

Axe : NanoBioSciences (NBS)

Laboratoire d'Imagerie Expérimentale CEA-INSERM U1023

CEA, I2BM, SHFJ – INSERM U1023

4, place du général Leclerc
91401 Orsay

<http://www-dsv.cea.fr/en/instituts/institut-d-imagerie-biomedicale-i2bm/services/service-hospitalier-frederic-joliot-shfj/laboratoires-et-groupes-de-recherche/unite-mixte-umr-1023-imagerie-moleculaire>

Directrice du laboratoire

Anne Flüry-Hérard

Contact C'nano de l'équipe

Frederic Ducongé

Frederic.duconge@cea.fr

Membres permanents de l'équipe :

Anne Flüry-Herard

anne.flury-herard@cea.fr

Frederic Duconge

frederic.duconge@cea.fr

Raphael Boisgard

raphael.boisgard@cea.fr

Alexandra Winkeler

Alexandra.winkeler@cea.fr

Benoit Theze

benoit.theze@cea.fr

Albertine Dubois

albertine.dubois@cea.fr

Geraldine potier

geraldine.potier@cea.fr

Karine Gombert

karine.gombert@cea.fr

Benoit Jego

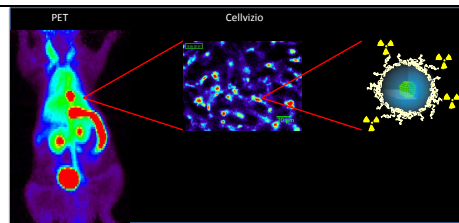
benoit.jego@cea.fr

- **Activité scientifiques de l'équipe :**

Notre laboratoire mixte CEA-INSERM U1023 développe et utilise des méthodes d'imagerie moléculaire permettant de détecter, de caractériser et de suivre des processus biologiques *in vivo*. Notre but est d'utiliser ces techniques pour étudier des mécanismes impliqués lors du développement des tumeurs et lors de processus inflammatoires. Un des axes de recherche du laboratoire concerne **l'utilisation de nanoparticules comme agents de contraste pour l'imagerie et comme agents de délivrance de médicaments**. Un autre axe de recherche en relation avec les nanotechnologies concerne la conception de ligands à base d'acides nucléiques (aptamères) reconnaissant des protéines spécifiquement exprimées à la surface de cellules cancéreuses. Nous travaillons à **l'utilisation de ces aptamères comme d'agents de ciblage pour des nanoparticules**.

- **Recherche(s) et résultat(s) obtenu(s) dans les domaines d'actions des nanosciences :**

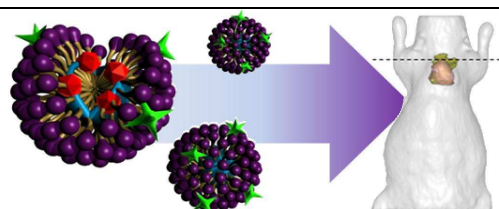
Développement de nanoparticules bimodales pour l'imagerie TEP/fluorescente



Etude de la biodistribution de Quantum Dots par Tomographie à Emission de Positons et endomicroscopie de fluorescence

En collaboration avec le Laboratoire Photons et Matière/CNRS UPRA0005 de l'ESPCI et le groupe de radiochimie du CEA-SHFJ, nous avons synthétisé des quantum dots (QDs) radio-marqués au $[^{18}\text{F}]$ pouvant servir d'agent de contraste bimodaux pour de l'imagerie par tomographie à émission de positons (TEP) et pour de l'imagerie par fluorescence. La biodistribution de ces nano-objets a été étudiée *in vivo* chez la souris conjointement par imagerie micro-PET et endomicroscopie de fluorescence. L'utilisation complémentaire de ces deux techniques d'imagerie a ainsi permis de quantifier non seulement leur biodistribution macroscopique dans divers organes mais également de déterminer leur localisation à l'échelle cellulaire [6].

Utilisation de nanoparticules pour la vectorisation d'agents de contraste et de médicaments

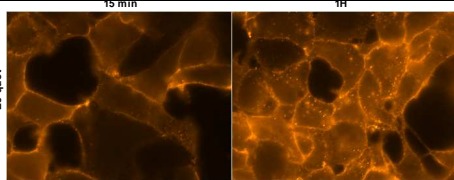


Etude de la biodistribution de nanomicelles photo-polymérisées dans des tumeurs par imagerie fluorescente 3D

En collaboration avec une équipe du CEA/iBiTec-S (CEA-SCBM, LMT), nous avons démontré que des nanomicelles photo-polymérisées (d'une taille~15 nm) pouvaient s'accumuler de manière passive dans des tumeurs [1-2]. Pour cela, une nouvelle technique d'imagerie a été utilisée : la tomographie par fluorescence (fDOT). Cette technique nous permet de quantifier chez le petit animal la concentration locale d'un fluorophore dans des régions d'intérêts. En plus d'une utilisation comme agent de contraste, nous avons utilisé ces nano-objets avec succès pour la délivrance d'un traitement anti-cancéreux [1-2]. Ces résultats précliniques prometteurs ont fait l'objet d'un dépôt de brevet [3] et ouvrent de nouvelles

perspectives vers la conception de nano-objets théranostiques pouvant servir à la fois pour le diagnostic et le traitement des maladies.

Ciblage spécifique de nanoparticules vers des cellules tumorales par aptamères



+

Microscopie de fluorescence mettant en évidence la fonction de ciblage d'un aptamère couplé à des QDs sur des cellules issues d'une lignée de cancer du sein (MCF7). L'aptamère se fixe rapidement sur les cellules (15min) et une partie est internalisée au bout d'une heure.

