



Alexandre Moquin

« *Points quantiques: caractérisation et applications en sciences pharmaceutiques* »

**Mercredi, 28 mai 2014
à 10h00, Pavillon Jean Coutu (salle S1-125)
Université de Montréal
2940 chemin de la polytechnique, Montréal**

Jury de thèse

**Président-rapporteur : Valérie Gaëlle Roullin
Directeur : Françoise Winnik
Codirecteur: Dusica Maysinger
Membre du jury : Kevin J. Wilkinson
Examinateur externe : Hedi Mattoussi
Représentant du doyen de la FESP : à confirmer**

Résumé

L'imagerie médicale a longtemps été limitée à cause des performances médiocres des fluorophores organiques. Récemment la recherche sur les nanocristaux semi-conducteurs a grandement contribué à l'élargissement de la gamme d'applications de la luminescence dans les domaines de l'imagerie et du diagnostic. Les points quantiques (QDs) sont des nanocristaux de taille similaire aux protéines (2-10 nm) dont la longueur d'onde d'émission dépend de leur taille et de leur composition. Le fait que leur surface peut être fonctionnalisée facilement avec des biomolécules rend leur application particulièrement attrayante dans le milieu biologique.

Des QDs de structure « cœur-coquille » ont été synthétisés selon nos besoins en longueur d'onde d'émission. Dans un premier article nous avons modifié la surface des QDs avec des petites molécules bi-fonctionnelles portant des groupes amines, carboxyles ou zwitterions. L'effet de la charge a été analysé sur le mode d'entrée des QDs dans deux types cellulaires. À l'aide d'inhibiteurs pharmacologiques spécifiques à certains modes d'internalisation, nous avons déterminé le mode d'internalisation prédominant. L'endocytose par les radeaux lipidiques représente le mode d'entrée le plus employé pour ces QDs de tailles similaires. D'autres modes participent également, mais à des degrés moindres. Des disparités dans les modes d'entrée ont été observées selon le ligand de surface.

Nous avons ensuite analysé l'effet de l'agglomération de différents QDs sur leur internalisation dans des cellules microgliales. La caractérisation des agglomérats dans le milieu de culture cellulaire a été faite par la technique de fractionnement par couplage flux-force (AF4) associé à un détecteur de diffusion de la lumière. En fonction du ligand de surface et de la présence ou non de protéines du sérum, chacun des types de QDs se sont agglomérés de façon différente. À l'aide d'inhibiteurs des modes d'internalisation, nous avons corrélé les données de tailles d'agglomérats avec leur mode d'entrée cellulaire.

Les cellules microgliales sont les cellules immunitaires du système nerveux central (CNS). Elles répondent aux blessures ou à la présence d'inflammagènes en relâchant des cytokines pro-inflammatoires. Une inflammation non contrôlée du CNS peut conduire à la neurodégénérescence neuronale et est souvent observée dans les cas de maladies chroniques. Nous nous sommes intéressés au développement d'un nanosenseur pour mesurer des biomarqueurs du début de l'inflammation.

Les méthodes classiques pour étudier l'inflammation consistent à mesurer le niveau de protéines ou molécules relâchées par les cellules stressées (ex. monoxyde d'azote, IL-1 β). Bien que précises, ces méthodes ne mesurent qu'indirectement l'activité de la caspase-1, responsable de la libération de l'IL-1 β . De plus ces méthodes ne peuvent pas être utilisées avec des cellules vivantes.

Nous avons construit un nanosenseur basé sur le FRET entre un QD et un fluorophore organique reliés entre eux par un peptide qui est spécifiquement clivé par la caspase-1. Pour induire l'inflammation, nous avons utilisé des molécules de lipopolysaccharides (LPS). La molécule de LPS est amphiphile. Dans l'eau le LPS forme des nanoparticules, avec des régions hydrophobes à l'intérieure. Nous avons incorporé des QDs dans ces régions ce qui nous a permis de suivre le cheminement du LPS dans les cellules microgliales. Les LPS-QDs sont internalisés spécifiquement par les récepteurs TLR-4 à la surface des microglies. Le nanosenseur s'est montré fonctionnel dans la détermination de l'activité de la caspase-1 dans cellules microgliales activées par le LPS. Éventuellement, le senseur permettrait d'observer en temps réel l'effet de thérapies ciblant l'inflammation, sur l'activité de la caspase-1.

Mots-clés : points quantiques (QDs), internalisation cellulaire de QDs, localisation intracellulaire, fractionnement par couplage flux-force, distribution de taille, milieu de culture cellulaire, sérum, microglies, phagocytose, nanosenseur

Publications durant le doctorat :

- **A. Moquin**,* K.D. Neibert,* D. Maysinger, and F.M. Winnik. Relating the Chemical and Biological Identity of Quantum Dots in N9 Microglia Cells through Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation Analyses. Manuscrit soumis à *Nanoscale*; **2013**.
- **A. Moquin**,* E. Hutter,* A.O. Choi, A. Khatchadourian, A. Castonguay, F.M. Winnik, and D. Maysinger. Caspase-1 Activity in Microglia Stimulated by Pro-Inflammagen Nanocrystals. *ACS Nano*, **2013**, 7 (11): 9585-9598.
- S. Migita, **A. Moquin**, H. Fujishiro, S. Himeno, D. Maysinger, F.M. Winnik, and A. Taniguchi. Quantum dots induce heat shock-related cytotoxicity at intracellular environment. *In Vitro Cell. Dev. Biol.: Anim.* Published October **2013**.
- **A. Moquin**, F.M. Winnik, and D. Maysinger. Separation Science: Principles and Applications for the Analysis of Bionanoparticles by Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation (AF4). *Methods Mol. Biol.*, **2013**, 991: 325-341.
- **A. Moquin**, and F.M. Winnik. The use of field-flow fractionation for the analysis of drug and gene delivery systems. S.K.R. Williams and K.D. Caldwell (eds.) *Field-flow fractionation in biopolymer analysis*. **2012**; Springer-Verlag/Wien.
- A. Shimoda, S.-I. Sawada, A. Kano, A. Maruyama, **A. Moquin**, F.M. Winnik, and K. Akiyoshi. Dual crosslinked hydrogel nanoparticles from bottom-up method for sustained-release delivery. *Colloids Surf., B: Biointerfaces* **2011**, 99: 38-44.
- N. Al-Hajaj,* **A. Moquin**,* K.D. Neibert,* G.M. Soliman, F.M. Winnik, and D. Maysinger. Short Ligands Affect Modes of QD Uptake and Elimination in Human Cells. *ACS Nano*, **2011**, 5 (6): 4909-4918.
- M. Lalancette-Hebert,* **A. Moquin**,* A.O. Choi, J. Kriz, and D. Maysinger. Lipopolysaccharide-QD Micelles Induce Marked Induction of TLR2 and Lipid Droplet Accumulation in Olfactory Bulb Microglia. *Mol. Pharmaceut.* **2010**, 7 (4): 1183-1194.
- B. Zorc, J. Lovrić, M.P. Jain, **A. Moquin**, S.J. Cho, and J. Filipović-Grčić. Thiolated polyaspartamide is an effective biocompatible coating agent for quantum dots. *J. Drug. Deliv. Sci. Tec.* **2009**, 19 (2): 139-144.

* Contribution égale des auteurs.