

1. Production et purification de récepteurs en vue d'établir leur structure 3D.

Les récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs) constituent une famille large et variée de protéines caractérisées par la présence de sept domaines transmembranaires. En raison de leur implication dans pratiquement tous les processus physiologiques, les GPCRs sont des cibles privilégiées pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques. La résolution expérimentale de la structure tridimensionnelle de quelques GPCRs constitue une avancée majeure dans la biologie structurale de ces récepteurs. La comparaison des structures disponibles a notamment permis de mettre en évidence que, malgré une topographie commune, chaque récepteur présente des différences structurales importantes dans les domaines extra- et intracellulaires ainsi qu'au niveau de leur site de liaison, confirmant que l'obtention de la structure expérimentale d'un récepteur donné constituera un outil majeur pour le design rationnel de ligands sélectifs.

Le projet visera à produire et purifier un GPCR étudié au laboratoire en vue d'établir sa structure expérimentalement par CryoEM et inclura :

- la production des récepteurs à l'aide un système basé sur l'utilisation de cellules d'insecte (Sf9) infectées par des baculovirus.
- la mise au point d'un protocole de solubilisation des récepteurs à l'aide de copolymère styrène-acide maléique (SMA).
- la purification des récepteurs à l'aide de chromatographies d'affinité
- la réalisation d'études de liaison pour s'assurer que les récepteurs produits sont correctement repliés

Techniques utilisées : production de protéine recombinante, chromatographie, cytométrie en flux, culture cellulaire, étude de liaison, western blot...

Contact : Ingrid Langer, IRIBHM-Campus Erasme, ilanger@ulb.ac.be

2. Développement de nanobodies comme nouveaux outils pour le diagnostic et le traitement des tumeurs gastro-intestinales.

Les cancers gastro-intestinaux forment un groupe hétérogène de tumeurs provenant du tube digestif, ils représentent 25% des nouveaux cas de cancer et 33% des décès liés au cancer chaque année. Les thérapies ciblées, comme les anticorps monoclonaux ou les petites molécules inhibitrices dirigés contre des protéines spécifiquement surexprimées ou mutées dans les cellules cancéreuses, ont apporté un bénéfice clinique dans de nombreux types de cancers gastro-intestinaux. Cependant, ces agents rencontrent des problèmes de résistance et l'identification des biomarqueurs prédictifs de la réponse est donc devenue un enjeu majeur. VPAC1, un récepteur aux neuropeptides, et CXCR4, un récepteur aux chimiokines, sont des cibles très intéressantes à la fois pour l'imagerie des tumeurs gastro-intestinales et pour la thérapie ciblée. En effet, ces récepteurs sont surexprimés dans de nombreux cancers, et certaines études ont montré une corrélation entre leur niveau d'expression et la sévérité des tumeurs gastro-intestinales.

Nous avons développé au laboratoire des d'anticorps monoclonaux monomériques de camélidés (ou nanobodies) qui ciblent spécifiquement les récepteurs VPAC1 et CXCR4 humains. L'objectif principal du projet est d'étudier les applications potentielles de ces nanobodies dans le domaine des tumeurs gastro-intestinales et inclura :

- le développement, la production et la caractérisation de nanobodies modifiés pour améliorer leurs propriétés, spécificité et applications potentielles (nanobodies bivalents, bispécifiques, couplés à des fluorochromes...).
- la caractérisation précise des nanobodies à l'aide de modèles *in vitro* de tumeurs gastro-intestinales (effets sur la prolifération, la migration, l'invasion et le microenvironnement tumoral).

Techniques utilisées : « Engineering » et production de nanobodies, biologie moléculaire, cytométrie en flux, culture cellulaire, western blot...

Contact : Ingrid Langer, IRIBHM-Campus Erasme, ilanger@ulb.ac.be