

# Axe 1-Atelier 3 :

## Biocapteurs diagnostiques (biologie)

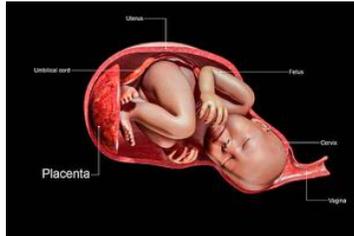
- Modérateurs :
  - Eric Peyrin (DPM)
  - Arnaud Buhot (SyMMES)

- **Nadia Alfaidy**, Equipe **MAB2**: BCI U1036, futur **UMR Biosanté/CEA Grenoble**

## • Pourquoi un tel dispositif ?

- L'organisation mondiale de la santé: plus d'un nouveau-né sur dix dans le monde est né prématurément.

### *Inflammation (IF) de la barrière placentaire (PL)*



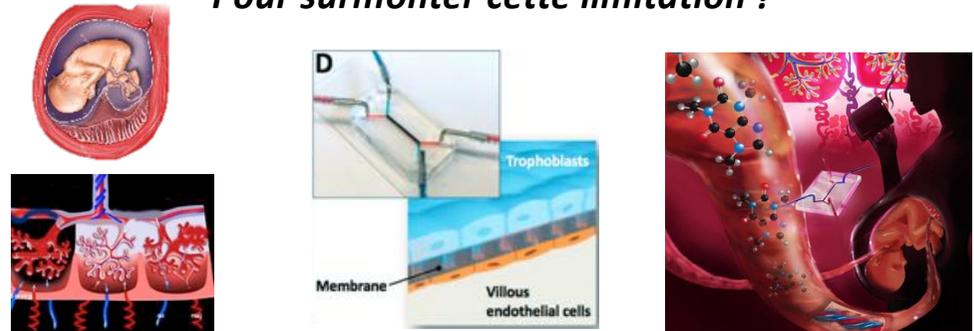
- La réalisation des essais cliniques incluant des femmes enceintes étant contraignante, il est difficile d'étudier l'association entre l'IF PL et l'a survenue de la prématurité

## • Forces locales

- Thématique de **MAB2** est dédiée à l'étude des barrières biologiques
- Plus de 20 ans d'expérience dans l'étude de la barrière placentaire
- Maîtrise de la culture des différents types cellulaires du placenta

## • Descriptif du projet

### *Un dispositif microfluidique de la barrière placentaire Pour surmonter cette limitation !*



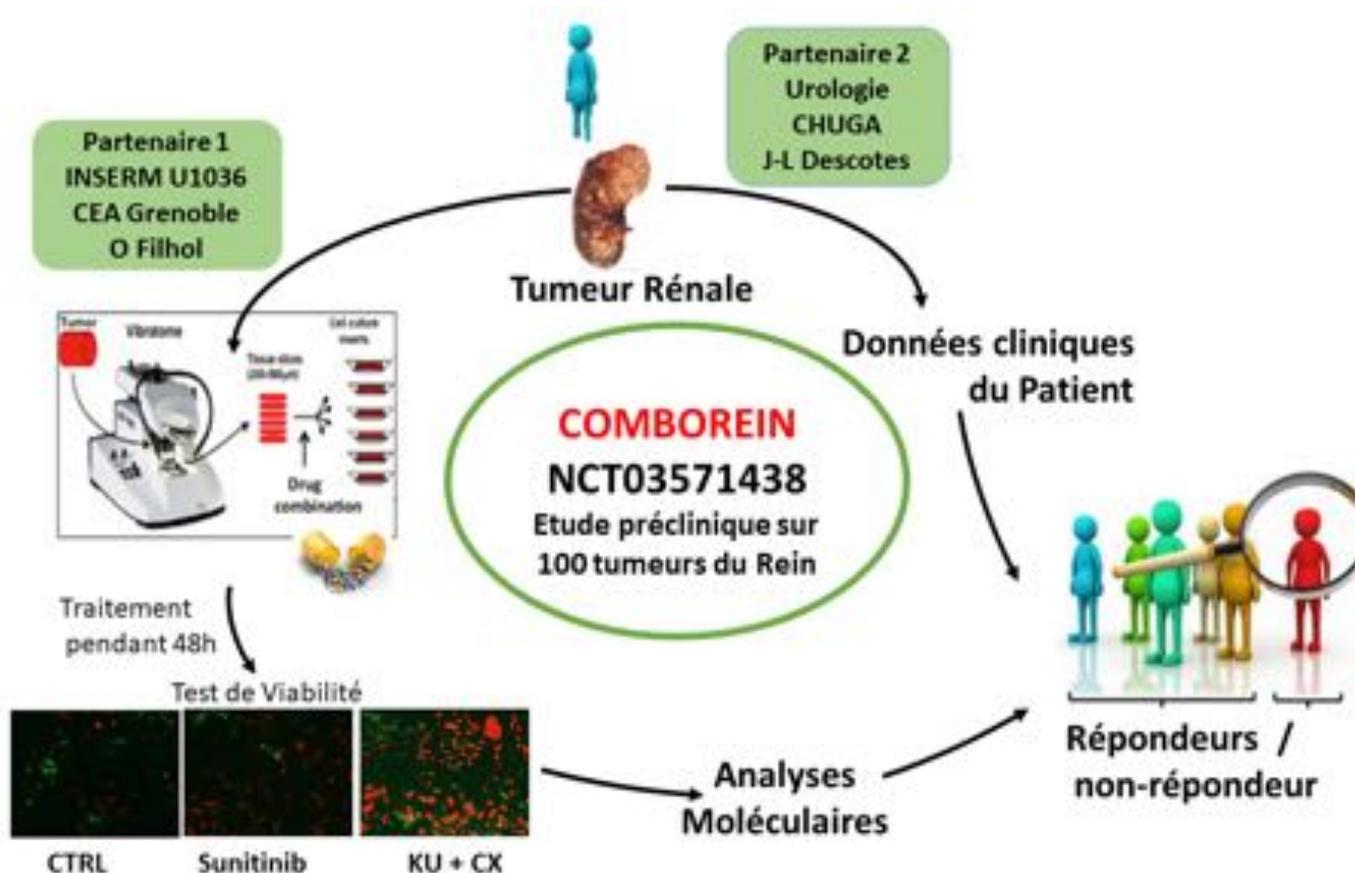
- Constituer une plate-forme simple pour explorer les réponses inflammatoires compliquées du placenta et comprendre les mécanismes sous-jacents aux pathologies de la grossesse.

