

PROPOSITION de STAGE Début 2027 (minimum 4 mois)

Informations

Laboratoire d'accueil : **Institut CARMEN, Equipe 1 : Analyse et modélisation,**
Groupe : spectrométrie de masse

Adresse complète du lieu du stage : Bâtiment IRCOF, 1 Rue Lucien Tesnière, 76130 Mont-Saint-Aignan

Nom des personnes responsables : C. Loutelier, S. Ollivier

Contact : corinne.loutelier@univ-rouen.fr ; simon.ollivier@univ-rouen.fr

Titre du Sujet : Caractérisation top-down de glycoprotéines recombinantes par des méthodes de fragmentation électronique avec un spectromètre de masse FTICR.

Contexte scientifique :

Depuis quelques années, des biothérapies impliquant le recours à des glycoprotéines, telles que des immunoglobulines, se sont largement développées. Actuellement, les glycoprotéines à intérêt thérapeutique sont principalement produites via des systèmes cellulaires de mammifères qui présentent les avantages de rendements relativement élevés, ainsi qu'une très bonne biocompatibilité. Cependant, le coût de production de ces molécules recombinantes reste élevé. Aussi, la recherche de systèmes de production alternatifs s'est développée, impliquant des plantes, des levures ou plus récemment des microalgues qui sont des organismes unicellulaires et photosynthétiques constituant des systèmes particulièrement prometteurs, car leur culture est peu coûteuse, et ils sont exempts de contaminations virales qui seraient problématiques pour une utilisation en thérapie humaine. Toutefois, la glycosylation étant un des 'critères de qualité critiques' définis par la Food and Drug Administration, l'utilisation de cellules de microalgues comme système d'expression alternatif pour la production de biomédicaments nécessite une caractérisation structurale fine des glycoprotéines produites.

Il est donc essentiel de pouvoir déterminer à la fois la structure des glycosylations atypiques et leur position sur la ou les chaînes polypeptidiques. Dans ce contexte, l'analyse centrée sur les protéines intactes (*protein-centric proteomics*) offre le net avantage de préserver le profil des glycoformes d'une protéine permettant ainsi de les analyser individuellement – là où des approches traditionnelles utilisant une digestion en glycopeptides perdraient cette spécificité.

La spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) basée sur des approches de fragmentation électronique (ExD) s'est avérée appropriée pour le séquençage de protéines intactes, aussi appelé séquençage « top-down ». Par ailleurs, les approches ExD se sont aussi montrées prometteuses pour caractériser la structure fine de

glycanes et autres types d'oligosaccharides. Toutefois, ces méthodes de séquençage sont encore relativement peu répandues dans la communauté, et utilisées séparément.

L'objectif de ce stage est de mettre au point une méthode de caractérisation « top-down » de glycoprotéines recombinantes intactes, commerciales et issues de microalgues, afin de déterminer en une seule analyse la position des glycosylations sur la chaîne peptidique et la structure fine de ces glycosylations. Cette méthode combinera des approches de fragmentation électronique ExD et la très haute résolution de la spectrométrie de masse FTICR.

Environnement du stage :

Ce stage sera réalisé à l'Institut CARMen (Chimie Analytique et Réactivité Moléculaire en Normandie, UMR CNRS 6064), situé sur le campus de Mont-Saint-Aignan. Le stagiaire s'intégrera dans l'équipe Analyse et Modélisation Moléculaire, au sein du groupe de recherche Spectrométrie de Masse et Sciences Séparatives. Cette équipe dispose de nombreux outils avancés d'analyses par spectrométrie de masse tels que la spectrométrie de mobilité ionique, la spectrométrie de masse à très haute et ultra haute résolution (timsTOF, Orbitrap, FTICR 18 T).

Le stage sera effectué en collaboration avec le laboratoire GlycoMEV (UR 4358, laboratoire spécialisé en glycobiologie et production de protéines recombinantes) en appui à la thèse de X. Richard, doctorant en 3^{ème} année co-encadré entre les deux laboratoires.

Planification et Méthodologie. Les objectifs du stage sont donc :

- Préparer diverses protéines recombinantes pour l'analyse « top-down » (dénaturation des protéines, réduction avec ou sans alkylation des éventuels ponts disulfure) en respectant les règles d'hygiène et de sécurité
- Réaliser les analyses en fragmentation ExD sur l'instrument FTICR 18 T.
- Analyser les résultats afin de déterminer les meilleures conditions pour l'analyse Top-Down de glycoprotéines : annotation des fragments avec recherche de fragments spécifiques des glycanes, évaluation de la couverture de séquence pour localiser les glycosylations.

Procédure pour candidater :

Une **lettre de motivation**, un **curriculum vitae**, ainsi que les **relevés de notes des trois derniers semestres** sont à transmettre aux adresses mails suivantes : corinne.loutelier@univ-rouen.fr et simon.ollivier@univ-rouen.fr avant **le 15 octobre 2026**.

L'objet du mail doit être « Candidature stage Top-Down ». Toute candidature incomplète ne sera pas examinée.

Enfin, notre Institut étant classé Zone à Régime Restrictif (ZRR), l'accès est donc soumis à autorisation du ministère de l'intérieur.