

# Des molécules fluorescentes au service de la chirurgie

Pascal Dumy, Christiane Wenk, Michael Claron, Jean-Luc Coll, Odile Allard et Didier Boturyn

<b>Résumé</b>	L'assemblage chimique de fonctions de reconnaissance cellulaire et de détection sur châssis moléculaire permet d'obtenir des systèmes de guidage tumoral sélectifs et modulables qui ouvrent des applications inédites dans le domaine de la détection et de la thérapie. En particulier, la validation chez l'animal de systèmes fluorescents de guidage vers les tumeurs avec le développement de caméras de détection proche infrarouge a pu être valorisée pour le développement de technologies telles que l'aide au geste chirurgical par imagerie de fluorescence en temps réel.
<b>Mots-clés</b>	<b>Peptides RGD, ligations chimiosélectives, sondes fluorescentes, chirurgie guidée par imagerie proche IR, innovation.</b>
<b>Abstract</b>	<b>Fluorescent molecules for surgery</b> The chemical assembly of functions such cellular recognition and detection on molecular frame allows to obtain selective and flexible tumour guidance systems which open new applications in the field of the detection and therapy. In particular, the validation in animal of fluorescent guidance systems for tumour with the development of near infrared cameras is able to be valued for the development of technologies such as the assistance to the surgical gesture by real-time fluorescence imaging.
<b>Keywords</b>	<b>RGD peptides, chemoselective ligations, fluorescent probes, NIR image-guided surgery, innovation.</b>

À la mémoire de Gérard Déleris.

L'avenir des traitements contre le cancer ainsi que des stratégies de prévention et de dépistage va être fortement influencée par l'utilisation de biomarqueurs tumoraux qui permettent de concevoir de nouvelles molécules pour des thérapies ciblées (« targeted therapy »). Ces produits, véritables missiles à tête chercheuse, visent précisément les caractéristiques spécifiques de la cellule cancéreuse ou de son environnement, sans léser les tissus sains, et avec des effets secondaires moins sévères et différents de ceux de la chimiothérapie. Avec les avancées de la génomique, de la protéomique et de la pharmacogénomique, il est possible d'identifier des biomarqueurs propres à chaque patient qui permettraient d'établir diagnostic et traitement associé ainsi qu'un suivi du traitement adaptés à la bonne personne plutôt qu'à un groupe d'individus. Des exemples de thérapie ciblée, basés notamment sur les biotechnologies et l'utilisation d'anticorps spécifiques dirigés contre un ligand ou un récepteur impliqué dans le cancer, ouvrent la voie vers une médecine personnalisable et appropriée à l'individu. Dans cet article, nous décrivons une des contributions de notre groupe de recherche dans le domaine de la chimie des biomolécules avec une approche de recherche « translationnelle » pour le ciblage tumoral et sa valorisation pour l'aide au geste chirurgical, notamment pour la résection<sup>(1)</sup> tumorale. La chirurgie du cancer reste aujourd'hui l'un des traitements les plus efficaces contre la maladie : cinq millions de personnes souffrant d'un cancer sont opérées chaque année dans le monde, dont près de 370 000 en France, soit une toutes les 90 secondes.

Parmi les cibles potentielles se trouvant dans l'environnement tumoral, un récepteur transmembranaire, l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  [1], a particulièrement attiré l'attention de

certaines groupes de recherche. Cette protéine est surexprimée à la surface des cellules endothéliales constituant les néovaisseaux tumoraux lors de l'angiogenèse tumorale et sur certaines lignées cancéreuses métastatiques. Plusieurs équipes ont démontré que des peptides contenant la séquence « RGD » (-Arg-Gly-Asp-) permettent de cibler cette intégrine avec une très bonne efficacité et spécificité [2]. Un cyclopentapeptide, le cilengitide (Merck KGaA, Darmstadt) découvert dans le laboratoire du professeur Horst Kessler [3], est utilisé comme inhibiteur de l'angiogenèse dans plusieurs phases cliniques. Actuellement, de nombreux travaux sont menés pour développer de nouveaux composés ciblant la néoangiogenèse tumorale pour des applications thérapeutiques et diagnostiques ou leur combinaison théragnostique<sup>(2)</sup>.

## Le ciblage tumoral via un cluster de ligands « RGD »

De nombreux systèmes biologiques contrôlent les interactions ligand-récepteur par des effets de multivalence. C'est devenu un nouveau centre d'intérêt dans la recherche et la conception de nouveaux composés plus affins pour leur cible. L'utilisation d'interactions multivalentes peut aussi engendrer des propriétés biologiques fondamentalement différentes de celles trouvées lors des interactions moléculaires monovalentes [4]. Dans ce contexte, nous avons été parmi les pionniers à concevoir des ligands multivalents ciblant l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  grâce à l'utilisation d'un châssis moléculaire de présentation multivalente nommé RAFT et au développement de méthodes chimiques

permettant leur fonctionnalisation par des biomolécules polyfonctionnelles.

