

Nice, 6 Mars 2016

Objet: Proposition d'un sujet de thèse pour la campagne 2016

Titre: Synthèse et études de nouveaux senseurs fluorescents pour le marquage des acides nucléiques et les sciences du vivant.

Présentation du groupe de recherche: Le groupe "Sondes Fluorescentes" à "l'Institut de Chimie de Nice (ICN) - UMR 7272" s'intéresse à la conception et à la synthèse de sondes fluorescentes innovantes pour le marquage de l'ADN. Ce groupe fait partie de l'équipe "Molécules Bioactives" qui offre les conditions et l'environnement adéquats à la réalisation du projet de recherche qui se situe à l'interface de la chimie organique et de la biophysique. Facilités en libre-service: LCMS, RMN 200-500 MHz, Combi-Flash, HPLC, Spectrophotomètre UV-Vis, Spectrofluorimètre, Appareil Micro-Ondes, hydrogénation à flux continu, synthèse en phase solide, etc.

Cette offre de thèse s'inscrit dans le cadre du développement de biosenseurs innovants à émission duale pour l'étude de mécanismes complexes mettant en jeu des interactions ADN/protéines cibles telles que celles impliquées dans la réparation et la méthylation de l'ADN. L'une des techniques les plus sensibles et les mieux adaptées pour mener à bien ces études est la spectroscopie de fluorescence. Pour réaliser ces investigations, il faut néanmoins disposer de nucléobases fluorescentes extrêmement sensibles aux changements environnementaux qui ne perturbent qu'à minima la structure et la fonction de ces acides nucléiques. Toutefois, la disponibilité de ce type de fluorophores est une sérieuse limitation pour le marquage de tels assemblages. Dans ce contexte, notre équipe a développé différentes approches dont une basée sur des sondes fluorescentes à émission duale, les 3-HydroxyChromones (3HCs). Grâce à un transfert de proton à l'état excité (mécanisme ESIPT), ces dernières présentent la particularité d'avoir deux formes tautomères qui émettent distinctement l'une de l'autre à des longueurs d'ondes bien définies (vert et jaune). Ainsi, l'extrême sensibilité aux perturbations environnementales de ce rapport d'intensité se traduit par un changement de couleur facilement mesurable qui nous a permis de contourner certains des obstacles sur lesquels se heurtaient les biosenseurs actuellement disponibles (projet soutenu par l'ANR). Après une preuve de concept de l'efficacité de ce type de marquage *interne* pour un duplexe d'ADN (D. Dziuba et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 10209), nous avons pu appliquer cette stratégie de marquage à l'étude du mécanisme de réparation impliquant l'excision d'une base nucléique (A. A. Kuznetsova et al. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e100007).

Récemment (au cours d'un projet soutenu par la FRM et une autre ANR), nous avons développé une voie d'accès efficace de marquage *du grand sillon* de l'ADN en couplant le motif 3HC aux *bases pyrimidiques* de l'ADN, (D. Dziuba et al. *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 1998 ; N. P. F. Barthes et al. *RSC Advances* **2015**, *5*, 33536). Les ODNs marqués avec ces nouveaux fluorophores démontrent une très grande sensibilité aux changements environnementaux qui permet de détecter et quantifier les mésappariements ainsi que des changements de conformation de duplexes d'ADN (N. P. F. Barthes et al. *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4*, 3010). Le projet de recherche que nous souhaitons donc développer, vise à exploiter les propriétés singulières des 3-hydroxychromones (**3HCs**) en préparant cette fois-ci *en série purine* les équivalents fluorescents

des bases A & G. Les ODNs correspondants ainsi marqués seront dédiés à l'étude des mécanismes complexes de réparation d'ADN mettant en jeu des bases endommagées de type purine. Ainsi, le bon déroulement de ces travaux de thèse devrait nous conduire à l'obtention des 4 bases nucléiques de l'ADN à émission duale. Cette boîte à outils complète devrait nous donner un accès privilégié à de nombreuses applications mettant en jeu des interactions ADN / protéines cibles.

Le candidat recherché devra être un chimiste organicien motivé avec de solides bases en synthèse et de bonnes connaissances en analyse structurale (RMN, MS). Des compétences à l'interface de la chimie et de la biologie seront appréciées. Une expérience préalable en chimie des nucléosides serait un plus. Ce projet pluridisciplinaire (chimie/biophysique/biologie) s'inscrit dans le cadre d'une collaboration entre notre laboratoire (UMR 7272 CNRS) et l'équipe du Dr. N. Kuznetsov, (Novosibirsk State University, Russie).



Prof. Alain BURGER

- 1) J. Shaya, F. Fontaine-Vive, B. Y. Michel, A. Burger "Rational design of push-pull fluorene dyes: synthesis and structure-photophysics relationship" *Chem. Eur. J.* **2016**, accepted.
- 2) P. F. Barthes, K. Gavvala, D. Dziuba, D. Bonhomme, I. A. Karpenko, A. S. Dabert-Gay, D. Debayle, A. P. Demchenko, R. Benhida, B. Y. Michel, Y. Mély, A. Burger "Dual emissive analogue of deoxyuridine as a sensitive hydration-reporting probe for discriminating mismatched from matched DNA and DNA/DNA from DNA/RNA duplexes" *J. Mater. Chem. C* **2016**, 4, 3010–3017.
- 3) N. P. F. Barthes, I. A. Karpenko, D. Dziuba, M. Spadafora, J. Auffret, A. P. Demchenko, Y. Mély, R. Benhida, B. Y. Michel, A. Burger "Development of environmentally sensitive fluorescent and dual emissive deoxyuridine analogues" *RSC Advances* **2015**, 5, 33536–33545.
- 4) A. A. Kuznetsova, N. A. Kuznetsov, Y. N. Vorobjev, N. P. F. Barthes, B. Y. Michel, A. Burger, O. S. Fedorova "New Environment-Sensitive Multichannel DNA Fluorescent Label for Investigation of the Protein-DNA Interactions", *PLoS ONE* **2014** 9 (6): e100007.
- 5) D. Dziuba, I. A. Karpenko, N. P. F. Barthes, B. Y. Michel, A. S. Klymchenko, R. Benhida, A. P. Demchenko, Y. Mély, A. Burger "Rational design of a solvatochromic fluorescent uracil analogue with dual-band ratiometric response based on 3-hydroxychromone" *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 1998–2010.
- 6) D. Dziuba, V. Y. Postupalenko, M. Spadafora, A. S. Klymchenko, V. Guérineau, Y. Mély, R. Benhida, A. Burger "A Universal Nucleoside with Strong Two-Band Switchable Fluorescence and Sensitivity to the Environment for Investigating DNA Interaction" *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 10209–10213.
- 7) C. A. Kenfack, A. S. Klymchenko, G. Duportail, A. Burger, Y. Mély "Ab initio study of the solvent H-bonding effect on ESPT reaction and electronic transitions of 3-hydroxychromone derivatives" *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 8910–8918
- 8) N. Martinet, B. Y. Michel, P. Bertrand, R. Benhida "Small molecules DNA methyltransferases inhibitors" *Med. Chem. Commun.* **2012**, 3, 263–273.