

Projet de thèse INOVOTION/HCL

Nom de l'entreprise : INOVOTION SAS

• **Ville et code postal :** La Tronche, 38700

• **Nom du laboratoire académique partenaire :** CICLY ER3738 ; Lyon (Hospices Civils de Lyon; Hôpital Lyon-Sud)

• **Thématique de recherche en une phrase :** isolation et amplification des cellules cancéreuses circulantes pour leur utilisation pour de l'aide thérapeutique.

Description du projet

Au cours du développement tumoral, certaines cellules cancéreuses peuvent se détacher des tumeurs solides et infiltrer la circulation sanguine. On parle alors de cellules tumorales circulantes (CTCs).

Identifier, isoler et caractériser les CTCs est aujourd'hui au cœur de nombreuses recherches, car elles représentent une source de matériel tumoral obtenu de manière non invasive. Les CTCs offrent de ce fait des perspectives intéressantes pour plusieurs applications cliniques, par exemple le diagnostic précoce de cancer, le suivi de la maladie résiduelle pour détecter précocement les rechutes ou encore le suivi de la réponse au traitement pour détecter des résistances et adapter le traitement en conséquence. En hématologie, les CTCs sont utilisées depuis longtemps, notamment dans les syndromes myéloprolifératifs, pour suivre la maladie résiduelle et définir les réponses hématologiques et moléculaires.

L'objectif du programme de recherche est de mettre au point un procédé permettant, en routine, de séparer les cellules tumorales circulantes (CTCs) à partir d'une prise de sang (biopsie liquide), de les compter précisément et de les faire croître in vitro en tumoroïdes et in ovo. Les CTCs reflètent, en effet, les caractéristiques de la tumeur initiale et permettent d'accéder rapidement au suivi de l'évolution du cancer et de la réponse aux traitements. Cependant, les CTCs sont extrêmement rares et il en résulte deux principaux challenges. Premièrement, il est difficile de les récupérer parmi les nombreuses cellules sanguines et aucun des systèmes de tri publiés ou commercialisés ne permet d'obtenir d'échantillons suffisamment purs (beaucoup de globules blancs résiduels). Par ailleurs, l'amplification de CTCs issues de patients fait appel à de nouvelles approches, en développement dans notre consortium. Le projet, lauréat d'un financement PCSI-2022, comporte trois grandes parties : (i) la séparation des CTCs, (ii) leur comptage et (iii) leur amplification en tumoroïdes et in ovo. Le tri sera réalisé en deux étapes, une étape de séparation par la taille (hydrodynamique), et une étape de séparation par déplétion immuno-magnétique des globules blancs, dont le consortium a déjà développé un prototype fonctionnel. La discrimination des CTCs et des globules blancs résiduels sera réalisée par comptage optique sans lentille et portable à l'aide d'un dispositif développé par l'Institute des Nanotechnologies de Lyon (INL), la MagPure Chip, développé pour être utilisable en routine par des biologistes médicaux.

Le projet de thèse s'inscrit dans l'optimisation et la validation des conditions de culture 3D des cellules de lignées mimant les CTCs. Une fois les cellules d'intérêt triées, elles seront greffées in ovo sur des embryons de poulet. Ce modèle apporte un environnement enrichi en nutriments, et permet une amplification rapide et physiologique des cellules tumorales. Nous optimiserons les paramètres de greffage (pré-amplification des CTCs, lieu de la greffe) pour améliorer le taux de greffes positives

et le taux d'amplification. Les perspectives s'inscrivent dans le suivi des cancers et la mise au point de traitements personnalisés.

Les structures d'accueil

INOVOTION

Inovotion est une société de biotechnologie (Laboratoire de recherche sous contrat) qui met en œuvre une approche unique d'évaluation in vivo pour la découverte de médicaments anticancéreux. Notre technologie de pointe brevetée, basée sur de nouveaux tests d'œufs de poussins, permet une analyse précoce des composés candidats avant l'étape préclinique classique. En éliminant rapidement les molécules de faible valeur, nous accélérons le processus de découverte du médicament et réduisons considérablement ses coûts. Dans notre modèle, nous pouvons évaluer l'efficacité et la toxicité des traitements anticancéreux potentiels et valider leur cible.

Basée sur une technologie propriétaire initialement inventée en 2009, INOVOTION a été créée en 2015 et compte aujourd'hui plus de 450 études. Nos clients sont des laboratoires publics (universités et centres médicaux), des entreprises biotechnologiques et pharmaceutiques du monde entier.