## • Compétences recherchées

- Equipe spécialisée dans le développement de dispositif microfluidique des barrières biologiques!

# COMBOREIN

- **Axe principal** Explorer et Diagnostiquer (diagnostic in vitro)
  - Culture organotypique de coupe de tissu tumoral
- **Axes secondaires** Traiter et intervenir (Dispositifs médicaux)
  - Nouvelles combinaisons d'inhibiteurs de protéines kinases



## Résultats acquis:

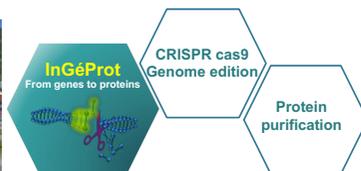
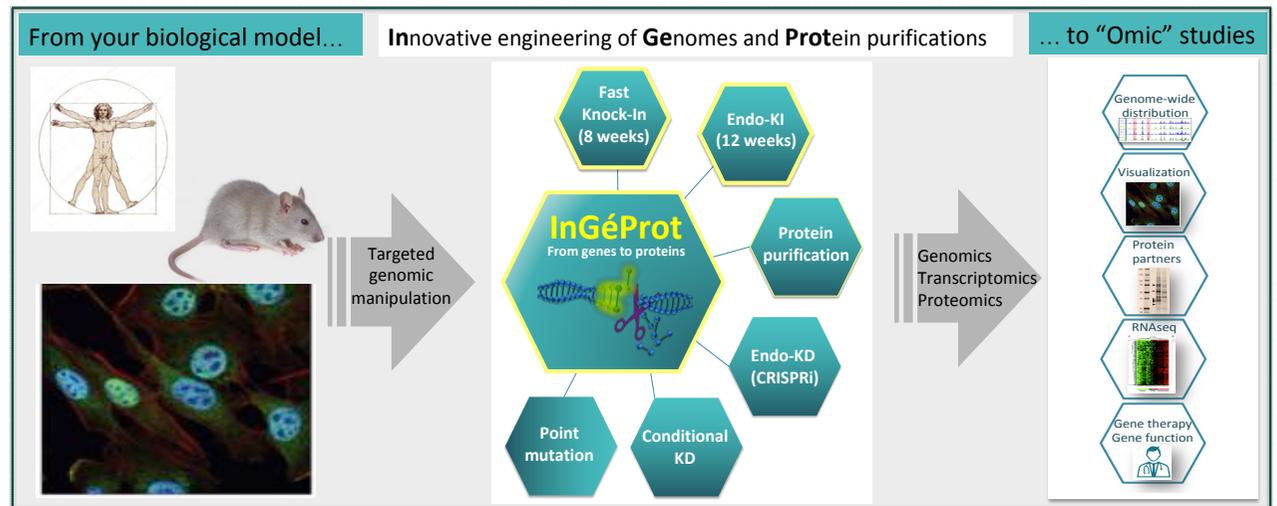
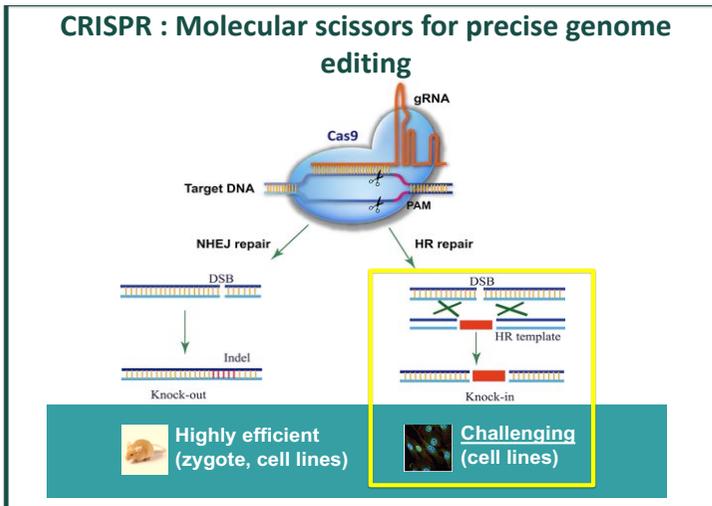
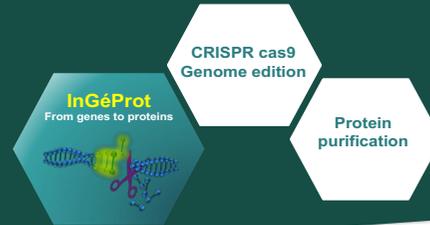
PCT/EP2016/072458 brevet  
Roelants et al. 2018 Oncotarget  
Roelants et al. 2020 Cancers

## Compétences recherchées:

Un étudiant en médecine choisissant de réaliser un M2 voire une thèse de sciences dans le laboratoire Biosanté, accompagné de 15 k€ par an pour assurer le fonctionnement.

