



## **Titre : Développement d'un nanobio-capteur à haute sensibilité et sélectivité basé sur la spectroscopie de corrélation de diffusion (SCS) et la spectroscopie Raman (SERS): Application à la détection in-vitro de biomarqueurs de cancer (SOD)**

### **Résumé du projet de thèse**

Avec le développement des nanotechnologies, les applications potentielles des nanoparticules d'or (NPs) à la biomédecine, à la détection chimique et à l'imagerie des biosystèmes sont en hausse. Les NPs ont été utilisés dans le domaine clinique, comme agents anti-inflammatoires ou sous forme de particules radioactives dans le traitement du cancer, comme agents photothermiques pour la nécrose des cellules tumorales après irradiation laser [10] ou encore comme bio-capteurs. Considérées comme biocompatibles, il y a un intérêt accru pour l'utilisation de NPs en nano-biotechnologie. Une méthode rapide pour la préparation des NPs est développée dans notre équipe pour leur utilisation potentielle dans la nanomédecine et la thérapie photothermique [1]. Un des paramètres les plus importants qui détermine l'utilisation des NPs est basé sur la détermination de leurs propriétés optiques (absorption, diffusion, exaltation du champ électromagnétique,...etc.) en fonction de la nature du métal et de la forme de la nanoparticule, ainsi que leur chimie de surface pour les rendre les plus biocompatibles possible pour les applications biologiques [2]. Les NPs les plus utilisées dans ce domaine sont les nanoparticules d'or, en raison de leur stabilité chimique et propriétés optiques uniques. Spécifiquement, Les nanobâtonnets d'or (GNR) sont des bio-capteurs, des agents de contraste optique et des transducteurs de photothermie très prometteurs à cause de leurs propriétés optiques. Faciles à synthétiser, les GNR ont de très forts coefficients d'absorption dans la région du proche infrarouge, un rayonnement inoffensif pour les milieux biologiques. Par ailleurs, dans le cas des GNR, l'interaction avec le champ électromagnétique de la lumière est très forte par rapport aux nanosphères (largement utilisées en nanomédecine) et induit des effets intéressants comme une forte diffusion ou exaltation du champ électromagnétique (par exemple, la diffusion de Mie ou la diffusion Raman exaltée en surface. L'application de ces effets d'exaltation a conduit à l'essor de la technique de spectroscopie SERS [3]: une spectroscopie vibrationnelle ultrasensible résultant de l'exaltation de la diffusion Raman de molécules déposées sur la surface de nanostructures métalliques [4]. Cette dernière technique est très utilisée dans le cas des bio-capteurs [5] ainsi que d'autres techniques de détection comme la LSPR (Plasmons de surface localisés) [6] ou la fluorescence [7]. Dans le cadre de la détection des biomarqueurs de cancer, notamment, la famille des SOD (SuperOxyde Dismutase) qui est présente dans les fluides corporels, très peu de travaux sont réalisés. La plupart démontre une limite de détection pour cette famille de protéines de l'ordre du micromolaire [8].

Récemment, nous avons démontré que la spectroscopie de corrélation est l'une des techniques les plus rapides et les plus sensibles pour la caractérisation de la taille et de la chimie de surface des nanoparticules d'or. La technique de spectroscopie de corrélation de diffusion (SCS) est une technique puissante pour déterminer le rayon hydrodynamique ( $R_h$ ) des NPs avec une très grande précision (sub-nanométrique), en particulier pour les particules non sphériques [9, 10]. