

Proposition de Sujet de Thèse pour Contrat Doctoral UCA

Adresse e-mail à utiliser pour toute correspondance :

burger@unice.fr

Titre de la thèse

Développement de sondes fluorogéniques pour de l'imagerie basée sur du DRET

Thesis Title

Development of fluorogenic probes for DRET-based imaging

Directeur de Thèse (HDR ou assimilé)

Nom : Burger

Prénom : Alain

Téléphone : +33 (0)4 89 15 01 65

Courriel : burger@unice.fr

Laboratoire d'accueil

ICN

Co-directeur

Nom : Michel

Prénom : benoît

HDR : Non

Unité de recherche : ICN

Téléphone : +33 (0)4 89 15 01 66

Courriel : benoit.michel@unice.fr

Domaine Scientifique

DS4 - Chimie

Description du sujet

Comprendre la complexité des systèmes biologiques nécessite le développement continu de technologies spécifiques. L'imagerie photonique s'est révélée être un instrument unique pour explorer et mieux comprendre les processus du vivant à l'échelle d'un organisme, des cellules et compartiments cellulaires. Parmi les différentes classes d'émetteurs de fluorescence, les colorants organiques apparaissent comme des fluorophores de choix pour des applications innovantes en biophotonique en raison de leur capacité à répondre à différents stimuli, comme par exemple les changements d'environnement, et la possibilité de moduler leurs propriétés spectroscopiques par modification chimique. Les colorants push-pull absorbant intensément à deux photons (TPA) présentent un intérêt particulier étant donné que ces fluorophores sont très sensibles aux changements environnementaux et offrent la possibilité d'imager le vivant avec un photo-dommage réduit et une pénétration supérieure. L'ensemble de ces propriétés constitue le socle de notre programme de recherche qui a pour objectif la conception et la synthèse de biocapteurs innovants pour la détection spécifique d'acides nucléiques.

Cependant les fluorophores push-pull sont connus pour être presque non émissifs dans l'eau. Nous avons contourné cette limitation et exploité cette propriété pour ressusciter un signal de fluorescence en couplant le fluorophore éteint avec un accepteur brillant et en utilisant un processus de transfert d'énergie de résonance (RET). Ce concept fluorogénique Dark-RET (DRET) est basé sur une résonance se produisant dans une échelle de temps plus rapide que les autres voies de désexcitations non radiatives. Grâce à sa structure bien définie, l'ADN a été sélectionné comme matrice pour mettre en évidence ce mécanisme. Néanmoins, bien que la preuve de concept ait été démontrée, la première paire DRET étudiée démontre un caractère fluorogénique insuffisamment contrasté pour des applications avancées d'imagerie. Ce projet de thèse vise à faire évoluer de nouvelles plateformes fluorescentes pour du DRET tout en respectant un cahier des charges rigoureusement défini pour maximiser la fluorogénicité. Pour atteindre cet objectif, le candidat sélectionné pour la thèse sera chargé à la fois de synthétiser une bibliothèque de divers donneurs DRET, de caractériser leurs propriétés photophysiques et de déterminer leur efficacité pour du DRET après incorporation dans des acides nucléiques. Dans une seconde phase, le contraste On / Off des fluorophores sélectionnés lors de la première phase sera optimisé par modification chimique des fluorophores. La paire DRET la plus performante sera appliquée pour imager des séquences d'ARN (collaboration avec le Dr. Florence BESSE, IBV).

Description of the thesis

Understanding the complexity of biological systems requires the continuous development of specific technologies. Photonic imaging has proven to be a unique instrument for exploring and better understanding living processes at the level of an organism, cells and cellular compartments. Among the different classes of fluorescence emitters, organic dyes appear as fluorophores of choice for innovative applications in biophotonics because of their ability to respond to different stimuli, such as changes in the environment, and the possibility of modulating their spectroscopic properties by chemical modification. The intensely absorbing two-photon push-pull dyes (TPA) are of particular interest since these fluorophores are very sensitive to environmental changes and offer the possibility of

imaging living organisms with reduced photo-damage and greater penetration. All of these properties form the basis of our research program which aims to design and synthesize innovative biosensors for the specific detection of nucleic acids.

However, push-pull fluorophores are known to be almost non-emissive in water. We have circumvented this limitation and exploited this property to resuscitate a fluorescence signal by coupling the extinct fluorophore with a bright acceptor and using a resonance energy transfer (RET) process. This Dark-RET fluorogenic concept (DRET) is based on a resonance occurring in a faster time scale than the other non-radiative de-excitation channels. Thanks to its well-defined structure, DNA was selected as a template to highlight this mechanism. Although the proof of concept has been demonstrated, the first DRET demonstrates an Achilles heel such as its fluorogenic character, not sufficiently contrasted for advanced imaging applications. This PhD project aims to evolve novel fluorescent platforms used as DRET donors respecting at best, the rigorously defined specifications to maximize the fluorogenicity. To achieve this goal, the selected PhD applicant will be in charge of both synthesizing a library of diverse DRET donors and characterizing their photophysics and efficiencies upon incorporation in nucleic acids. In a second phase, chemical modifications of the identified prospective architecture will emphasize the On/Off contrast. Once optimized, this DRET pair will be applied to image challenging RNA sequences with our on-site collaborator (Dr. Florence BESSE, IBV).

Informations complémentaires

The candidate needs to have a strong background in chemistry and organic synthesis including structural analysis (NMR and mass spectrometry). Knowledge in fluorescence and/or UV-Vis spectroscopy would be appreciated. Applicants should send to the following addresses benoit.michel@univ-cotedazur.fr & alain.burger@univ-cotedazur.fr : a curriculum vitae, a motivation letter and two references, which could be contacted.

Workplace presentation: The group "Fluorescent Probes" at the "Institut de Chimie de Nice" (ICN) - UMR 7272 is interested in the design and multistep synthesis of innovative emissive dyes for DNA labeling. Recently renovated, the laboratory of our team "Bioactive Molecules" presents optimal conditions to perform research at the cutting edge of technology (self-service facilities: LCMS, NMR 400-500 MHz, Combi-Flash, HPLC, UV-Vis Spectrophotometer, Spectrofluorometer, Microwave apparatus, H-Cube...).

Selected references:

Front. Chem, 2020, 8, 14757; Dyes Pigm. 2019, 170, 107553; Chem. - Eur. J. 2018, 24, 13850; J. Am. Chem. Soc. 2017, 139, 2520; Chem. - Eur. J. 2016, 22, 10627; J. Org. Chem. 2016, 81, 7566; ACS Chem. Biol. 2017, 12, 3022.