### Un châssis moléculaire nommé RAFT

Les molécules RAFT (« regioselectively addressable functionalized template »), développées au début des années 1990 dans le domaine du « protein de novo design » [5] sont des décapeptides cycliques comportant deux coudes  $\beta$  de type II dus à l'enchaînement proline-glycine qui leur confère une mobilité conformationnelle réduite, conduisant à une orientation des chaînes latérales des six autres acides aminés du cycle de part et d'autre du plan moyen du cycle (figure 1). L'originalité de ce système est qu'il permet de définir deux faces fonctionnalisables grâce aux chaînes latérales qui peuvent être ainsi adressables chimiquement de manière indépendante. Nous utilisons ces RAFT pour combiner une fonction de reconnaissance (ligands) et des fonctions conférant à la molécule des propriétés de détection ou de destruction (molécules fluorescentes, cytotoxiques...). Le ciblage tumoral *via* l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  a été mis en évidence en utilisant un édifice RAFT portant un cluster de quatre ligands cyclopentapeptidiques, RAFTc(-RGDfK)<sub>4</sub> (dénoté « RGD »), et un fluorophore permettant l'étude de ses propriétés [6] (figure 2).

Les RAFT ont aussi été utilisés pour d'autres applications comme la conception de mimes de surface (4-helix-bundle) [7-8], de canaux ioniques [9], la stabilisation de G-quadruplexe<sup>(3)</sup> [10] ou la formation de mimes de fibres amyloïdes [11].

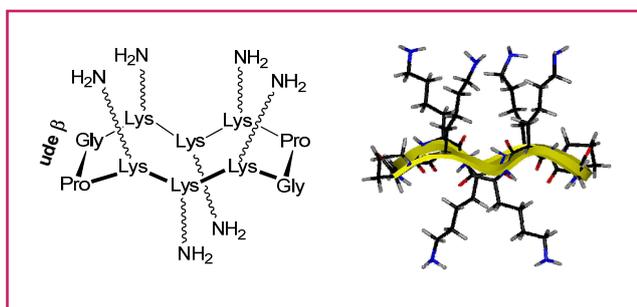


Figure 1 - Structure d'un cyclodécapeptide RAFT contenant six lysines [5].

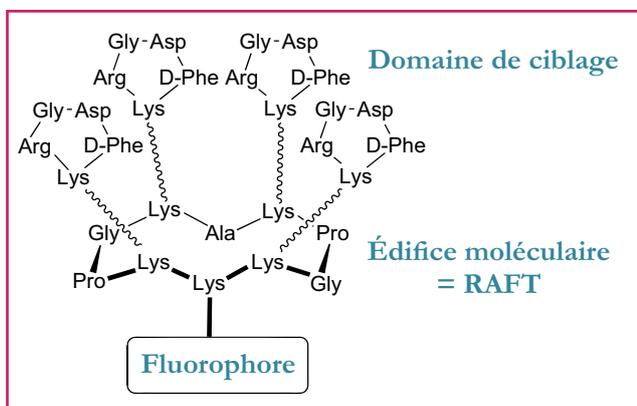


Figure 2 - Structure d'un composé fluorescent ciblant l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  [6].

### Construction chimique de type « LEGO® moléculaires »

Pour réaliser des structures complexes, de haut poids moléculaire et qui combinent différentes biomolécules, le chimiste a besoin de réactions performantes et compatibles avec les différentes classes de biomolécules (peptides, sucres, acides nucléiques). Parmi les nombreuses réactions couramment utilisées par les chimistes pour modifier une biomolécule, un intérêt particulier a été accordé aux réactions chimiosélectives [12]. Depuis une quinzaine d'années, nous avons été parmi les premiers à utiliser le lien éther d'oxime qui est obtenu par l'addition d'une fonction oxyamine sur un dérivé carbonyle du type cétone ou aldéhyde. L'utilisation de ce lien chimique permet ainsi l'ingénierie contrôlée de biomolécules à la manière d'un LEGO® en codant l'assemblage par réaction chimiosélective entre oxyamine et carbonyle en milieu aqueux, sans besoin de réactif de couplage et de groupes protecteurs.

Nous avons montré que la formation successive de liens éther d'oxime permet de synthétiser des macromolécules peptidiques composées d'un cluster de cyclopeptide « RGD » conjugué à des acides nucléiques [13] ou à des résidus carbohydrates [14], combinant ainsi leurs propriétés intrinsèques de reconnaissance, de toxicité intracellulaire ou de solubilisation. Pour accéder à ce type de composés, la stratégie de synthèse consiste à (i) former un premier lien éther d'oxime pour greffer sur le cyclodécapeptide une première molécule d'intérêt (ligand « RGD »), (ii) oxyder une sérine (aldéhyde masqué), puis (iii) coupler une deuxième molécule d'intérêt (acides nucléiques, sucres) (figure 3a).

