

Avis de Soutenance

Monsieur Eric KAYA

Biologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Développement de nouveaux di-affibodies pour des applications en bioimagerie et immunothérapie

dirigés par Monsieur Josef HAMACEK

Ecole doctorale : Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant - SSBCV

Unité de recherche : CBM - Centre de Biophysique Moléculaire

Soutenance prévue le **vendredi 19 décembre 2025** à 14h00

Lieu : CNRS, Délégation régionale, 3E avenue de la recherche scientifique, 45071 Orléans cedex 2

Salle : Amphithéâtre Charles Sadron

Composition du jury proposé

M. Josef HAMACEK	Université d'Orléans	Directeur de thèse
Mme Séverine MORISSET-LOPEZ	CNRS Orléans	Examinateuse
M. Yung-Sing WONG	Université Grenoble Alpes, Département de Pharmacochimie Moléculaire	Rapporteur
M. Guillaume BORT	Institut Curie Orsay	Rapporteur

Mots-clés : Linker fluorescent, conjugaison, affibody, ciblage de récepteurs, construction divalente, agent bispécifique

Résumé :

Le développement de thérapies ciblées innovantes est un enjeu majeur en oncologie. Les affibodies (AfBs), en raison de leurs propriétés avantageuses (taille, stabilité, coût, affinités, tolérance), représentent une alternative prometteuse aux anticorps monoclonaux. Notre objectif est le développement de nouvelles constructions de di-affibodies pour des applications en bioimagerie et immunothérapie. Dans cette optique, nous rapportons la conception de nouveaux linkers fluorescents polyvalents (L1-L3, L1N) adaptés à l'assemblage covalent de motifs de reconnaissance spécifiques pour cibler des molécules biologiquement pertinentes. La plateforme d'ancrage fluorescente, un dérivé du dimethoxyquinacridinium, émet en rouge et constitue un élément clé pour la synthèse de conjugués et leurs analyses ultérieures. La synthèse de ces précurseurs a été optimisée en amont à travers des études cinétiques. De plus, les mesures spectrophotométriques de leurs interactions avec des biomolécules représentatives (SAB, ARN, ADN) ont démontré une faible affinité avec la protéine SAB (\sim mM), comparée aux affinités avec les acides nucléiques (ARN, ADN), de l'ordre du μ M. La présence de groupements amines permet une fonctionnalisation simple avec des linkers PEG bifonctionnels (NHS, MI) de longueur variable ($n = 2$ ou 12) pour une bioconjugaison ultérieure. Les affibodies ont été produits par synthèse sur support solide (SPPS) avec un unique résidu de cystéine incorporé en position N-terminale (N-AfB; E-AfB) ou C-terminal (C-AfB). L'assemblage des différents constituants moléculaires (fluorophore, linker, affibody) a été réalisé à partir de réactions de bioconjugaison simple et rapide (NHS ester/amine, thiol/maléimide). Dans un premier temps, et pour démontrer le concept, nous avons conjugué nos linkers avec des affibodies ciblant HER2 (N-AfB ou C-AfB). Sept conjugués (mono- et di- AfBs) ont été obtenus et caractérisés. Leur liaison spécifique aux cellules SKOV3 surexprimant HER2 a été démontrée par cytométrie en flux, avec des affinités nanomolaires, et visualisée par microscopie confocale. L'internalisation des constructions AfB dans les cellules SKOV3 a été étudiée grâce à la mesure de leur fluorescence en cytométrie après traitement à la trypsine. Dans une seconde partie, la versatilité des plateformes d'ancrage a été démontrée par la synthèse de deux di-AfBs bispécifiques ciblant simultanément HER2 (N-AfB ; C-AfB) et EGFR (E-AfB). Les tests sur lignées cellulaires (MDA-MB-231, SKBR3, SKOV3) ont montré que le conjugué bispécifique se liait aux deux cibles, lorsqu'elles étaient surexprimées, avec une affinité nanomolaire, contrairement aux agents monovalents. En conclusion, la conception de linkers versatiles et des assemblages directionnels polyvalents ouvre des perspectives intéressantes pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses et/ou d'outils de diagnostic pour le suivi au niveau cellulaire.