

Proposition de thèse

Synthèse organique par mécanochimie & étude par RMN ^{17}O de biomatériaux : vers une meilleure compréhension de l'origine de pathologies osseuses

Contexte et objectifs

Que ce soit pour la compréhension de phénomènes physiologiques ou pour élucider la structure de biomolécules complexes, le recours au **marquage isotopique** est une stratégie fréquente et efficace. L'enrichissement d'acides aminés en **isotopes stables** (^{13}C , ^{15}N , ^2H , ^{18}O ...) a ainsi permis de résoudre la structure de nombreuses protéines membranaires. Cependant, la préparation de molécules enrichies en ^{17}O en vue d'analyses RMN haute résolution n'a fait l'objet que de très peu d'études, du fait des coûts très élevés de cet isotope (> 1000 euros pour 1 mL d'eau enrichie à 70% en ^{17}O). Or, **pouvoir marquer à façon en oxygène-17 les biomolécules et différents ions moléculaires rencontrés dans le vivant présente un réel intérêt**. En effet, du fait de la très grande sensibilité des signaux RMN ^{17}O aux types de liaisons chimiques impliquant l'oxygène, ceci permettrait de **mieux comprendre la structure et les fonctionnalités de nombreux tissus biologiques** (os, dents...), mais aussi l'origine de pathologies chroniques telles que l'ostéoporose, qui constituent un problème de santé publique mondial.

Récemment, à Montpellier, nous avons mis au point de nouvelles stratégies d'enrichissement isotopique en oxygène-17, particulièrement efficaces et peu coûteuses, en ayant recours à la mécanochimie.¹ Sur la base de l'expérience acquise lors de ces travaux préliminaires, les objectifs de cette thèse seront les suivants (Figure 1) :

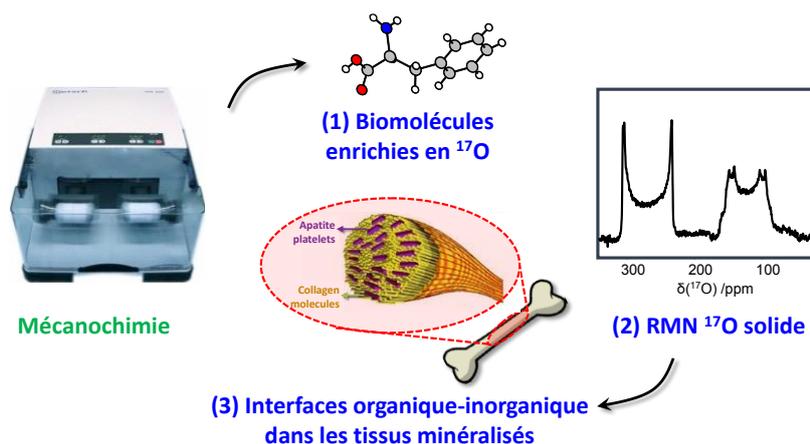


Figure 1. Principaux axes de recherche à développer dans cette thèse.²

(1) Enrichir en oxygène-17 les principaux précurseurs qui constituent les composantes organique (acides aminés et autres petites molécules à fonctions carboxyliques issues du métabolisme, fragments peptidiques de collagène...) **et minérale** (ions phosphate...) **de l'os**. Dans ce but, la technique de **mécanochimie par broyage à billes** (BM – ball milling), qui est une voie de synthèse apparentée à la « chimie verte », sera utilisée. Les précurseurs enrichis seront ensuite utilisés pour préparer des biomatériaux modèles mimant la structure de tissus osseux, qui seront caractérisés par RMN solide haute résolution.

(2) Développer de nouvelles expériences RMN ^{17}O solide haute résolution, permettant d'étudier avec précision la nature des liaisons présentes aux interfaces collagène/apatite, qui sont directement impliquées dans la cohésion des tissus osseux. Ici, les analyses tireront parti des tous derniers développements instrumentaux en résonance magnétique (ultra-hauts champs magnétiques, DNP...).

(3) Procéder à l'enrichissement isotopique de tissus osseux « naturels », selon deux approches expérimentales différentes : (i) une approche *in vitro* visant à produire des fibrilles de collagène minéralisées à partir d'ostéoblastes (les milieux de culture cellulaire étant supplémentés ici de molécules marquées en ^{17}O), et (ii) une approche *in vivo*, en utilisant des souris comme modèle animal. Les tissus minéralisés produits selon ces deux approches seront caractérisés par RMN solide ^{17}O haute résolution, et les informations sur les interfaces organique-

inorganique pourront être déduites de comparaisons avec les spectres obtenus sur les biomatériaux modèles synthétiques. Ce travail constituera ainsi une réelle première dans l'étude structurale de tissus minéralisés, en allant **sonder directement l'environnement local de l'un des principaux éléments qui les compose : l'oxygène.**

Déroulement de la thèse et environnement de travail

La thèse se déroulera à l'**Institut Charles Gerhardt de Montpellier** (ICGM, www.icgm.fr), au sein du groupe de recherche « MISOTOP » (www.misotoplab.org), sous la direction des Dr Danielle Laurencin et Thomas-Xavier Métro. Le laboratoire, actuellement situé sur le campus Triolet de l'université de Montpellier, est amené à déménager au cours du second semestre 2021 dans un nouveau bâtiment localisé sur le campus du CNRS (route de Mende, Montpellier).