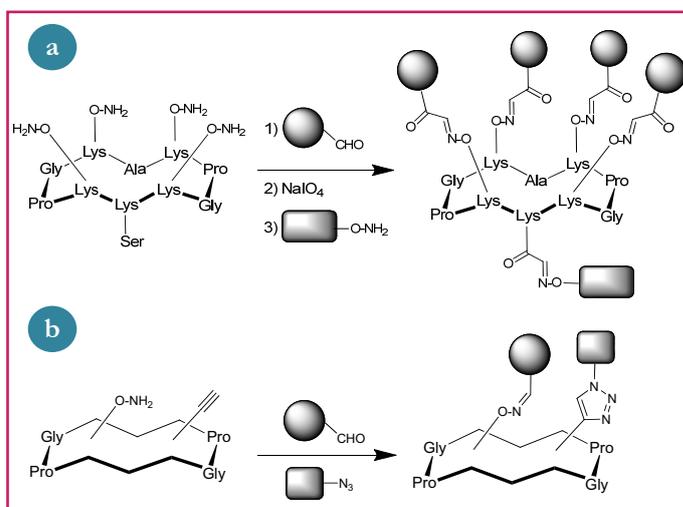


Figure 3 - Stratégie de synthèse (a) itérative oxime-oxime [13] ; (b) « one-pot » oxime-cycloaddition [15].

Bien qu'efficace et conduisant à des structures hautement complexes, cette stratégie nécessite plusieurs étapes successives qui limitent les rendements. Ceci nous a conduits à développer un procédé de synthèse convergent « one-pot » : nous avons choisi d'associer à la réaction de formation d'éther d'oxime, la cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée par le cuivre(I) entre un azoture et un alcyne (CuAAC) (figure 3b) [15].

Au cours de cette étude, nous avons validé la compatibilité des deux réactions chimiosélectives. En d'autres termes, il est ainsi possible de coder le site de réaction sur chacun des partenaires pour que, lorsqu'ils

sont mélangés, ils puissent réagir chimiosélectivement et régiosélectivement et être assemblés sur le RAFT. À ce jour, ces différentes méthodes de synthèse permettent d'obtenir des composés combinant un cluster de ligand « RGD » et diverses fonctions utilisées pour améliorer sa biodistribution, pour des applications diagnostiques et/ou thérapeutiques.

### Évaluation des composés comportant un cluster de ligand « RGD »

Les propriétés résultant du cluster de quatre ligands « RGD » porté par le RAFT ont été étudiées au travers d'expériences réalisées *in vitro* à partir de lignées cellulaires surexprimant la protéine transmembranaire  $\alpha_V\beta_3$ . Nous avons estimé l'efficacité des composés « RGD » dans un essai de compétition contre la vitronectine, ligand naturel de l'intégrine  $\alpha_V\beta_3$ , en utilisant des cellules HEK293 (« human embryonic kidney »). La capacité de chaque composé à inhiber l'adhésion des cellules à une plaque recouverte de vitronectine a été exprimée comme sa valeur d'IC50<sup>(4)</sup>. Les résultats sont illustrés dans la figure 4. Le composé « contrôle négatif » RAFTc(-RADfK)<sub>4</sub> n'inhibe pas l'adhésion cellulaire, tandis que le composé RAFTc(-RGDfK)<sub>4</sub> empêche fortement l'attachement cellulaire avec un IC50 de 3  $\mu$ M contre 30  $\mu$ M pour le composé monovalent c(-RGDfK) [16-17]. Ces résultats ont été corroborés par des expériences de compétition contre un anticorps monoclonal (mAb) spécifique de  $\alpha_V\beta_3$  [18]. Finalement, des expériences de spectroscopie de corrélation de fluorescence (FCS) ont permis de mesurer des constantes cinétiques pour l'intégrine : le composé tétramérique RAFTc(-RGDfK)<sub>4</sub> est douze fois plus affiné ( $K_D = 3,8$  nM) que le composé monovalent [19].

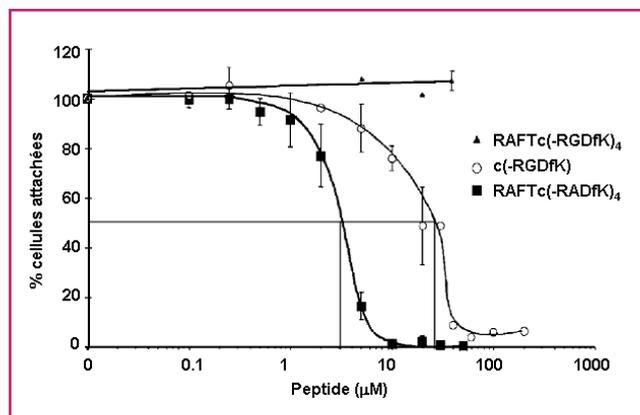


Figure 4 - Inhibition de l'adhésion de cellules HEK à la vitronectine par des ligands « RGD ».

