

Spécialité : CHIMIE / Chimie-physique

[Laboratoire : /NIMBE/LIONS](#)

Obtention de nanoparticules hybrides à base de vésicules extracellulaires en microfluidique pour la thérapie des maladies cardiaques

Responsable de stage : GOBEAUX Frederic

frederic.gobeaux@cea.fr

Tel : +33 1 69 08 24 74

Stage pouvant se prolonger en thèse : Oui

Durée du stage : 6 mois

Résumé:

L'objectif de ce projet de Master 2 est de développer une approche microfluidique pour modifier en surface des vésicules extracellulaires, afin de les rendre stables et non immunogènes lors de leur administration in vivo.

Sujet :

Après une ischémie cardiaque, le myocarde endommagé peut entraîner une insuffisance cardiaque. Depuis quelques années, il a été démontré dans des modèles précliniques(1), le rôle protecteur des vésicules extracellulaires (VEs) dans les maladies ischémiques cardiaques. Les VEs, produites de manière naturelle par toutes les cellules, sont des particules de très petite taille (40-160nm) formées d'une membrane plasmique et contenant des acides nucléiques et protéines(2). Mais des limitations à leur application en thérapie cardiaque existent, celles-ci étant liées d'une part aux quantités limitées de VEs dues aux rendements d'isolement insuffisants et, d'autre part, à la lourdeur des méthodes de production et d'isolement conventionnelles de VEs (à l'échelle micrométrique) telle que l'ultracentrifugation. La microfluidique a démontré son intérêt pour synthétiser de nanoparticules (NPs) monodisperses par nanoprécipitation(3), mais aussi pour fabriquer des nanovecteurs de médicaments plus complexes telles que des NPs Janus(4,5). Cette stratégie sera adaptée à notre projet

pour réaliser, par un contrôle fin de l'épaisseur, la densité, l'homogénéité et la reproductibilité du procédé, un revêtement de surface des VEs leur conférant des propriétés intéressantes pour une application thérapeutique.

L'objectif de ce projet de Master 2 est de développer une approche microfluidique pour modifier en surface des EVs, afin de les rendre stables et non immunogènes lors de leur administration in vivo.

Pour ceci l'étudiant(e) aura comme missions de :

- Obtenir les VEs à partir de cellules en culture, les purifier (à l'aide de kits dédiés) et les caractériser (par Dynamic Light Scattering, Nanoparticle Tracking Analysis, CryoTEM, ?).
- Optimiser les paramètres d'utilisation de puces microfluidiques et/ou de mélangeurs millifluidiques afin d'obtenir des VEs enrobées dans une couche soit de polymères, soit de lipides éventuellement modifiés (déjà synthétisés).
- Caractériser de manière approfondie les VEs post-enrobage (taille, expression des protéines du cargo, stabilité etc.) par des méthodes déjà disponibles à l'IGPS.

Contexte du stage : Le stage bénéficie d'un financement de l'objet interdisciplinaire HEALTHI de l'Université Paris Saclay. Les travaux se dérouleront sur deux sites : à l'Institut Galien Paris Saclay (IGPS), UMR CNRS 8612, dans le

bâtiment de recherche Henri Moissan (17 avenue des Sciences, 91 400 Orsay) pour les travaux sur la production d'EVs et leurs caractérisations ainsi que sur le site du CEA- Saclay (LIONS ? NIMBE UMR 3685 CEA/CNRS) pour les travaux en microfluidique. L'étudiant(e) bénéficiera de l'accès à des appareils de pointe situés sur les deux sites, mais aussi à des équipements des plateformes de l'IPSIT (Ingénierie et Plateformes au Service de l'Innovation Thérapeutique).

Des réunions hebdomadaires seront organisées afin d'évaluer l'avancement des travaux. De plus, des présentations orales devant les équipes auront lieu au cours et à la fin du stage.

Contacts : Adresser CV, lettre de motivation à :

Prof. Myriam Taverna : myriam.taverna@universite-paris-saclay.fr et Dr. Frederic Gobeaux :

Frederic.GOBEAUX@cea.fr

Références

(1) Khan K. et al., Extracellular Vesicles as a Cell-free Therapy for Cardiac Repair: a Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Preclinical Trials in Animal Myocardial Infarction Models. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2022, 18(3):1143-1167, doi: 10.1007/s12015-021-10289-6

(2) Gandham S. et al. Technologies and Standardization in Research on Extracellular Vesicles, *Trends in Biotechnology*, 2020, Volume 38, Issue 10, Pages 1066-1098, doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.05.012

(3) Megan Havers, Axel Broman, Andreas Lenshof, Thomas Laurell - Advancement and obstacles in microfluidics-based isolation of extracellular vesicles, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2023) 415, 1265-1285 - <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04362-3>.

