



PROPOSITION DE STAGE INGÉNIEUR OU MASTER 2

CEA Saclay, Février - Août 2027

Intitulé : Échange hydrogène-deutérium couplé à la spectrométrie de masse appliqué à des biotoxines

Contexte et enjeux

Les biotoxines sont des protéines composées d'une à deux chaînes polypeptidiques, dont la masse moléculaire est comprise entre 30 et 150 kDa, produites par des bactéries ou par des plantes. Elles se caractérisent par une toxicité importante, une action rapide et une grande diversité de séquences protéiques (nombreuses isoformes, types et sous-types). En cas d'intoxication due à une contamination accidentelle ou à une éventuelle attaque bioterroriste, les soins hospitaliers se limitent au rétablissement des fonctions vitales car il n'existe pas de contre-mesures médicales spécifiques capables de neutraliser chaque biotoxine. Il est essentiel de développer de nouvelles contre-mesures médicales, notamment des anticorps monoclonaux (mAbs) neutralisant les biotoxines.

Objectifs du stage

La caractérisation structurale des biotoxines et l'identification des séquences peptidiques (épitopes) reconnus par les mAbs sont des prérequis lors du développement d'anticorps thérapeutiques. Dans cet objectif, vous concevrez une nouvelle méthode HDX-MS (échange hydrogène/deutérium couplé à la spectrométrie de masse) pour étudier les changements conformationnel de la biotoxine ciblée. Pour des raisons de biosécurité, des toxoïdes (formes non-actives de la toxine) seront utilisés à la place de la toxine native.

Travaux prévus

La première partie du stage consistera à développer un protocole de digestion pour les toxoïdes, afin de maximiser la couverture de séquence protéique. Pour ce faire, différentes enzymes (pepsine, nepenthesine, protéase XIII et leurs combinaisons) ainsi que des tampons et des additifs seront évalués. Ensuite, une optimisation chromatographique sera réalisée en comparant différents diamètres de colonnes (micro, capillaire et nano) ainsi que différentes phases stationnaires. Finalement, la méthode sera évaluée en termes de couverture de la séquence protéique des principaux types de la toxine et de stabilité de l'incorporation du deutérium, avant de l'appliquer à des analyses conformationnelles.

Laboratoire d'accueil

Ce stage se déroulera au Laboratoire Innovations en spectrométrie de Masse pour la Santé (LI-MS) du CEA de Saclay. Le stagiaire pourra prendre part aux missions d'un projet Fonds Européen de Défense de Recherche portant sur le développement de Contre-Mesures Médicales contre les menaces NRBC, et particulièrement les intoxications à l'abrine, la ricine et les neurotoxines botuliques bactériennes. Une maîtrise des enjeux de défense et de confidentialité connexes sera présentée le cas échéant.

Profil du candidat et candidature

Étudiant en master 2/école d'ingénieur en chimie analytique/biochimie, avec un intérêt particulier pour la spectrométrie de masse et la caractérisation structurale.

Durée du stage : 5/6 mois à partir de février 2027.

Les candidatures (CV, lettre de motivation et relevé de notes) sont à envoyer à François Becher (francois.becher@cea.fr), Marie Ley (marie.ley@cea.fr) et Ylane Idir (ylane.idir@cea.fr).

Bibliographie

[1] V. Vinciauskaite, G.R. Masson, Fundamentals of HDX-MS, Essays in Biochemistry 67 (2023) 301–314. <https://doi.org/10.1042/EBC20220111>.

[2] S.R. Shuken, An Introduction to Mass Spectrometry-Based Proteomics, J. Proteome Res. 22 (2023) 2151–2171. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.2c00838>.