### Études du « trafficking » cellulaire<sup>(5)</sup> à partir de composés fluorescents

Avant d'utiliser les composés « RGD » pour des applications anticancéreuses, nous avons étudié leur comportement vis-à-vis de cellules cibles par microscopie de fluorescence qui permet la visualisation d'éléments ou molécules à l'aide de fluorochromes. L'acquisition d'images est réalisée sur des échantillons très fins (monocouches cellulaires) afin d'observer la transmission de la lumière visible et d'obtenir un bon contraste. Les résultats montrent que le composé contenant un cluster de « RGD » muni d'une

fluorescéine (figure 2) est internalisé à 37 °C avec une meilleure efficacité que le peptide contrôle monovalent c(-RGDfK)-Fluo (figure 5) [6]. Récemment, il a été mis en évidence que les composés RAFTc(-RGDfK) sont internalisés avec l'intégrine  $\alpha_V\beta_3$  par une endocytose<sup>(6)</sup> médiée par la clathrine<sup>(7)</sup> [19].

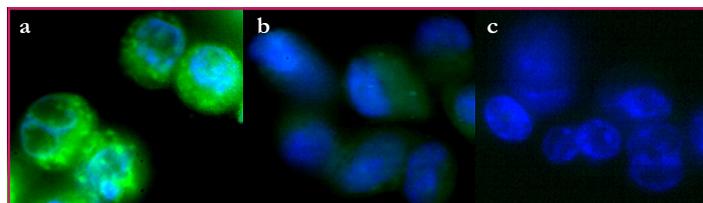


Figure 5 - Imagerie de fluorescence de cellules CHO-3a à 15 min traitées par 10  $\mu$ M (a) RAFTc(-RGDfK)<sub>4</sub>-Fluo à 37 °C, (b) RAFTc(-RGDfK)<sub>4</sub>-Fluo à 4 °C, et (c) c(-RGDfK)-Fluo à 37 °C.

Ces résultats montrent que le RAFTc(-RGDfK)<sub>4</sub> est non seulement sélectif de la cible, mais permet de plus de pénétrer dans la cellule par endocytose à la manière des protéines, ce qui ouvre des perspectives pour ces composés pour la vectorisation ciblée de drogues et/ou de fluorophores pour des applications anticancéreuses. La multivalence permet ici non seulement d'augmenter l'affinité pour la cible, mais également d'internaliser la molécule de manière active.

### Le ciblage et l'imagerie *in vivo* : applications anticancéreuses

#### Imagerie non invasive chez le petit animal

Les expériences réalisées chez le petit animal ont permis de valider la sélectivité de nos composés *in vivo*. En exploitant la capacité de la lumière proche infrarouge à pénétrer les tissus, l'imagerie et la spectroscopie optiques peuvent être utilisées pour détecter des tissus cancéreux de façon non invasive. Dans ce contexte, une série de molécules fluorescentes a été préparée en incorporant sur le RAFT un chromophore proche IR du type cyanine 5 ( $\lambda_{abs} = 649$  nm ;  $\lambda_{em} = 670$  nm). L'injection des différents composés par voie intraveineuse a été effectuée sur des souris nude<sup>(8)</sup> porteuses de modèles de tumeurs sous-cutanées surexprimant ou pas l'intégrine  $\alpha_V\beta_3$ , respectivement HEK293( $\beta_3$ ) et HEK293( $\beta_1$ ) [20]. Comme on peut le voir sur la figure 6, quatre heures après l'injection, un signal beaucoup plus intense est observé pour la souris recevant le composé « RAFTc(-RGDfK)<sub>4</sub>-Cy5 » par rapport à la souris recevant le ligand monovalent c(-RGDfK)-Cy5. La tumeur HEK293( $\beta_1$ ), ne captant pas le ligand fluorescent « RGD », démontre la sélectivité de notre système pour l'intégrine  $\alpha_V\beta_3$ . Nous avons cependant noté une faible rétention du composé « RAFTc(-RGDfK)<sub>4</sub>-Cy5 » au niveau des reins. Les études de ces différents systèmes de fluorescence proche infrarouge ciblant ont également permis le développement de nouveaux systèmes de caméras



Figure 6 - Imagerie non invasive à 4 h de souris nude traitées par 10 nmol de composés. Les animaux portent des tumeurs sous-cutanées HEK293( $\beta_3$ ) (a-b) ou HEK293( $\beta_1$ ) (c).

portables pour le petit animal et de méthodes de tomographie de fluorescence pour le suivi en fluorescence et reconstruction 3D de métastases sur des modèles animal.