# InGeProt

Innovative engineering for the Genome editing and Protein purification



**Contact:**  
[leila.todeschini@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:leila.todeschini@univ-grenoble-alpes.fr)  
[andre.verdel@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:andre.verdel@univ-grenoble-alpes.fr)

# Recherche de biomarqueurs circulants pour un diagnostic précoce de la maladie de Parkinson et les troubles associés

## But :

- Utiliser les **microARNs** et les **métabolites** comme biomarqueurs potentiels dans les stades pré-symptomatiques de la maladie de Parkinson ou des effets secondaires de certains traitements parkinsoniens
- Approche sans hypothèse a priori (approche métabolomique en collaboration avec F. Fauvelle).
- *Des modèles animaux (rats, primates non humains) jusqu'au patient*

## Intérêt :

- Diagnostic précoce pour les stratégies préventives et neuroprotectrices
- Identification des sujets à risque et améliorer la prise en charge et le suivi des patients

## Besoins :

- Statisticien, bioinformatique
- Séquençage et structure clinique

# La Metabolomique par RMN : de l' *in vitro* à l' *in vivo*

## But

- Combiner des approches de **métabolomique non ciblée** par méthodes RMN *in vitro* et *ex vivo* à des approches de **métabolomique ciblée** par méthodes RMN *in vivo*.
- Approche sans hypothèse à priori, guidée par le pouvoir discriminant de métabolites.
- *Méthode non invasive, pouvant être insérée dans un bilan pré-chirurgical, un suivi de patient..*

## Intérêt

- épilepsie pharmaco-résistante: remplacer une méthode invasive<sup>1</sup> ? (EEG intracranien)
- Être plus spécifique

## Besoins:

- statisticien pour faire évoluer les statistiques multivariées utilisées
- Physicien/radiologue pour développement des méthodes RMN *in vivo*

1-Hamelin S, Stupar V, Mazière L, Guo J, Labriji W, Liu C, Bretagnolle L, Parrot S, Barbier EL, Depaulis A, Fauvelle F In vivo GABA increase as a biomarker of the epileptogenic zone: an unbiased metabolomics approach, Epilepsia 2020.

# Découverte de biomarqueurs plasmatiques de sévérité de la NASH par analyse protéomique



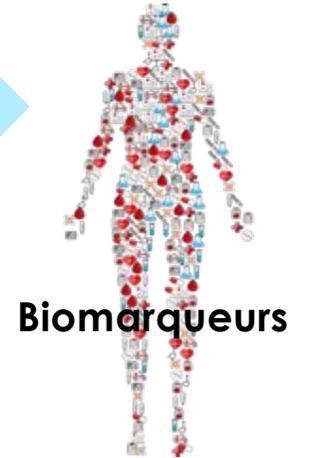
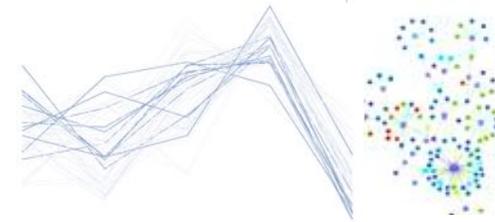
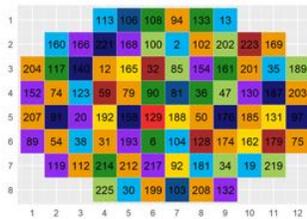
Pipeline pour la découverte et l'évaluation de nouveaux biomarqueurs par analyse protéomique et science des données



Optimisations et outils pré-analytiques

Analyse de découverte LC-MS/MS

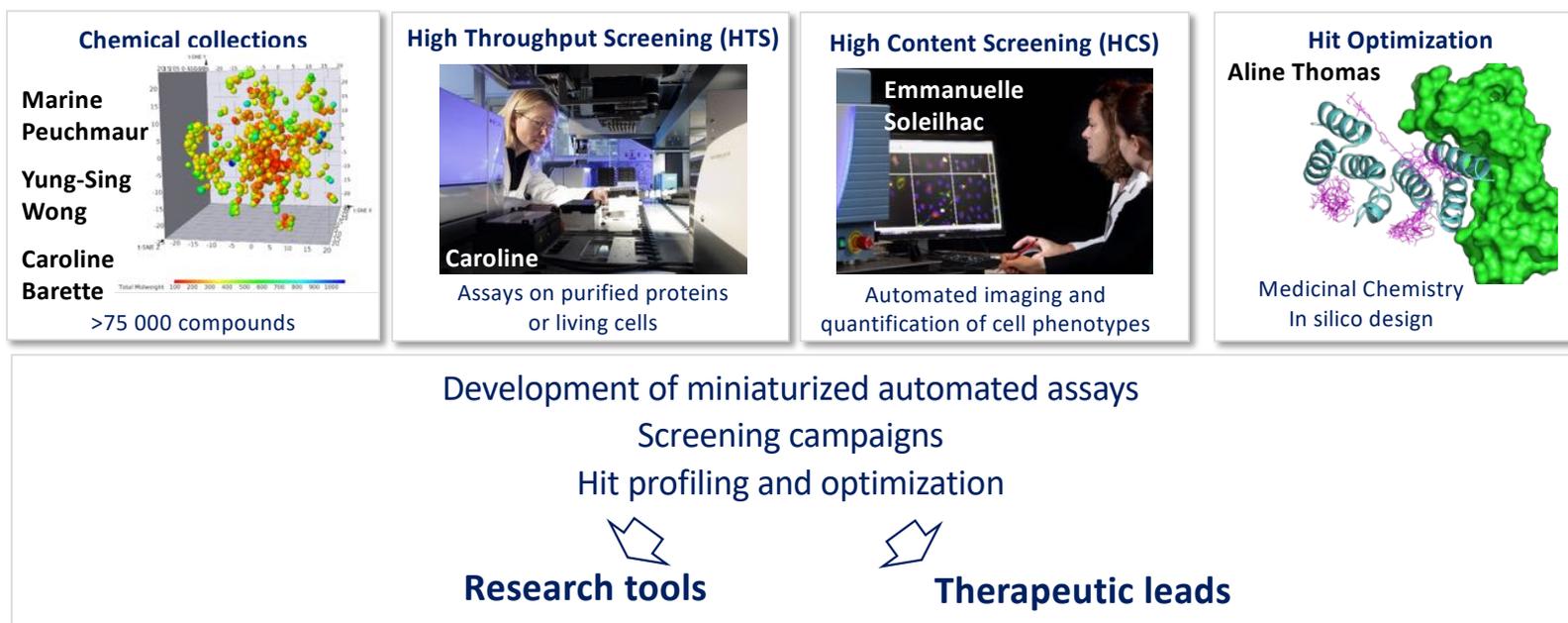
Analyse des données, statistiques & bioinformatique



