

Thématique : Biotechnologie/Environnement

Projet Sentinelle : Développement de biomarqueurs Sentinelles de la pollution de l'eau à partir du niveau d'expression de la P-gp via les fluorosondes innovantes LightSpot® applicables aux organismes et microorganismes aquatiques

I – Contexte, positionnement, caractère novateur :

Dans un contexte de recherche translationnelle issu d'un partenariat public/privé avec les sociétés BIOPASS SAS et BIOMARQUEURS SAS, le groupe « Résistance » de l'UMR INSERM-UCA 1240 IMoST a constitué avec ses partenaires industriels, le consortium BIORCELL3D (<https://biorecell-3d.com/>). Ils développent ensemble **des outils biotechnologiques innovants appliqués à la Santé et à l'Environnement.**

Notre groupe a une **grande expertise sur le développement de biomarqueurs environnementaux à partir de l'expression de la protéine « Multidrug Resistance » majeure, la « Permeability glycoprotein » (P-gp).** Cette dernière est une protéine d'efflux membranaire impliquée dans les mécanismes de défense à l'échelle cellulaire [1-9]. Elle reconnaît et cible une grande classe de substrats de structures et de propriétés très variées, tels que les médicaments et les polluants. Très ubiquitaire, la **P-gp est retrouvée chez la plupart des organismes vivants**, notamment les poissons [2, 5]. L'expression de la P-gp (gènes / protéines) peut-être induite (augmentée) **en présence de xénobiotiques** (médicaments et polluants). Cette propriété d'induction de la P-gp peut être exploitée pour le développement d'un **biomarqueur global de la pollution de l'eau.** C'est notamment sur ce principe que le « **Biomarqueurs Sentinelles** » de type **résistance/stress** a été **développé à partir du sang de truite** au sein du groupe Résistance. **Ce biomarqueur a fait l'objet d'un brevet français de l'Université Clermont Auvergne, dont la licence exclusive a été achetée par la société BIOMARQUEURS [7]. La preuve de concept du biomarqueur Sentinelles a été démontrée au laboratoire et également sur les différentes rivières, en Région AURA [3-7].** A l'heure actuelle, le principe de détection et de la quantification de la P-gp par des biomarqueurs Résistance/Stress est basé sur des méthodologies classiques de Western Blot ou d'immunomarquage, par des anticorps spécifiques pour chaque type d'organisme étudié. Elles font appel à des expériences au laboratoire relativement lourdes, de longue durée, incluant de nombreuses étapes successives. Par ailleurs, les anticorps onéreux utilisés pour ces expériences ne sont pas tous disponibles sur le marché et sont surtout non spécifiques aux différents épitopes de la P-gp qui pourraient être présents chez les différents organismes. D'où un frein pour une exploitation massive et généralisée de ces biomarqueurs sentinelles.

Notre groupe développe également des **traceurs fluorescents utilisés comme outils de diagnostic préclinique.** Notamment, de **nouvelles classes de traceurs fluorescents innovants** intitulés **LightSpot®**, ont été récemment développées [10]. Il s'agit de fluorosondes capables de pénétrer une cellule ou une masse cellulaire, se fixant spécifiquement sur la P-gp. La preuve de concept de la détection et quantification spécifique de la P-gp par le traceur LightSpot® FL1 a déjà été établie sur de nombreuses lignées cellulaires [11].

II – Objectif des travaux de thèse :

La P-gp constitue un excellent biomarqueur pour la détection d'une « toxicité globale » de la pollution aquatique. Les traceurs fluorescents LightSpot® représentent un outil très innovant pour la détection et la quantification de la P-gp, dans une cellule ou dans un organisme entier. Il s'agit d'un concept original et très ubiquitaire qui serait applicable à différentes espèces.

C'est dans ce contexte que le projet Sentinelle vise le développement de nouveaux biomarqueurs innovants et ubiquitaires de type « Résistance/Stress » basés sur le taux d'expression de la P-gp à l'aide de ces nouveaux traceurs LightSpot®, applicables à l'ensemble des organismes aquatiques d'eau douce et d'eau de mer.