L'utilisation d'une fonction de détection (sonde fluorescente) permet ainsi d'étudier la biodistribution, de détecter *in vivo* l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$ , et donc de localiser la tumeur. Nous avons préparé une nouvelle génération de composés comportant une fonction activable dès que la cible est atteinte. Le but ici est d'obtenir un signal de fluorescence uniquement après ciblage de  $\alpha_v\beta_3$ . Pour cela, un quencheur de fluorescence<sup>(9)</sup> (QSY :  $\lambda_{abs} = 660$  nm) est rattaché à notre vecteur portant le fluorophore cyanine 5 par un pont disulfure (figure 7). Ce composé, appelé « Smart Probe », est fluorescent (activation) dès lors que le pont disulfure est réduit dans la cellule, soit dans le cytosol par la thioredoxine, soit dans les endosomes<sup>(10)</sup> tardifs par la réductase GILT (« gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase ») [21]. L'observation de fluorescence *in vivo* démontre ainsi non seulement que le vecteur a atteint sa cible, mais qu'il y a pénétré, puis a relargué le quencheur dans la cellule [22].

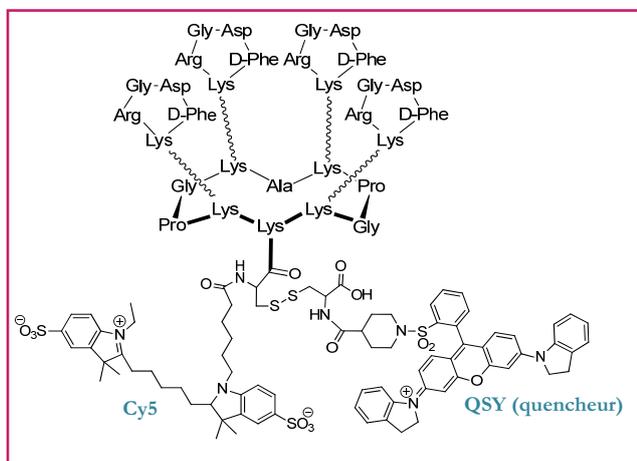


Figure 7 - Structure d'un composé « Smart Probe ».

### Système fluorescent activable pour étudier la vectorisation de médicaments

Nous avons exploité le système fluorescent activable « Smart Probe » précédent pour étudier le suivi intracellulaire d'un peptide « KLA » qui induit l'apoptose<sup>(11)</sup> dans des cellules vivantes. Ce type de composé nous a permis de visualiser la libération du peptide « KLA » dans l'endosome et sa migration vers les mitochondries (figure 8) [23]. Ce résultat corrobore ceux de la littérature où il est montré que le peptide « KLA » peut adopter une structure en hélice amphiphile capable de s'ancrer dans la membrane mitochondriale et déclencher la mort cellulaire par apoptose. L'étude *in vivo* chez la souris a permis également de valider le relargage du peptide « KLA » après ciblage et internalisation, ce qui fait de cette « Smart Probe » un outil intéressant pour le développement de thérapies ciblées.

### Application clinique d'un traceur fluorescent : l'aide à la chirurgie

#### L'aide à la chirurgie en clinique vétérinaire

Fort de l'expérience acquise en imagerie du petit animal par fluorescence, associant chimistes, biologistes,

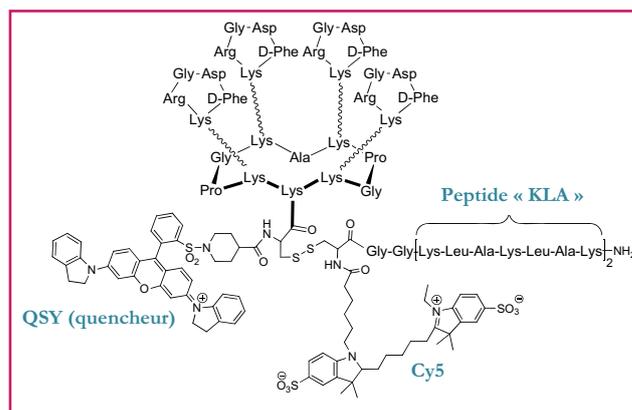


Figure 8 - Structure du conjugué drogue-« Smart Probe ».

physiciens et médecins depuis une dizaine d'années à Grenoble, nous nous sommes dirigés vers le guidage du geste chirurgical par fluorescence. Cette approche est en cours de validation sur des animaux domestiques (chats, chiens) atteints de fibrosarcome nécessitant une intervention chirurgicale (figure 9). À ce jour, tous les essais vétérinaires ont été réalisés avec succès.



Figure 9 - Chirurgie en salle opératoire en clinique vétérinaire.

### Fluoptics : valorisation et commercialisation du système AngioStamp™-Fluobeam™

La molécule développée par le Département de Chimie moléculaire (Grenoble) associé à l'Institut Albert Bonniot (Grenoble) a été licenciée à la société grenobloise Fluoptics qui l'industrialise sous le nom commercial d'AngioStamp™. Fluoptics est une start-up issue du CEA dont l'objectif est de développer et de commercialiser des traceurs et des



Figure 10 - (a) Présentation de la sonde : l'instrument est constitué d'un boîtier de contrôle et d'une tête (caméra et éclairage) reliés au boîtier par un câble pouvant être déconnecté. Le système est relié à un ordinateur par une connexion USB2. (b) Exemple de nodule de petite taille détecté par le couple AngioStamp™-Fluobeam™.

instruments pour guider le geste chirurgical par imagerie de fluorescence dans le proche infrarouge.