- Borges et al, Bioinformatics submitted
- Kraut et al. MiMB 2019
- Patent WO2017/050089



Equipe EDyP Etude de la Dynamique des Protéomes  
[www.edyp.fr](http://www.edyp.fr)



- Cell biologist experts in 3D-cell models, organoids, organ-on-chips
- Clinicians and scientists searching for bioactive molecules targeting their therapeutic targets under study
- Medicinal chemists and structural biologists experts in hit optimization
- Laboratories and Companies working in the Drug discovery field

# TUBSCREENS: ensemble de tests miniaturisés et automatisables pour caractériser et quantifier les modifications de la dynamique du réseau microtubulaire

**Enjeu** : complète caractérisation de la cible de nouveaux médicaments, notamment de leur effets sur le réseau microtubulaire: des thérapies ciblées se sont avérées faire appel à des mécanismes cytotoxiques plus triviaux (exple du buparlisib, PI3K)

**Difficulté à surmonter**: quantifier rapidement et facilement l'effet de drogues sur le réseau microtubulaire cellulaire (stabilisation ou dépolymérisation)

**Notre solution** : un ensemble de tests cellulaires dont les avantages sont:

- Détection des drogues capables de pénétrer dans la cellule
- Pas besoin de microscope, seulement d'un lecteur de microplaques
- Tests sensibles, lecture en luminescence
- Tests reproductibles et adaptés au criblage à haut débit
- Tests quantitatifs

**Preuve de concept publiée** : Ramirez-Rios S., Michallet S., Peris L., Barette C., Rabat C., Feng Y., Fauvarque M.O., Andrieux A., Sadoul K., Lafanechère L. A new quantitative cell-based assay reveals unexpected microtubule stabilizing activity of certain kinase inhibitors, clinically approved or in the process of approval. **Frontiers in Pharmacology**, 2020, doi: 10.3389/fphar.2020.00543 IAB, CEA, GIN, Scripps Institute

# Planarpore : plateforme analytique sur réseaux de pores planaires

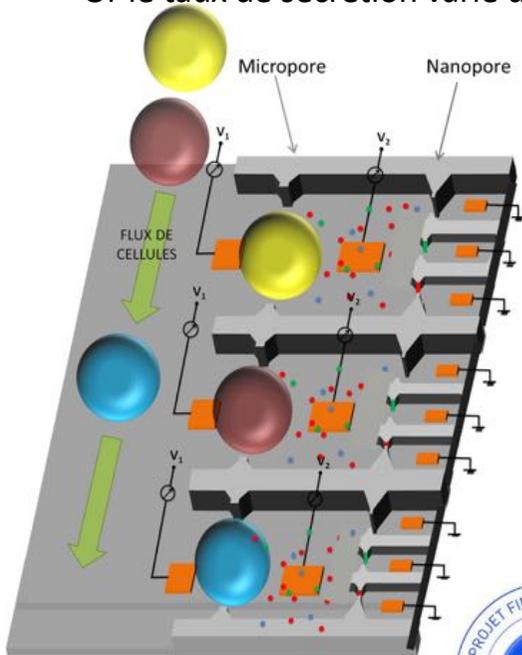
Applications : Capture de cellules individuelles et analyse de leurs sécrétions

## BIOCAPTEURS MULTI-ECHELLES POUR L'IMMUNOLOGIE (projet ANR, 2015-2019, coord. Aurélie Bouchet-Spinelli)

### CONTEXTE : ETABLIR LE PROFIL DE SECRETIONS D'UNE CELLULE IMMUNITAIRE INDIVIDUELLE

Les sécrétions cellulaires sont généralement analysées sur une population de cellules → mesure d'un taux moyen

Or le taux de secretion varie d'une cellule à l'autre → intérêt de mesurer les profils de sécrétions sur une cellule individuelle



**Pore planaire = restriction dans un canal microfluidique**

**Micropore** ➤ ROLE = CAPTURER UNE CELLULE INDIVIDUELLE

- dimension 20  $\mu\text{m}$
- fonctionnalisation par des anticorps pour immobiliser spécifiquement un type de cellule
- contrôle de la capture par microscopie optique

**Nanopore** ➤ ROLE = DETECTER ET QUANTIFIER LES SECRETIONS DE CHAQUE CELLULE

- Dimension de 100 nm à quelques  $\mu\text{m}$
- Fonctionnalisation par des anticorps pour immobiliser spécifiquement un type de sécrétion
- Mesure par microscopie de fluorescence ou électrochimiluminescence

