those encountered in the extra- and intracellular environment using a stopped flow technique coupled with different detectors (circular dichroism, light scattering and fluorescence). Finally, the monitoring of the extracellular and intracellular

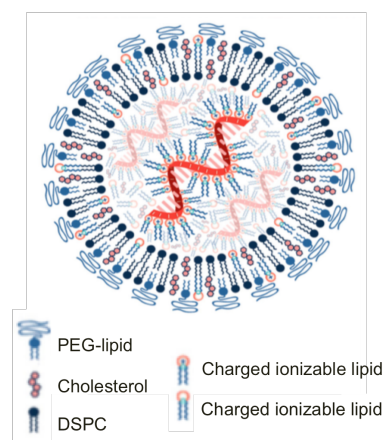


Fig. 1.- mRNA lipid nanoparticle structure.²



disassembly of the nanoparticles will be carried out on living cells through fluorescence measurements in confocal microscopy.

Candidate profile: The doctoral student will have a solid background in physical-chemistry of polymers and/or colloidal systems, as well as knowledge and an interest in molecular and cellular biology. A significant part of this thesis work will be devoted to the analysis, interpretation and presentation of the results, in addition to research and bibliographic monitoring.

Techniques used: microfluidics, ζ -potential, static and dynamic light scattering (SLS/DLS), gel electrophoresis, circular dichroism, microscopy, stopped-flow, fluorescence spectroscopy, FRET.

Reception team: Institut des Sciences chimiques de Rennes, Campus de Beaulieu, team Corint (Mónica Bravo, Fabienne Gauffre, Sylvain Tranchimand), Building 10A, 2nd Floor.

How to apply? Send a CV and cover letter to Mónica Bravo lourdes-monica.anaya@univ-rennes1.fr, 02.23.23.52.22, Sylvain Tranchimand sylvain.tranchimand@ensc-rennes.fr, 02.23.23.80.96