L'un des domaines les plus prometteurs étudiés aujourd'hui par la société est l'aide à la chirurgie du cancer. Fluoptics a développé dans ce champ une technologie destinée à aider le chirurgien lors de l'ablation de tumeurs cancéreuses. Cette technologie repose sur la combinaison d'un système d'imagerie optique en temps réel et de traceurs fluorescents qui ciblent spécifiquement les cellules tumorales (figure 10). Une fois injecté, le traceur émet un signal infrarouge permettant « d'illuminer » les cellules cancéreuses qui deviennent alors visibles à l'écran. Ce procédé autorise une chirurgie de précision pour enlever des métastases non visibles à l'œil nu (jusqu'à 300 microns), permettant de préserver les tissus sains.

L'imagerie de fluorescence est une innovation technologique majeure qui devrait bouleverser d'ici quelques années la façon dont on traite de nombreuses maladies, et en premier lieu les cancers. En particulier avec les traceurs ciblant tels qu'AngioStamp™, elle va permettre au chirurgien de voir au plus près et en temps réel l'exacte localisation des tumeurs et des cellules cancéreuses, et ce avec une précision inégalée à ce jour.

AngioStamp™ est le premier traceur de Fluoptics ; il est en cours de développement avec pour objectif la réalisation d'un essai clinique chez l'homme en 2013. Il est utilisé actuellement en routine dans de nombreuses applications précliniques [24-25] et dans la validation vétérinaire listée précédemment.

Le traceur est injecté la veille de l'opération, ce qui laisse le temps à AngioStamp™ de se fixer sur les zones cibles et permet à l'organisme d'évacuer le traceur qui n'est pas fixé de manière spécifique.

Le principe de l'instrument Fluobeam™ développé par Fluoptics est le suivant : un système d'éclairage filtré pour supprimer les longueurs d'onde du proche infrarouge correspondant aux longueurs d'ondes d'émission du traceur éclaire la zone d'intérêt. Un laser ayant une longueur d'onde proche du maximum d'absorption des fluorophores utilisés est diffusé sur cette même zone et permet d'exciter la fluorescence du traceur. La zone d'intérêt est vue par une caméra CCD filtrée qui ne détecte que les longueurs d'ondes correspondant à cette fluorescence. Fluobeam™ permet

d'acquérir les images de fluorescence en temps réel et de les projeter sur un écran face au chirurgien (figure 11).

La technologie mise au point par la start-up grenobloise est susceptible de nombreuses autres applications, par exemple en chirurgie cardiovasculaire et chirurgie reconstructrice, ou encore pour détecter les ganglions sentinelles dans le cadre de l'ablation d'une tumeur cancéreuse.

## Conclusion

Le développement d'approches chimiques permettant l'assemblage multimérique de biomolécules ciblant l'intégrine  $\alpha_V\beta_3$  sur un châssis cyclopeptidique et les combinaisons avec des fonctions de détection ont permis d'obtenir des systèmes ciblant l'angiogenèse tumorale *in vivo*. La flexibilité et la grande efficacité de cette approche ont permis d'effectuer une recherche translationnelle impliquant chimistes, biologistes et technologues, qui a abouti à la valorisation d'un agent fluorescent de ciblage tumoral et de caméras proche infrarouge pour les mesures en temps réel. Ces développements sont exploités par la start-up Fluoptics pour développer et commercialiser des traceurs et des instruments pour guider le geste chirurgical et améliorer les berges de résection, sans modifier les conditions opératoires actuelles.