Pour ce développement et dans un premier temps, deux modèles seront exploités :

- (i) **Le modèle globules rouges de poisson, sur lequel le groupe Résistance de l'UMR IMoST possède déjà une grande maîtrise, afin de développer un test diagnostique sanguin de type « Sentinelle » révélant la pollution globale des eaux.**
- (ii) **De nouveaux modèles très innovants de type algues, protozoaires, microorganismes aquatiques, entre autres... seront explorés.**

III- Environnement du poste :

- ✓ Dates de début de Projet : **A partir de début septembre 2022**
- ✓ Profil de candidature : **Titulaire d'un Master 2, domaine : biologie cellulaire et physiologie animale, microbiologie.**
- ✓ Lieu : UMR-INSERM-UCA 1240 IMoST – Groupe Résistance Site IUT Clermont Auvergne – Université Clermont Auvergne
- ✓ Financement ANR France Relance et BIOPASS SAS

IV – Contacts : Lettre de motivation et CV à envoyer à :

Mahchid.bamdad@uca.fr

Clemence.dubois@uca.fr

V - Références

1. Bamdad, M.; Brousseau, P.; Denizau, F. Identification of a multidrug resistance-like system in Tetrahymena pyriformis: Evidence for a new detoxication mechanism in freshwater ciliates. FEBS Lett. 1999, 456, 389–393.
2. Bamdad, M.; Reader, S.; Grolière, C.A.; Bohatier, J.; Denizau, F. Uptake and efflux of polycyclic aromatic hydrocarbons by "Tetrahymena pyriformis": Evidence for a resistance mechanism. Cytometry 1997, 28, 170–175.

3. Valton E, Amblard C, Desmolles F, Combourieu B, Penault-Llorca F, Bamdad M. Mini-P-gp and P-gp Co-Expression in Brown Trout Erythrocytes: A Prospective Blood Biomarker of Aquatic Pollution. *Diagnostics (Basel)*. 2015 Jan 12;5(1):10-26. doi: 10.3390/diagnostics5010010.PMID: 26854141
4. Valton, E.; Amblard, C.; Wawrzyniak, I.; Penault-Llorca, F.; Bamdad, M. P-gp expression in brown trout erythrocytes: Evidence of a detoxification mechanism in fish erythrocytes. *Sci. Rep.* 2013, doi:10.1038/srep03422.
 5. Valton, E.; Wawrzyniak, I.; Amblard, C.; Combourieu, B.; Bayle, M.-L.; Desmolles, F.; Kwiatkowski, F.; Penault-Llorca, F.; Bamdad, M. P-gp Expression Levels in the Erythrocytes of Brown Trout: A New Tool for Aquatic Sentinel Biomarker Development. *Biomarkers* 2017, 22, 566–574, doi:10.1080/1354750X.2017.1338314.
 6. Valton, E.; Amblard, C.; Wawrzyniak, I.; Penault-Llorca, F.; Bamdad, M. P-gp Expression in Brown Trout Erythrocytes: Evidence of a Detoxification Mechanism in Fish Erythrocytes. *Sci Rep* 2013, 3, 3422, doi:10.1038/srep03422.
 7. Bamdad M., Valton E. & Amblard C (09 décembre 2011) Biomarqueurs moléculaires sentinelles. Brevet Sentinelle UCA n° 11 614299. Licence avec exploitation exclusive société « Biomarqueurs SAS » mai 2017.
 8. Vache, C.; Camares, O.; Cardoso-Ferreira, M.C.; Dastugue, B.; Creveaux, I.; Vaury, C.; Bamdad, M. A potential genomic biomarker for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbon pollutants: Multidrug resistance gene 49 in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Toxicol. Chem.* 2007, 26, 1418–1424.
 9. Vache, C.; Camares, O.; De Graeve, F.; Dastugue, B.; Meiniel, A.; Vaury, C.; Pellier, S.; Leoz-Garziandia, E.; Bamdad, M. *Drosophila melanogaster* p-glycoprotein: A membrane detoxification system toward polycyclic aromatic hydrocarbon pollutants. *Environ. Toxicol. Chem.* 2006, 25, 572–580.
 10. Bamdad, M.; Daumar, P.; Gauthier, J.; Goisnard, A.; Dubois, C.; Mounetou, E.; Penault-Llorca, F.; Vidalinc, B. LightSpot Patent - (04 Octobre 2019) Université Clermont Auvergne/INSERM/BIOMARQUEURS - N° FR1911035 -PCT/EP2020/077694 Du 02/10/2020 - Exclusive License for BIOMARQUEURS SAS.
 11. Goisnard A., Daumar P., Dubois C., Aubel C., Roux M., Depresle M., Gauthier J., Vidalinc B., Penault-Llorca F., Mounetou E. & Bamdad M. (2021) LightSpot®-FL-1 Fluorescent Probe: An Innovative Tool for Cancer Drug Resistance Analysis by Direct Detection and Quantification of the P-glycoprotein (P-gp) on Monolayer Culture and Spheroid Triple Negative Breast Cancer Models. *Cancers (Basel)* 2021 Aug 11;13(16):4050. doi: 10.3390/cancers13164050.