**Forces locales** : fonctionnalisation (CREAB), modèles cellulaires (IAB)

**Compétences recherchées** : plutôt un intérêt pour ce genre de problématique

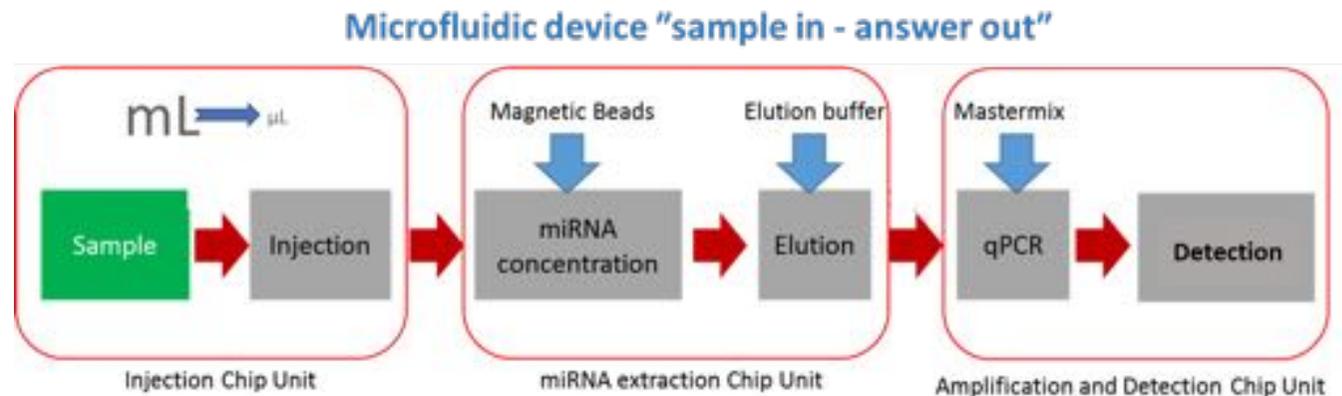
# Automated\_Detection\_of MicroRNAs (ADmiR)

- ❑ **Biologie du Cancer et de l'Infection** UMR 1036 UGA-INSERM-CEA
- ❑ **Dispositif à visée diagnostique:** microARNs dans les biopsies liquides (sérums, plasma, urine...)
- ❑ **Technologie:**

- ❖ **Instrumentation**

- Module purification des ARN (billes magnétiques)
- Zones de chauffage pour élution et amplification des ARN
- Module optique: lecture fluorescence en temps réel

- ❖ **Système Microfluidique**



- ❑ **Forces locales:** LETI/DTBS: instrumentation/détection/microfluidique  
BCI: microARNs biomarqueurs théranostiques (cancer)
- ❑ **Résultats acquis:** un prototype très préliminaire testé (RT et qPCR) /Programme Technosanté CEA 2017
- ❑ **Compétences recherchées:** microfluidique et mesures biophysiques
- ❑ **Ressources nécessaires:** Un Post-Doc/Consommables

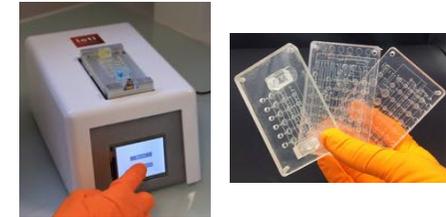
# CAPS (Clinical Analysis in a Portable System)

Développement d'une brique générique pour la détection de biomolécules sur le terrain

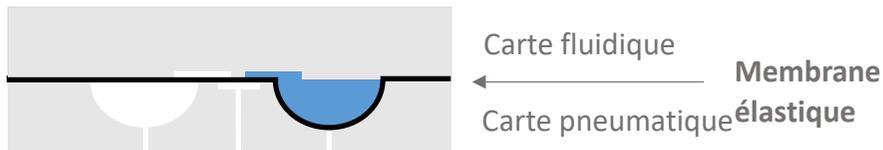
Quantification de biomarqueurs à partir d'un échantillon clinique brut dans un instrument transportable

**Critères:**

- Détection ultrasensible, multiplexe, quantitative
- Dispositif portable, simple d'utilisation, robuste



► **Technologie utilisée : « Flowstretch » (fluidique étirable)**

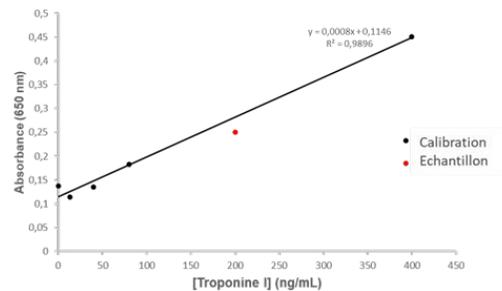
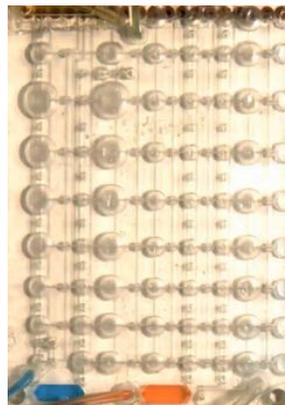


Mélange

**Intérêts**

- Intégration de protocoles complexes (multi-étapes)
- Automatisation des étapes
- Dispositif portable et autonome

► **Résultats : exemple de validation d'un test ELISA**



Parent et al. (2018). *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 261, 106–114