## Notes et références

- (1) *Résection* : retrait chirurgical d'une partie d'organe ou d'un tissu pathologique comme une tumeur.
- (2) *Théragnostique* : association d'un test diagnostic à une thérapie.
- (3) *G-quadruplexes* : structures secondaires à quatre brins que peuvent adopter les acides nucléiques (ADN et ARN) riches en guanines.
- (4) *IC50* : concentration d'un composé inhibant 50 % de l'effet observé.
- (5) « *Trafficking* » *cellulaire* : signalisation cellulaire.
- (6) *Endocytose* : mécanisme de transport de molécules voire de particules (virales, bactériennes, etc.) vers l'intérieur de la cellule.
- (7) *Clathrine* : protéine structurelle constituant l'enveloppe (ou manteau) de certaines vésicules.
- (8) *Souris nude* : souche mutante de souris dépourvues de poils et de thymus, affectées d'un déficit immunitaire important.
- (9) *Quencheur de fluorescence* : composé chimique ou atome conduisant à la perte de fluorescence du fluorophore concerné.
- (10) *Endosomes* : sous-compartiments de la cellule, ou organites (organelles), sur lesquels les vésicules d'endocytose s'accrochent et fusionnent pour relarguer leur contenu.
- (11) *Apoptose* (ou mort cellulaire programmée) : processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal.
- [1] Jin H., Varner J., Integrins: roles in cancer development and as treatment targets, *Br. J. Surg.*, **2004**, *90*, p. 561.
- [2] Temming K., Schiffelers R.M., Molema G., Kok R.J., RGD-based strategies for selective delivery of therapeutics and imaging agents to the tumour vasculature, *Drug Resist. Update*, **2005**, *8*, p. 381.
- [3] Goodman S.L., Hoelzemann G., Sulyok G.A.G., Kessler H, N-methylated cyclic RGD peptides as highly active and selective  $\alpha_V\beta_3$  integrin antagonists, *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, p. 3033.
- [4] Mammen M., Choi S.-K., Whitesides G.M., Polyvalent interactions in biological systems: implications for design and use of multivalent ligands and inhibitors, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, *37*, p. 2754.
- [5] Dumy P., Eggleston I.M., Cervigni S., Sila U., Sun X., Mutter M., A convenient synthesis of cyclic peptides as regioselectively addressable functionalized templates (RAFT), *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, p. 1255.
- [6] Boturyn D., Coll J.-L., Garanger E., Favrot M.C., Dumy P., Template assembled cyclopeptides as multimeric system for integrin targeting and endocytosis, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, p. 5730.



Figure 11 - Sonde en situation lors de chirurgie sur gros animaux.

- [7] Mutter M., Tuchscherer G.G., Miller C., Altmann K.H., Carey R.I., Wyss D.F., Labhardt A.M., Rivier J.E., Template-assembled synthetic proteins with 4-helix-bundle topology: Total chemical synthesis and conformational studies, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, p. 1463.
- [8] Rau H.K., Haehnel W., Design, synthesis, and properties of a novel cytochrome b model, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, p. 468.
- [9] Futaki S., Peptide ion channels: Design and creation of function, *Biopolymers*, **1998**, *47*, p. 75.
- [10] Murat P., Cressend D., Spinelli N., Van der Heyden A., Labbe P., Dumy P., Defrancq E., A novel conformationally constrained parallel  $\beta$  quadruplex, *ChemBioChem*, **2008**, *9*, p. 2588.
- [11] Dolphin G.T., Dumy P., Garcia J., Control of amyloid beta-peptide protofibril formation by a designed template assembly, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, p. 2699.
- [12] Hackenberger C.P.R., Schwarzer D., Chemoselective ligation and modification strategies for peptides and proteins, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, p. 10030.
- [13] Garanger E., Boturn D., Renaudet O., Defrancq E., Dumy P., Chemoselectively addressable template: A valuable tool for the engineering of molecular conjugates, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, p. 2402.
- [14] Renaudet O., Boturn D., Dumy P., Biomolecular assembly by iterative oxime ligations, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19*, p. 3880.
- [15] Galibert M., Dumy P., Boturn D., One-pot approach to well-defined biomolecular assemblies via orthogonal chemoselective ligations, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, p. 2576.
- [16] Garanger E., Boturn D., Jin Z., Dumy P., Favrot M.-C., Coll J.-L., New multifunctional molecular conjugate vector for targeting, imaging, and therapy of tumors, *Mol. Ther.*, **2005**, *12*, p. 1168.
- [17] Galibert M., Sancey L., Renaudet O., Coll J.-L., Dumy P., Boturn D., Application of click-click chemistry to the synthesis of new multivalent RGD conjugates, *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, *8*, p. 5133.
- [18] Garanger E., Boturn D., Coll J.-L., Favrot M.-C., Dumy P., Multivalent RGD synthetic peptides as potent  $\alpha_v\beta_3$  integrin ligands, *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, p. 1958.
- [19] Sancey L., Garanger E., Foillard S., Schoehn G., Hurbin A., Albiges-Rizo C., Boturn D., Souchier C., Grichine A., Dumy P., Coll J.-L., Clustering and internalization of integrin  $\alpha_v\beta_3$  with a tetrameric RGD-synthetic peptide, *Mol. Ther.*, **2009**, *17*, p. 837.
- [20] Jin Z., Josserand V., Foillard S., Boturn D., Dumy P., Favrot M.-C., Coll J.-L., *In vivo* optical imaging of integrin  $\alpha_v\beta_3$  in mice using multivalent or monovalent cRGD targeting vectors, *Mol. Cancer*, **2007**, *6*, p. 41.
- [21] Arunachalam B., Phan U.T., Geuze H.J., Cresswell P., Enzymatic reduction of disulfide bonds in lysosomes: Characterization of a gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase (GILT), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2000**, *97*, p. 745.
- [22] Razkin J., Josserand V., Boturn D., Jin Z., Dumy P., Favrot M.-C., Coll J.-L., Texier I., Activatable fluorescent probes for tumour-targeting imaging in live mice, *ChemMedChem*, **2006**, *1*, p. 1069.
- [23] Foillard S., Sancey L., Coll J.-L., Boturn D., Dumy P., Targeted Delivery of activatable fluorescent pro-apoptotic peptide into live cells, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, p. 221.
- [24] Keramidis M., Josserand V., Righini C.A., Wenk C., Faure C., Coll J.L., Intraoperative near-infrared image-guided surgery for peritoneal carcinomatosis in a preclinical experimental model, *Br. J. Surg.*, **2010**, *97*, p. 737.
- [25] Mery E., Jouve E., Guillermet S., Bourgonon M., Castells M., Golzio M., Rizo P., Delord J.P., Querleu D., Couderc B., Intraoperative fluorescence imaging of peritoneal dissemination of ovarian carcinomas: A preclinical study, *Gynecol. Oncol.*, **2011**, *122*, p. 155.



