Candidature pour Post-Doctorant contractuel

Publication de l'annonce : 10 janvier 2022
Date limite de dépôt des candidatures : 9 février 2022
Période contrat : 6 mois à partir du 1er mars 2022

Laboratoire de Recherche PMBB: Parasitologie Médicale, Biotechnologies & Biomolécules, LR20-IPT06, Groupe Immuno-Biotechnologie, Institut Pasteur de Tunis

Thème : Développement de stratégies thérapeutiques anti-Toxoplasma innovantes issus de l'ingénierie moléculaire des anticorps

Présentation du projet:
Les anticorps monoclonaux (AcM) sont des molécules qui jouent un rôle central dans les domaines du diagnostic et de la thérapie avec aujourd'hui plus d'une cinquantaine utilisée chez l'Homme et plusieurs centaines sont en cours de validation. Que ce soit sous forme naturels, recombinants, chimériques, humanisés ou génétiquement modifiés, une très grande diversité de formats d'anticorps est aujourd'hui disponible avec des propriétés physico-chimiques, structurales et fonctionnelles appropriées à de nombreuses applications. Le fragment variable simple-chaîne (scFv) monocaténaire, représente l'unité minimale de liaison à l'Ag, est composé des domaines variables (VH/VL) des chaînes lourdes et légères d'une immunoglobuline associés artificiellement par un bras peptidique flexible. Ayant accès directement aux gènes, les scFv peuvent être manipulé génétique afin de leur conférer une sensibilité et une spécificité améliorée et voire même de concevoir de nouvelles molécules chimériques telles que les immunoconjugués recombinants, les biocapteurs spécifiques, ou des scFv multimériques mono- ou multi-spécifiques. Dans un travail antérieur au laboratoire, nous avons conçu et produit un scFv, dirigé contre l'antigène de surface majeur SAG1 du parasite *Toxoplasma gondii*, issue de l'hybridome murin 4F11E12 et nous avons cherché à lui conférer un intérêt potentiel en immunodiagnostic du parasite en le fusionnant génétiquement au gène de l'enzyme colorimétrique la phosphatase alcaline (*Biotechnology Reports 23 (2019) e00360*). Dans le cadre de ce projet et dans le souci développer une nouvelle approche thérapeutique anti-Toxoplasmique, nous allons chercher à concevoir et à remodeler le scFv-monomérique en un scFv-dimérique afin de montrer son intérêt en immunothérapie passive de la toxoplasmose.

Tâches et procédures de réalisation :
Le candidat s'acquittera des taches et responsabilités suivantes:

- Entretien et culture en masse du parasite T. gondii chez la souris
- Entretien et culture cellulaire en masse du parasite T. gondii
- Préparation et extraction de lysat d'antigène brut du parasite T. gondii
- Mise au point des techniques de biologie moléculaire associées au clonage des gènes scFv (mono/dim) dans des vecteurs d'expression procaryotiques.

- Mise en place d'un processus de production des clones recombinants en système d'expression procaryote (optimisation des conditions optimales de culture des clones recombinants, évaluation de rendement de productivité…).
- Expression sous forme de corps d'inclusion et mise au point de protocoles de dénaturation/renaturation et repliement in vitro des fragments d'anticorps recombinants.
- Mise en œuvre d'un processus de purification des fragments d'anticorps recombinants.
- Evaluation de la pureté des fragments d'anticorps produits par différentes techniques d'immunochimie : électrophorèse SDS-PAGE, gel à gradient, Western blot…
- Détermination des caractéristiques physico-chimiques, stabilités et thermodynamiques des fragments d'anticorps recombinants.
- Evaluation et validation de l'activité biologique des différents fragments d'anticorps recombinants produits : ELISA, ELISA compétition, in vito à échelle cellulaire sur des lignées de fibroblastes humains HFF, in vivo chez la souris.

Profil recherché

1. **Diplôme exigé**:

Doctorat en Sciences Biologiques

2. **Expertise recherchée** :

- Bonne connaissance en Parasitologie, particulièrement *Toxoplasma gondii*
- des techniques de culture cellulaire (mammifères), parasitaire et bactérienne
- en biologie moléculaire (clonage, mutagénèse, PCR, qPCR, design et analyse de séquences ADN),
- expérience en expérimentation animale (souris)
- des biotechnologies et production de protéines ou des anticorps recombinantes
- des techniques immuno-biochimiques (immunoblotting, SDS-PAGE…)
- des méthodes d'immuno-marquage (WB, IHC, IF).
- des méthodes de préparation et de purification des protéines hétérologues
- des techniques des interactions protéine-protéine, cytométrie en flux, ELISA….
- Très bonne expression écrite et orale en français et en anglais

Résumé des conditions :

- Travail à temps plein (37,5h / semaine)
- Durée du contrat : temporaire (6 mois)

Pièces constituant le dossier de candidature:

- CV détaillé
- Lettre de motivation
- Copie des diplômes
- Publications
- Toute autre pièce justificative

Le dossier doit être déposé sous enveloppe au bureau d'ordre de l'IPT avec la mention « Candidature Post-Doc PMBB LR20-IPT06». Les candidats présélectionnés seront convoqués pour passer un test d'évaluation et un entretien ».