Nos principales missions sont de :

- Participer à la recherche des meilleurs traitements candidats anticancéreux
- Détecter précocement les effets toxiques in vivo des composés candidats anticancéreux
- Améliorer la productivité des processus précliniques et de découverte en maximisant la phase d'optimisation des composés candidats.
- Accélérer le processus global de découverte de médicaments pour répondre aux besoins médicaux non satisfaits en oncologie.

HCL (Hospices Civils de Lyon; laboratoire CICLY ER3738 , Hôpital Lyon-Sud)

Le poste est intégré aux Hospices Civils de Lyon (Lyon) et chez Inovotion (Grenoble). Les HCLs sont des experts en biologie moléculaire et fera l'objet d'une demande de financement CIFRE. Les Prs Léa Payen et Sébastien Couraud sont les principaux investigateurs du programme CIRCAN/CYCLI (3 techniciens, 1 chercheur, 1 Post-doc, 1 PU-PH-encadrant la thèse à pourvoir) qui est promu et en cours aux Hospices Civils de Lyon et qui vise à améliorer la qualité de vie des patients. L'équipe travaille sur l'évaluation de la chimiosensibilité des CTCs aux médicaments anticancéreux in vivo, dans un modèle in ovo (programme SENCIRTEG collaboration Inovotion depuis 2016) et in vitro, dans un modèle in vitro (programme SENCIRTEG collaboration Inovotion depuis 2016) et in vitro, dans un nouveau modèle de système microfluidique (programme LUTON). Pr S. Couraud, chef adjoint du service de l'unité de pneumologie et d'oncologie thoracique, coordonne plusieurs études observationnelles et L. Payen coordonne plusieurs études observationnelles et interventionnelles sur le cancer du poumon non à petites cellules (NSCLC) visant à mieux sélectionner les patients en fonction de leur statut muté et de leur pronostic vital. L. Payen est en charge du profilage moléculaire de l'ADNct et des CTCs dans le cancer.

Descriptif du poste

L'objectif de la thèse est d'optimiser et valider les conditions d'isolation et de culture 3D, puis de greffe in ovo de cellules tumorales circulantes de patient, pour obtenir des tumeurs in ovo présentant les caractéristiques physiologiques et génétiques de celles observées chez les patients.

Ce travail sera réalisé en collaboration avec :

- l'institut des nanotechnologies de Lyon (INL), qui développe un appareil de tri/isolation des CTCs à parti du sang de patients par des techniques de microfluidique ;
- Les HCL, qui fourniront les échantillons de patients (essai clinique prospectif....), réaliserons l'isolation et la culture 3D des CTCs ;
- INOVOTION qui maîtrise le modèle de greffe, et traitements de cellules tumorales sur le modèle d'œuf embryonné.
- Les analyses seront réalisées à Inovotion et aux HCL.

Principales missions:

- Valider l'utilisation de l'appareil de tri des CTCs développés par l'INL pour son utilisation en routine dans le projet ;
- optimiser les conditions de cultures in vitro (3D), pour mettre les CTCs dans les meilleures conditions physiologiques permettant une prise de greffe in ovo.
- Optimiser les conditions de greffe in ovo;
- Evaluer la réponse aux traitements des tumeurs obtenues in ovo ;
- Analyser, interpréter et synthétiser les résultats;
- Ecrire des rapports d'activité et des articles scientifiques (publications) sur les résultats et l'avancée du projet
- Réaliser des présentations orales et posters sur le projet lors de réunions internes, et conférences scientifiques.

Qualifications:

- Master (Bac+5) en biologie/cancérologie

Connaissances et aptitudes:

- Solides connaissances en biologie moléculaire, biologie cellulaire et biochimie.
 - Expérience en cancérologie (approches, méthodes, biomarqueurs, etc.)
 - Expérience de la culture de cellules de mammifères et des techniques aseptiques.
 - Solides compétences en matière d'analyse et de résolution de problèmes
 - Prendre l'initiative d'identifier des approches innovantes et de nouvelles méthodologies en recherchant dans la littérature et/ou en participant à des discussions.
 - Excellentes aptitudes à la communication écrite et orale
 - Capacité à travailler de manière indépendante et à fonctionner en tant que membre d'une équipe interfonctionnelle.
-
- Expérience de la culture de cellules de mammifères et des techniques aseptiques.
 - Solides compétences en matière d'analyse et de résolution de problèmes
 - Capacité à prendre l'initiative d'identifier des approches innovantes et de nouvelles méthodologies en effectuant des recherches dans la littérature et/ou en participant à des discussions.
 - Excellentes aptitudes à la communication écrite et orale
 - Capacité à travailler de manière indépendante et à fonctionner en tant que membre d'une équipe interfonctionnelle.