**Compétences disponibles**

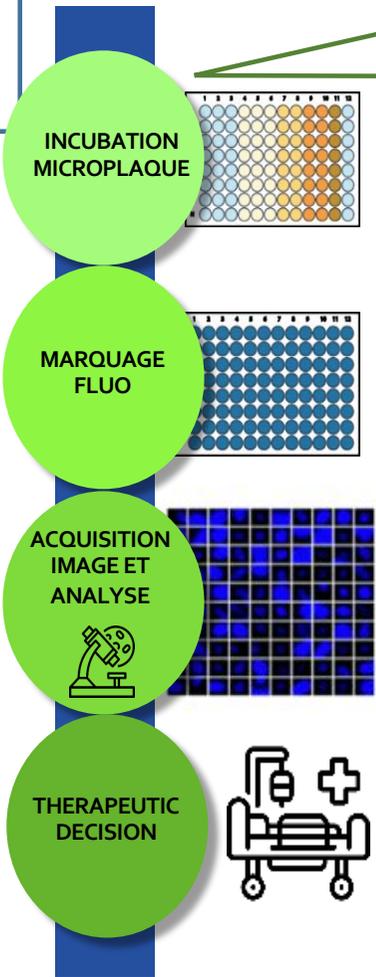
- Conception et fabrication de systèmes microfluidiques
- Intégration et automatisation de protocoles biologiques

**Compétences recherchées**

- Méthodes de détection innovante (réactifs et capteurs)
- Biologistes, personnels soignants, médecins et acteurs de la santé publique pouvant apporter la pertinence clinique, le choix des biomarqueurs et le cas d'usage

# SensiFONU

Augmentation des résistances antifongiques et fongicides  
Adaptation rapide des traitements  
=  
**Test de diagnostic SensiFONU**



**Technologie** : Distribution robotisée en microplaque, plateforme SCIMI de microscopie à fluorescence-cytométrie en image automatisée )  
**Notre Expertise** : antifongiques, résistances, tests *in vitro*, cytométrie, signalisation de réponse aux stress

**Innovation** : détection réponse paroi fongique  
**Tests actuels** : détection inhibition de croissance  
**Intérêt** : Test rapide 6h, fiable, objectif

**Validation** : par rapport méthode référence EUCAST

Levures	Moisissures
100 souches /12 espèces	50 souches /11 espèces

1 brevet avec extension Chine, Canada, USA  
1 article : Wang Y, et al. doi:10.1128/AAC.01101-19

**Compétences Recherchées** - Robotisation de l'ensemble et intégration aux chaînes de microbiologie  
- Interface logicielle d'interprétation et de rendu des résultats

M. Cornet et D. Aldebert

# Détection d'antibiorésistance par électrochimie

Antibiorésistance

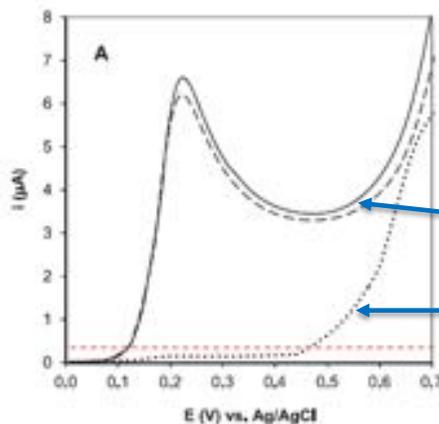
**Sans a priori**

## Détection d'antibiorésistance

❖ Electrochimie - mesure d'activité enzymatique

→ Ajout d'une bêta-lactamine :

Variation du courant si ouverture du noyau bêta-lactame



**Détection de bêta-lactamase de *E. coli* par CV**

Avec bêta-lactamase

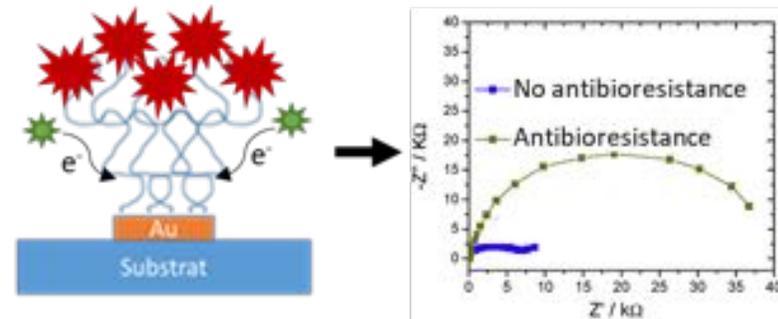
Sans bêta-lactamase

Betelli et al., *Talanta*, **184**, 210-218 (2018)

**Avec a priori**

## Identification de l'antibiorésistance

❖ Aptamères : Variation du spectre d'impédance si présence du gène d'antibiorésistance



**Détection d'un mécanisme d'antibiorésistance avec aptamères par spectroscopie d'impédance**

❖ Intérêts technologiques :

- Savoir-faire DTBS, fonctionnalisation de surface, électrochimie, microfluidique...
- Possibilités d'utiliser le principe pour d'autres détections (virus, bactéries...)

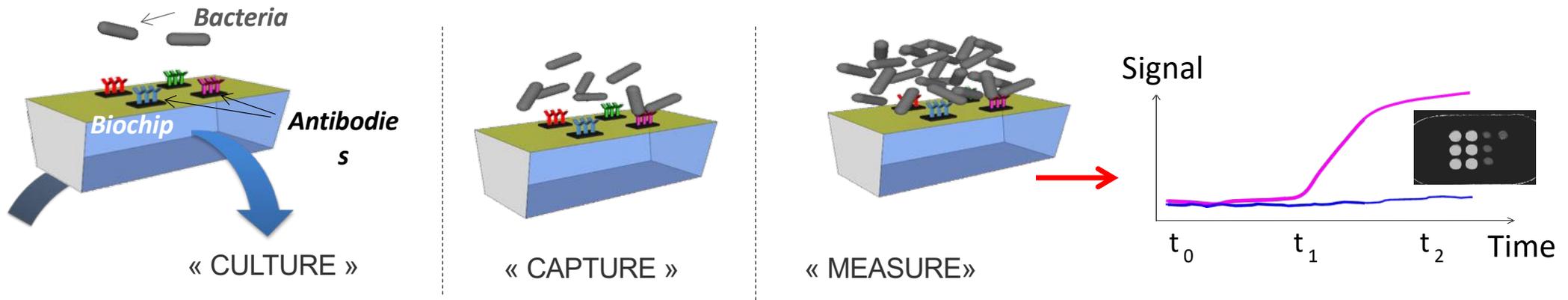
❖ **Besoin de compétences en aptamères**

