

## LABORATOIRE D'ELECTROCHIMIE MOLECULAIRE Unité Mixte de Recherche Université Paris Diderot - CNRS n° 7591

**Contrat :** Financement ATER 12 mois

**Début du contrat :** Septembre 2018

**Lieu :** Laboratoire d'Electrochimie Moléculaire - UMR CNRS 7591, Université Paris Diderot - Paris 7, 15 rue Jean-Antoine de Baïf, case 7107, 75205 Paris Cedex 13, France

**Site web :** [http://www.lemp7.cnrs.fr/themes/LEM\\_theme4.htm](http://www.lemp7.cnrs.fr/themes/LEM_theme4.htm)

**Contacts :** Damien Marchal [marchal@univ-paris-diderot.fr](mailto:marchal@univ-paris-diderot.fr)

**Mots clés :** Electrochimie bioanalytique - amplification d'ADN - modélisation moléculaire - partenariat industriel

### Développement de nouvelles sondes moléculaires pour le suivi électrochimique de la cinétique d'amplification in-vitro d'ADN en milieu biologique complexe.

#### Contexte

Détecter et quantifier, à travers leur ADN, la présence d'agents pathogènes directement dans des milieux biologiques complexes représente un enjeu majeur dans les domaines de l'analyse clinique, de l'agroalimentaire et de l'environnement. Pour réaliser ces analyses, les techniques couplées d'amplification génique in vitro et de détection par fluorescence (par exemple avec les instruments de PCR ou de LAMP en temps réel) sont connues autant pour leur rapidité, sensibilité et simplicité d'utilisation,<sup>[1-2]</sup> que pour leur relative fragilité, leur coût d'utilisation élevé et l'absolue nécessité d'une purification amont de l'ADN ou l'ARN à détecter. Les raisons sont principalement liées à l'utilisation de la spectroscopie de fluorescence, coûteuse, fragile, sensible à la composition du milieu et dont la miniaturisation sous la forme d'un laboratoire sur puce est difficile à réaliser. Afin de résoudre cet inconvénient, le Laboratoire d'Electrochimie Moléculaire a développé une nouvelle approche d'amplification in vitro d'ADN couplée à une détection électrochimique. Le principe consiste à suivre en temps réel la diminution du signal électrochimique d'une sonde redox intercalante de l'ADN double brin.<sup>[3]</sup> Si les performances analytiques sont déjà suffisantes pour être comparées aux approches optiques lorsque la purification de l'ADN ou l'ARN cible a été réalisée en amont,<sup>[4-5]</sup> une étape supplémentaire reste à franchir en réalisant la détection et la quantification de la cible biologique directement dans l'échantillon biologique sans une purification amont. Pour atteindre cet objectif, de nouvelles sondes redox devront être développées avec, pour cahier des charges, d'être affines de l'ADN, de ne pas n'inhiber le processus d'amplification in-vitro d'ADN, et de rester mesurable dans des milieux biologiques complexes tels que l'urine ou le sang additionnées des réactifs de lyse cellulaire. Développer de telles sondes représente un travail ambitieux nécessitant d'une part de continuer à affiner notre compréhension des interactions gouvernant l'affinité de ces sondes avec l'ADN double brin et d'autre part d'évaluer leur degré de compatibilité pour une mesure en milieu biologique complexe.

#### Projet

En s'appuyant sur la base de sondes moléculaires déjà identifiées comme fonctionnelles pour un suivi électrochimique en temps réel d'une amplification in-vitro d'ADN,<sup>[5]</sup> le projet consistera à développer une famille de sonde moléculaire permettant de réaliser la détection et quantification de la cible pathogène directement dans une goutte d'urine ou de sang. Pour atteindre ce but, l'ATER pourra s'appuyer d'une part sur notre approche originale basée sur des allers-retours entre l'expérience et la simulation,<sup>[6]</sup> et d'autre part sur notre partenariat fort avec la société Easy-Life Science (<http://www.elice.fr>).

#### Profil du candidat :

Compte tenu du caractère pluridisciplinaire du projet, le candidat devra posséder une bonne capacité d'adaptation dans des domaines variés avec un goût prononcé pour les biotechnologies et les développements techniques et instrumentaux. Il se sentira capable d'accompagner les développements techniques avec nos partenaires industriels. Il devra avoir une formation solide dans l'un des domaines abordés (chimie analytique, électrochimie, biotechnologie).

[1] Real-time polymerase chain reaction, J. Wilhelm, A. Pingoud, Chem.Bio.Chem. 2003, 4 (11), 1120-1128.

[2] Zhang, X.; Lowe, S. B.; Gooding, J. J. Biosens. Bioelectron. 2014, 61, 491-9.

[3] Defever T., M. Druet, D. Evrard, D. Marchal, B. Limoges, Anal. Chem. 2011, 83, 1815-1821.

[4] A. Martin, K. Grant, F. Stressmann, Franziska, J-M. Ghigo, D. Marchal, B. Limoges, ACS sensors, 2016, 1, 904-912.

[5] A. Martin, L. Bouffier, K. Grant, B. Limoges, D. Marchal, Analyst, 2016, 141, 4196-4203.

[6] M. Moreau, S. Delile, A. Sharma, C. Fave, A. Perrier, B. Limoges, D. Marchal, Analyst, 2017, 142, 18, 3432-3440.