P. Dumy



C. Wenk



M. Claron



J.-L. Coll



O. Allard



D. Boturn

**Pascal Dumy** (auteur correspondant)

est professeur à l'Université Grenoble 1 et responsable de l'équipe « Ingénierie et interaction biomoléculaires »<sup>1</sup>. Il est directeur de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier depuis février 2012.

**Christiane Wenk**

est doctorante en cotutelle de thèse avec les équipes « Ingénierie et interaction biomoléculaires »<sup>1</sup> et « Thérapie ciblée, diagnostique précoce et imagerie du cancer »<sup>2</sup>.

**Michaël Claron**

est doctorant dans l'équipe « Ingénierie et interaction biomoléculaires »<sup>1</sup>.

**Jean-Luc Coll**

est directeur de recherche de l'Inserm et dirige l'équipe « Thérapie ciblée, diagnostique précoce et imagerie du cancer » à l'Institut Albert Bonniot<sup>2</sup>. Il est responsable de la plate-forme « Imagerie optique du petit animal *in vivo* ».

**Odile Allard**

est la PDG de Fluoptics<sup>3</sup>, entreprise qui développe des solutions pour le guidage du geste chirurgical par fluorescence.

**Didier Boturn**

est directeur de recherche au CNRS et dirige le groupe de recherche « Ingénierie de peptide et reconnaissance moléculaire »<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Équipe « Ingénierie et interaction biomoléculaires », UMR 5250 CNRS/UJF, BP 53, F-38041 Grenoble Cedex 9.

Courriel : pascal.dumy@ujf-grenoble.fr

<sup>2</sup> Équipe « Thérapie ciblée, diagnostique précoce et imagerie du cancer », Institut Albert Bonniot, CR1 Inserm/UJF U823, Rond point de la Chantourne, F-38706 La Tronche Cedex.

<sup>3</sup> Fluoptics, Minattec-BHT, Bât. 52, 7 parvis Louis Néel, BP 50, F-38040 Grenoble Cedex 9.

www.fluoptics.com

## FACULTE DES SCIENCES D'ORSAY



FACULTÉ  
DES SCIENCES  
D'ORSAY

STAGES COURTS DE CHIMIE  
PERIODE SEPTEMBRE/DECEMBRE 2012

Stages animés par

Stéphane Bouchonnet et Sophie Bourcier

(Spectrométrie de masse) Ecole Polytechnique de Palaiseau

et Cyrille Kouklovsky (ICMMO - Faculté des Sciences d'Orsay)

INTITULE DU STAGE	Dates	Prix
Spectrométrie de masse en tant que détecteur chromatographique : GC-MS et LC-MS initiation	du 24 au 27 Septembre	1700
Spectrométrie de masse : séquençage des peptides	du 8 au 10 Octobre	950
Spectrométrie de masse en chimie et en biologie : de la théorie à l'interprétation des résultats	du 15 au 18 Octobre	1600
Spectrométrie de masse : interprétation de spectres obtenus par couplage GC-MSn	du 15 au 18 Octobre	1300
Métabolomique par chromatographie et spectrométrie de masse	du 22 au 25 Octobre	1700
Spectrométrie de masse : couplage LC-MS/MS	du 22 au 25 Octobre	1700
Couplages GC-MS et LC-MS : perfectionnement	du 12 au 15 Novembre	1400
Spectrométrie de masse : interprétation de spectres obtenus par couplage LC-MS/MS	du 19 au 22 Novembre	1300
Analyse rétrosynthétique en chimie organique 1	du 26 au 28 Novembre	1055
Choisir et acheter son spectromètre de masse en couplage GC-MS ou LC-MS - contact : S. Bouchonnet 01 69 33 48 05	le 29 Novembre	450
Spectrométrie de masse : couplage GC-MS	du 3 au 6 Décembre	1600

Renseignements et inscriptions :  
Service formation continue de la faculté des sciences d'Orsay  
Tél. : 01 69 15 36 89  
Mail : eliane.lavalette@u-psud.fr