❖ Intérêt clinique car peu de méthodes sans a priori

❖ **Besoin de compétences en microbiologie**

# Bacus

Porteur : Yoann Roupioz (DR CNRS)  
Collab. SyMMES – DCM - CHUGA



- Développement de solution pour la détection rapide de bactéries dans le sang
- Système intégré (sang humain + biopuce + biocapteur)
- Biopuces à anticorps et à peptides
- Synthèse de peptides, fonctionnalisation de biopuces, développement d'instruments optiques dédiés (imagerie Résonance Plasmonique de Surface)
- Validation vis à vis des techniques de routine
- Recherche de solutions pour l'intégration d'un antibiogramme lors de l'analyse (forcément !)

# POLYsaccharides-Adn NAnohybrideS (POLYANAS)

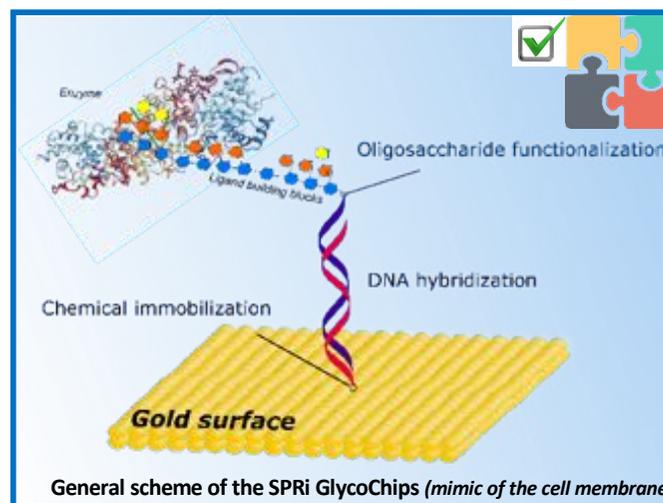
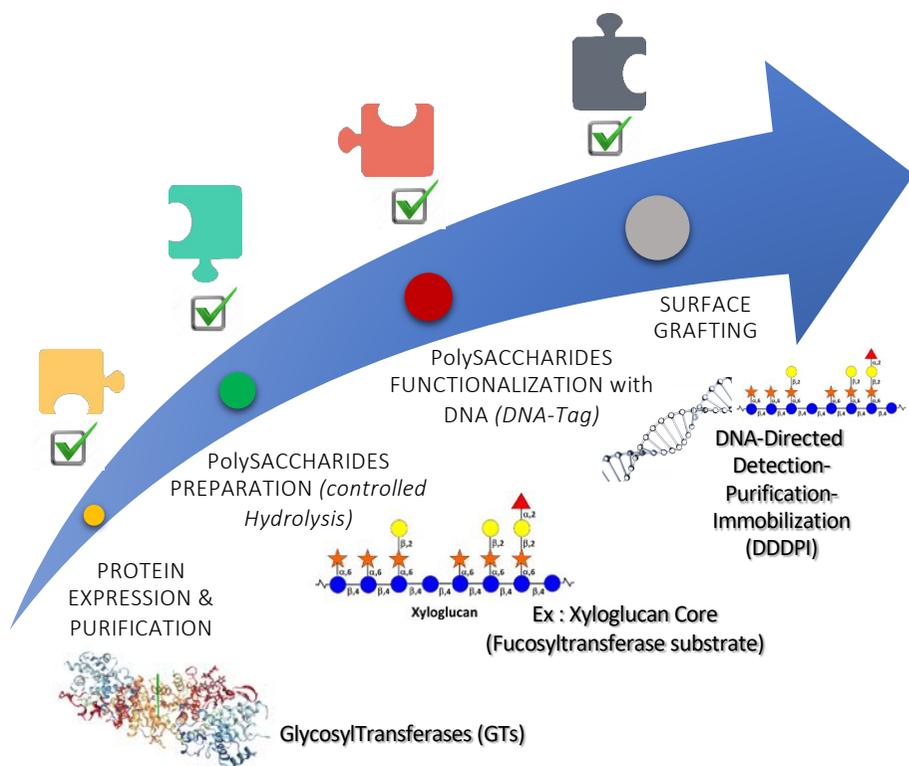
Applications : Des BioCapteurs aux BioMatériaux ...



## BIOCAPTEURS POLYVALENTS POUR LE DÉCHIFFRAGE DES ACTIVITÉS GLYCOENZYMATIQUES (Thèse Daniel MARQUEZ (2017-2020))

CONTEXTE : " THE WORLD IS SWEET : SUGARS ARE EVERYWHERE !! "

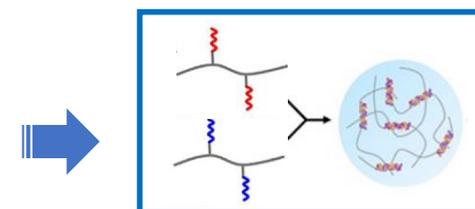
- Les GLYCANES sont présents à la surface de toutes les cellules (*signalisation, reconnaissance & typage cellulaire*)
- GLYCOSYLATION des Protéines : Modifications post-traductionnelles (*majeures & complexes*) des protéines



