

Développement de la Fluxomique par RMN du ^{13}C

Laboratoire : Institut des sciences moléculaires de Marseille

Equipe : BiosCiences

NOM et Prénom du tuteur : Shintu Laetitia

Adresse : Faculté de Saint Jérôme – Service 512 – av. escadrille Normandie Niémen 13397
Marseille

N° de téléphone : 0413945619

E-Mail : laetitia.shintu@univ-amu.fr

Contexte

Malgré les efforts déployés pour mettre au point des thérapies ciblées et immunitaires pour lutter contre le cancer, la réalité montre que, dans un contexte clinique, le traitement thérapeutique doit comporter au moins un composé cytotoxique puissant et efficace. La découverte du cisplatine et ses applications cliniques constituent des jalons majeurs dans l'histoire des médicaments anticancéreux. Il s'agit en effet de l'un des médicaments les plus utilisés dans le traitement d'un large éventail de cancers tels que les cancers des ovaires, des testicules, de la tête, du cou et du poumon. Ce succès a incité à poursuivre le développement de nouveaux complexes cytotoxiques à base de platine (Pt) et de métaux du même groupe (ruthénium, rhodium, palladium, osmium, iridium). Malheureusement, le cisplatine et les complexes apparentés induisent des effets secondaires graves limitant la dose (neurotoxicité, néphrotoxicité, ototoxicité...), des métastases et une résistance acquise/intrinsèque aux médicaments. Cette situation et l'hypothèse selon laquelle les métaux de transition naturels endogènes génèrent moins d'effets secondaires ont suscité une quête pour le développement de médicaments à base de bio-métaux de transition. À cet égard, les complexes de Cu ayant une activité redox sont apparus comme une alternative prometteuse et puissante aux complexes métalliques du groupe Pt. Ces complexes de Cu possèdent la capacité de former des dérivés ROS (reactive oxygen species) à l'intérieur des cellules grâce au couple redox Cu(II)/Cu(I) ce qui leur confère des propriétés cytotoxiques/antiprolifératives. Au sein de l'équipe Biosciences, des complexes de Cuivre dont la cytotoxicité a été démontrée sur des lignées cancéreuses ont été synthétisés.

Objectif

L'objectif de ce stage est de développer l'approche fluxomique par RMN au sein de l'équipe Biosciences afin d'étudier les mécanismes d'action des complexes de Cu(II) cytotoxiques sur les cellules cancéreuses¹. La fluxomique permet de quantifier les flux métaboliques intracellulaires. Pour cela, une source de carbone marquée (^{13}C , ^2H ou ^{15}N), en général le glucose, est placée en concentration connue dans le milieu de culture et la métabolisation de la source marquée est suivie par mesure des concentrations des isotopomères formés à la suite de leurs transformations successives à travers les réseaux métaboliques intracellulaires. Cela permet donc de mettre en évidence de façon formelle les processus métaboliques impliqués lors de l'exposition des cellules cancéreuses à un stimuli (par ex. médicaments). Dans le cadre de ce stage, nous utiliserons des traceurs isotopiques marqués au ^{13}C dont la métabolisation sera suivie par RMN. En effet, pour un traceur bien sélectionné, différentes voies métaboliques produiront des schémas de marquage métabolique différents à partir desquels les flux pourront être calculés^{2,3}. Cette approche sera mise en place dans le but de collecter des informations sur les processus métaboliques dynamiques impliqués dans l'exposition des cellules cancéreuses à un agent cytotoxique.

Les différentes étapes de travail au cours du stage seront les suivantes :

- Culture de lignées cellulaires *in vitro* en présence ou non d'agent cytotoxique en utilisant le ^{13}C -glucose comme source de carbone.
- Analyse des métabolites intra- et extracellulaires marqués au ^{13}C par RMN HRMAS et RMN liquide, respectivement.
- Estimation des flux métaboliques par utilisation de logiciels dédiés et interprétation des résultats.

Ce stage interdisciplinaire offrira l'opportunité au stagiaire de se familiariser avec de nombreuses techniques dans le domaine de la **chimie analytique** (RMN liquide, RMN HRMAS), de la **biologie cellulaire** (culture cellulaire) et de l'**analyse de données** (analyse statistique multivariée, analyse

de flux métaboliques).

Profil attendu du candidat

Nous recherchons un/e candidat/e motivé/e souhaitant s'investir dans la recherche à l'interface chimie analytique/biologie. Des connaissances en spectroscopies et/ou en analyses statistiques seraient appréciées, une première expérience en métabolomique et/ou en RMN et/ou en culture cellulaire serait un plus.

Envoyer CV et lettre de motivation ainsi que notes du M1 à laetitia.shintu@univ-amu.fr avant le 30 octobre 2022.

Bibliographie

- (1) Antoniewicz, M. R. A Guide to ¹³C Metabolic Flux Analysis for the Cancer Biologist. *Experimental & Molecular Medicine* **2018**, *50* (4), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0060-y>.
- (2) Antoniewicz, M. R. Methods and Advances in Metabolic Flux Analysis: A Mini-Review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **2015**, *42* (3), 317–325. <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1585-x>.
- (3) Crown, S. B.; Antoniewicz, M. R. Publishing ¹³C Metabolic Flux Analysis Studies: A Review and Future Perspectives. *Metabolic Engineering* **2013**, *20*, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2013.08.005>.