Pour réaliser le travail de thèse, le (la) candidat.e aura **accès en local à un très grand nombre d'appareils et d'infrastructures pour la synthèse de (bio)molécules et de (bio)matériaux** (appareils de mécanochimie, plateforme de synthèse peptidique, etc), ainsi que pour leur **caractérisation avancée** (par RMN multinucléaire liquide et solide, spectrométrie de masse, DRX, spectroscopies IR et Raman, microscopie électronique...). Pour les analyses RMN solide (en particulier RMN ^{17}O), des campagnes de mesure complémentaires sur les appareils RMN à très haut champ magnétique et les spectromètres DNP du réseau national IR-RMN (<http://www.ir-rmn.fr/>) et du MagLab (Tallahassee, Floride) seront également envisagées pour gagner en sensibilité et en résolution. Enfin, les études d'enrichissement de tissus biologiques se feront en collaboration avec le Prof Melinda Duer (University of Cambridge, UK), et le Dr Sara Dalicieux (INSERM Toulouse, France).

Le **projet démarrera au 1^{er} octobre 2021**, pour une durée de 3 ans. Avec cette thèse, le (la) candidat(e) sera amené(e) à développer des compétences multidisciplinaires, dans des domaines tels que la synthèse organique par mécanochimie, l'utilisation de méthodes de caractérisation avancées de molécules enrichies (en particulier par RMN du solide), et la préparation de tissus biologiques enrichis. De plus, sur la durée du projet, il (elle) aura la possibilité d'interagir non seulement avec l'équipe de recherche directement associée au projet, mais aussi avec d'autres chercheurs au niveau local, national et international (notamment au travers de courts séjours dans les laboratoires partenaires), ce qui lui permettra de se constituer un réel réseau scientifique sur la scène nationale et internationale. Enfin, il (elle) aura aussi la possibilité de présenter ses résultats à des conférences et colloques nationaux et internationaux.

Informations complémentaires & modalités de candidature

Cette offre de thèse est ouverte à des candidat(e)s ayant suivi une **formation en chimie organique**, et possédant des **connaissances solides en spectroscopie RMN** et spectrométrie de masse. Le (la) candidat(e) devra avoir un réel intérêt pour (i) la synthèse organique de petites molécules et de biomolécules, (ii) les différentes techniques analytiques utilisées dans la caractérisation de molécules enrichies, et (iii) l'étude de la structure de tissus osseux et de phénomènes de biominéralisation. Le (la) candidat(e) devra démontrer non seulement sa forte motivation pour le projet, mais aussi sa capacité à travailler sur un **sujet pluridisciplinaire**. Il (elle) devra aussi montrer qu'il (elle) est en mesure d'intégrer une équipe de recherche associant des étudiants et chercheurs de différentes disciplines, et avoir une très bonne capacité de communication (orale et écrite), en particulier en anglais.

Le projet est financé par le Conseil européen de la recherche dans le cadre du programme **ERC Consolidator** (projet MISOTOP – www.misotoplab.org), qui promeut le développement de recherches de très haute qualité et très fort impact. **Les candidatures (CV & lettre de motivation) doivent être déposées via le portail du CNRS à l'adresse suivante** : <https://bit.ly/3qjc6V8>. Il est demandé aux candidats d'indiquer dans leur dossier de candidature le nom de deux référents pouvant être contactés.

Références

¹ a) J. Špačková, C. Fabra, S. Mittlelette, E. Gaillard, C.-H. Chen, G. Cazals, A. Lebrun, S. Sene, D. Berthomieu, K. Chen, Z. Gan, C. Gervais, T.-X. Métro, D. Laurencin, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 50, 21068–21081 (doi: 10.1021/jacs.0c09383) ; b) C.-H. Chen, E. Gaillard, F. Mentink-Vigier, K. Chen, Z. Gan, P. Gaveau, B. Rebière, R. Berthelot, P. Florian, C. Bonhomme, Mark E. Smith, T.-X. Métro, B. Alonso, D. Laurencin, *Inorg. Chem.* **2020**, *18*, 13080 (doi: 10.1021/acs.inorgchem.0c00208) ; c) T.-X. Métro, C. Gervais, A. Martinez, C. Bonhomme, D. Laurencin, *Angew. Chem.* **2017**, *56*, 6803 (doi: 10.1002/anie.201702251).

² Dans cette figure, la représentation de la fibrille de collagène minéralisée a été adaptée de l'article de Tai *et al* (doi : 10.1002/adma.201003882).