### DNA-SUGAR HYBRID BIOSENSORS

- ✓ Specificity & activity of the enzymes by SPRi
- ✓ Comparative study with other techniques (*Electrophoresis, MALDI-Tof/MS, iTC, Fluorescent assays*)

Coll. CERMAV  
(O. LEROUXEL)



### DNA-SUGAR HYBRID BIOMATERIALS

- ✓ From nano/micro to macroscale
- ✓ Self-assembling, biocompatible, bio-degradable, self-healing, activable

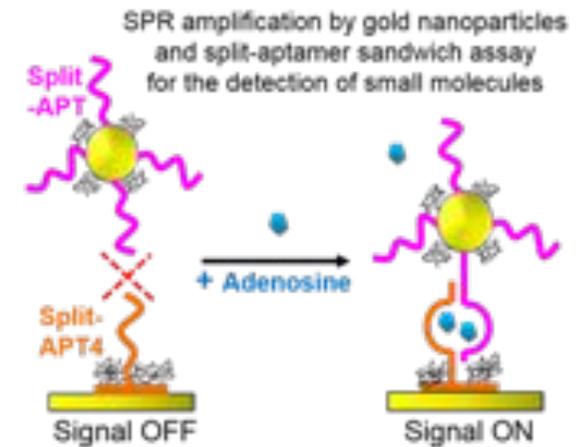
### Applications :

Hydrogels, Biofilms, Vectorization, ...

Coll. LIMMS (CNRS)  
& Tokyo Univ.

# APTASENSORS

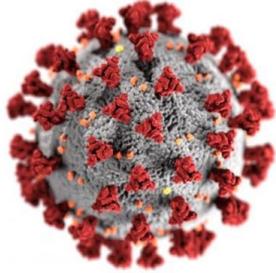
- Développement de biocapteurs à base d'aptamères pour la détection et la quantification de biomarqueurs
- Techniques de détection :
  - Imagerie par Résonance de Plasmons de Surface : **SPR imaging**
  - Amplification isotherme de sondes : **Aptamero-LAMP** (Collab. DTBS)
- Cibles visées :
  - **Protéines** : Thrombine, Troponine
  - **Petites molécules** : Adénosine, ATP
  - **Virus entiers** : SARS-Cov2 (Projet UGA : Collab. DCM, DPM, IBS)
- Compétences du laboratoire :
  - **Ingénierie de biomolécules** : sondes
  - **Chimie de surface** : immobilisation des sondes dans les dispositifs
  - **Développement instrumentaux** pour la détection
  - **Analyse de données** : traitement du signal et extraction d'information
- Compétences recherchées :
  - **Sélection d'aptamères**
  - **Modèles applicatifs pertinents**



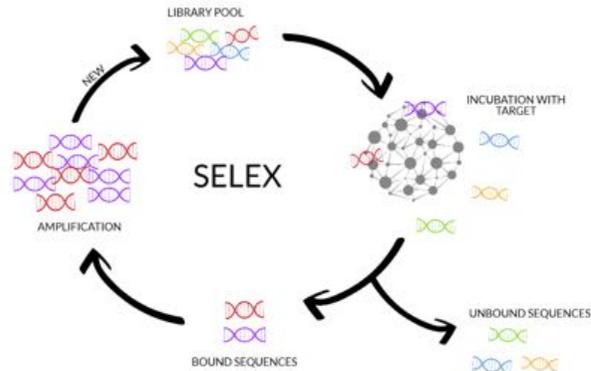
# ACTIF Project: Aptamer based sensor for diagnostic purpose

## Biological Target IBS

Production of SARS-CoV-2-Spike S and pseudovirus



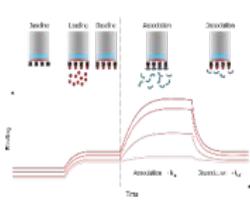
## Aptamer Selection DPM



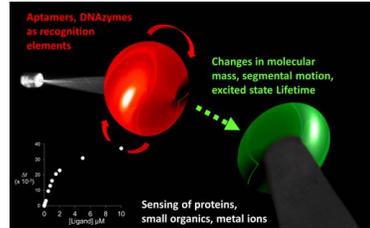
## DNA Synthesis DCM



## Characterization of the Spike-Aptamer interactions DCM & DPM



BioLayer Interferometry  
(on surface)



Fluorescence Anisotropy  
(in solution)

## Analysis of biological sample from infected donors CHU

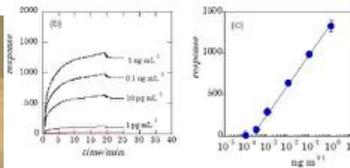


Saliva or  
Naso pharyngeal tests



## Aptasensors for diagnostic of SARS-CoV-2 infection DCM, DPM & SyMMES/Leti

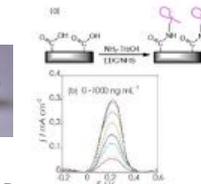
### Optical



### Colorimetry



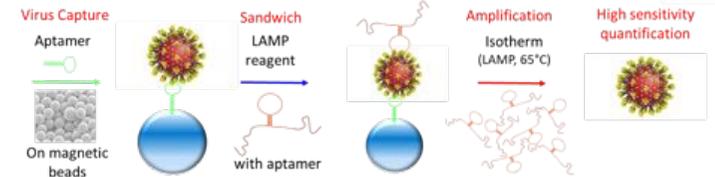
### Electrochemical



### Fluorescence



### Aptamero-LAMP



Partners: E. Defrancq & J. Dejeu, DCM, E. Peyrin & C. Ravelet DPM, R. Germe & P. Pognard IBS, A. Buhot SyMMES & M. Cubizolles, Leti