Notre laboratoire a également développé et breveté une méthode pour sélectionner sur des cellules vivantes des aptamères dirigés contre des marqueurs tumoraux [4-5,7-10]. Les aptamères représentent un nouveau type de ligands avec des propriétés d'affinité comparables aux anticorps et une possibilité de synthèse chimique et de greffage similaire à des petites molécules. De ce fait, ces composés sont de plus en plus utilisés comme agents de ciblage pour des nanoparticules. Parmi les nombreux aptamères que nous avons identifiés, deux (ACE8 et V8) semblent particulièrement prometteurs. La cible des ces aptamères a été identifiée comme étant respectivement l'annexine A2 et la protéine PTPRF/LAR (protein tyrosine phosphatase, receptor type, F/Leucocyte common antigen related). De manière intéressante, ces protéines sont surexprimées à la surface de plusieurs cellules cancéreuses de différentes origines (cancer du sein, de la prostate, néoplasie endocriniennes, cellules leucémiques...). Ces aptamères ont d'ores et déjà été validés par cytométrie en flux et par microscopie comme pouvant servir d'agent de ciblage pour des quantum dots *in vitro* [4-5].

- **Programme de recherche :**

Notre programme de recherche en nanomédecine consiste à associer la technologie de sélection d'aptamères, l'imagerie moléculaire et les nanotechnologies afin de **concevoir des nanoparticules conjuguées à des aptamères capables de cibler des tumeurs *in vivo***. Le but final est de pouvoir utiliser ces nanoparticules comme agents théranostiques ; c'est-à-dire que le même nano-objet pourrait être utilisé à la fois pour la délivrance de médicaments et comme agent de contraste. Ce programme de recherche est développé en collaboration avec un laboratoire du CEA/iBiTec-S (CEA-SCBM, LMT) et plusieurs laboratoires européens au sein d'un projet EuroNanoMed (META).

Pour cela, nous sommes en train de tester différentes stratégies de greffage d'aptamères sur des nanomicelles photo-polymérisées. Le ciblage par aptamères sera ensuite évalué *in vitro* par microscopie et par cytométrie de flux sur des lignées cellulaires. Nous mesurerons notamment l'interaction des nano-objets avec les cellules et leur capacité à être internalisés. Nous évaluerons également par des tests de cytotoxicité l'efficacité de ces nano-transporteurs pour la délivrance

d'agents anticancéreux. Une fois validé *in vitro*, nous testerons par imagerie moléculaire la capacité de ces nano-objets à cibler les tumeurs dans des modèles animaux.

Nous envisageons également de mener un autre projet de recherche concernant la sélection d'aptamères par micro-fluidique.

- **Références :**

1- Gravel, E., Ogier, J., Arnauld, T., Mackiewicz, N., Ducongé, F. and Doris, E. (2012), Drug Delivery and Imaging with Polydiacetylene Micelles. **Chemistry - A European Journal**, 18: 400–408.

2- Mackiewicz N, Gravel E, Garofalakis A, Ogier J, John J, et al. (2011) *Tumor-Targeted Polydiacetylene Micelles for In Vivo Imaging and Drug Delivery*. **Small**. 7(19),2786-92.

3- Doris, E., Ducongé, F., Gravel, E., Mackiewicz, N. and Tavitian, B. (2010) *Polymerized micelles for diagnosis*. **Brevet** n°EP 10290440.6

4- Duconge, F. et Cibiel, A. (2010) Ligand spécifique de l'Annexine 2. Brevet déposé le 12 novembre 2010. n° 10 04412.

5- Duconge, F. et Cibiel, A. (2010) Ligand spécifique de la protéine LAR. Brevet déposé le 16 décembre 2010. n° 10 60619

6- Ducongé F, Pons T, Pestourie C, Herin L, Theze B, Gombert K, Mahler B, Hinnen F, Kuhnast B, Dolle F, Dubertret B, Tavitian B. (2008) *Fluorine-18-labeled phospholipid quantum dot micelles for in vivo multimodal imaging from whole body to cellular scales*. **Bioconjug Chem** 19:1921-1926.

7- Chauveau, F., Pestourie, C., Ducongé, F et Tavitian, B. (2007) *Chapitre 7 : Les aptamères, nano-structures d'acides nucléiques sélectionnées par évolution darwinienne*. Pour le livre **Les Nanosciences : Tome 3 les Nanobiotechnologies**, c. E. BELIN.

8- Pestourie C, Cerchia L, Gombert K, Boulay J, de Franciscis V, Libri D, Tavitian B, and Ducongé F. (2006). *Comparison of different strategies to select aptamers against a transmembrane protein target*. **Oligonucléotides** 16(4):323-35.

9- Cerchia, L., Ducongé, F., Pestourie, C., Boulay, J., Aissouni, Y., Gombert, K., Tavitian, B., Franciscis, V. D., et Libri, D. (2005). *Neutralizing Aptamers from Whole-Cell SELEX Inhibit the RET Receptor Tyrosine Kinase*. **PLoS Biology** 3, e123.

10- Tavitian, B., Ducongé, F., Cerchia, L., Franciscis, V. D., et Libri, D. (2004). *Aptamères sélectionnés à partir de cellules vivantes tumorales et leurs applications*. **Brevet** N° 0402774. Extension internationale PCT/FR2005/000656.