(4) Saqib M, et al., Microfluidic Methods in Janus Particle Synthesis, *Int J Nanomedicine*. 2022; 17: 4355-4366. doi: 10.2147/IJN.S371579.

(5) Zhang L. et al. Microfluidic Methods for Fabrication and Engineering of Nanoparticle Drug Delivery Systems, *ACS Appl. Bio Mater.* 2020, 3, 1, 107-120 doi :10.1021/acsabm.9b00853.

Obtaining hybrid nanoparticles based on extracellular vesicles in microfluidics for heart disease therapy

Abstract:

The aim of this Master 2 project is to develop a microfluidic approach to surface modification of extracellular vesicles, to make them stable and non-immunogenic when administered in vivo.

Subject :

After cardiac ischemia, damaged myocardium can lead to heart failure. In recent years, the protective role of extracellular vesicles (EVs) in cardiac ischemia has been demonstrated in preclinical models(1). EVs, produced naturally by all cells, are very small particles (40-160nm) formed from a plasma membrane and containing nucleic acids and proteins(2). But limitations to their application in cardiac therapy exist, these being linked on the one hand to the limited quantities of EVs due to insufficient isolation yields and, on the other hand, to the cumbersome nature of conventional (micrometer-scale) EV production and isolation methods such as ultracentrifugation. Microfluidics has proven its worth for synthesizing monodisperse nanoparticles (NPs) by nanoprecipitation(3), but also for manufacturing more complex drug nanovectors such as Janus NPs(4,5). This strategy will be adapted to our project to achieve, through fine control of thickness, density, homogeneity and reproducibility of the process, a surface coating of EVs giving them properties of interest for therapeutic application.

The aim of this Master 2 project is to develop a microfluidic approach to surface modification of EVs, to make them stable and non-immunogenic when administered in vivo.

To achieve this, the student will have to :

- Obtain EVs from cultured cells, purify them (using dedicated kits) and characterize them (by Dynamic Light Scattering, Nanoparticle Tracking Analysis, CryoTEM, etc.).
- Optimize the parameters for using microfluidic chips and/or millifluidic mixers to obtain EVs embedded in a layer of either polymers or possibly modified lipids (already synthesized).
- In-depth characterization of post-coating EVs (size, cargo protein expression, stability, etc.) using methods already available at IGPS.

Internship context: The internship is funded by the HEALTHI interdisciplinary project at Université Paris Saclay. Work will take place at two sites: at the Institut Galien Paris Saclay (IGPS), UMR CNRS 8612, in the Henri Moissan research building (17 avenue des Sciences, 91 400 Orsay) for work on EVs production and characterization, and at the CEA-Saclay site (LIONS - NIMBE UMR 3685 CEA/CNRS) for work on microfluidics. Students will have access to state-of-the-art equipment at both sites, as well as to equipment on IPSIT (Ingénierie et Plateformes au Service de l'Innovation Thérapeutique) platforms.

Weekly meetings will be held to assess progress. In addition, oral presentations to the teams will take place during and at the end of the internship.

Contacts : Please send CV and covering letter to :

Prof. Myriam Taverna : myriam.taverna@universite-paris-saclay.fr and Dr. Frederic Gobeaux :

Frederic.GOBEAUX@cea.fr

References

- 1) Khan K. et al., Extracellular Vesicles as a Cell-free Therapy for Cardiac Repair: a Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Preclinical Trials in Animal Myocardial Infarction Models. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2022, 18(3):1143-1167, doi: 10.1007/s12015-021-10289-6
- (2) Gandham S. et al. Technologies and Standardization in Research on Extracellular Vesicles, *Trends in Biotechnology*, 2020, Volume 38, Issue 10, Pages 1066-1098, doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.05.012
- (3) Megan Havers, Axel Broman, Andreas Lenshof, Thomas Laurell - Advancement and obstacles in microfluidics?based isolation of extracellular vesicles, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2023) 415, 1265-1285 - <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04362-3>.
- (4) Saqib M, et al., Microfluidic Methods in Janus Particle Synthesis, *Int J Nanomedicine*. 2022; 17: 4355?4366. doi: 10.2147/IJN.S371579.
- (5) Zhang L. et al. Microfluidic Methods for Fabrication and Engineering of Nanoparticle Drug Delivery Systems, *ACS Appl. Bio Mater.* 2020, 3, 1, 107?120 doi :10.1021/acsabm.9b00853.