Autres compétences : Excellente maîtrise de Microsoft Office, en particulier de PowerPoint, Word et Excel. Excellentes compétences informatiques ; capacité à apprendre rapidement de nouveaux systèmes et à naviguer aisément sur l'internet et les sites intranet internes.

Localisation : principalement à Lyon (hôpital Lyon Sud), avec déplacements réguliers à La Tronche (Grenoble).

Ecole doctorale de rattachement : CANBIOS (Lyon)

Date de recrutement : dès que possible (en prenant compte du délai de validation de la Cifre par l'ANRT)

Contrat : Cifre (3 ans)

Salaire : 2 100 € brut mensuel (grille salariale ANRT)

Adresse e-mail à laquelle le candidat doit envoyer sa candidature : jobs@inovotion.com

INOVOTION

Grenoble - Alpes

Biopolis - 5 Av. du Grand Sablon

38700 La Tronche, France

Références en lien avec le projet (3 thèses d'Université réalisées, un stage post-doctoral en cours sur la partie microfluidique)

- Descamps L, Garcia J, Barthelemy D, Laurenceau E, Payen L, Le Roy D, Deman AL. MagPure chip: an immunomagnetic-based microfluidic device for high purification of circulating tumor cells from liquid biopsies. *Lab Chip*. 2022 Oct 25;22(21):4151-4166. doi: 10.1039/d2lc00443g. PMID: 36148526.
- Descamps L, Audry MC, Howard J, Mekkaoui S, Albin C, Barthelemy D, Payen L, Garcia J, Laurenceau E, Le Roy D, Deman AL. Self-Assembled Permanent Micro-Magnets in a Polymer-Based Microfluidic Device for Magnetic Cell Sorting. *Cells*. 2021 Jul 9;10(7):1734. doi: 10.3390/cells10071734. PMID: 34359904; PMCID: PMC8307954.
- Descamps L, Audry MC, Howard J, Mekkaoui S, Albin C, Barthelemy D, Payen L, Garcia J, Laurenceau E, Le Roy D, Deman AL. Self-Assembled Permanent Micro-Magnets in a Polymer-Based Microfluidic Device for Magnetic Cell Sorting. *Cells*. 2021 Jul 9;10(7):1734. doi: 10.3390/cells10071734. PMID: 34359904; PMCID: PMC8307954.
- Garcia J, Barthelemy D, Geiguer F, Ballandier J, Li KW, Aurel JP, Le Breton F, Rodriguez-Lafrasse C, Manship B, Couraud S, Payen L. Semi-automatic PD-L1 Characterization and Enumeration of Circulating Tumor Cells from Non-small Cell Lung Cancer Patients by Immunofluorescence. *J Vis Exp*. 2019 Aug 14;(150). doi: 10.3791/59873. PMID: 31475991.
- Garcia J, Barthelemy D, Geiguer F, Ballandier J, Li KW, Aurel JP, Le Breton F, Rodriguez-Lafrasse C, Manship B, Couraud S, Payen L. Semi-automatic PD-L1 Characterization and Enumeration of Circulating Tumor Cells from Non-small Cell Lung Cancer Patients by Immunofluorescence. *J Vis Exp*. 2019 Aug 14;(150). doi: 10.3791/59873. PMID: 31475991.

- Rousset X, Maillet D, Grolleau E, Barthelemy D, Calattini S, Brevet M, Balandier J, Raffin M, Geiguer F, Garcia J, Decaussin-Petrucci M, Peron J, Benzerdjeb N, Couraud S, Viallet J, Payen L. Embryonated Chicken Tumor Xenografts Derived from Circulating Tumor Cells as a Relevant Model to Study Metastatic Dissemination: A Proof of Concept. *Cancers (Basel)*. 2022 Aug 23;14(17):4085. doi: 10.3390/cancers14174085. PMID: 36077622; PMCID: PMC9454737.
- Achkar IW, Kader S, Dib SS, Junejo K, Al-Bader SB, Hayat S, Bhagwat AM, Rousset X, Wang Y, Viallet J, Suhre K, Halama A. Metabolic Signatures of Tumor Responses to Doxorubicin Elucidated by Metabolic Profiling in Ovo. *Metabolites*. 2020 Jun 28;10(7):268. doi: 10.3390/metabo10070268. PMID: 32605263; PMCID: PMC7408021.
- Wang Y, Rousset X, Prunier C, Garcia P, Dosda E, Leplus E, Viallet J. PD-1/PD-L1 Checkpoint Inhibitors Are Active in the Chicken Embryo Model and Show Antitumor Efficacy In Ovo. *Cancers (Basel)*. 2022 Jun 23;14(13):3095. doi: 10.3390/cancers14133095. PMID: 35804865; PMCID: PMC9264844.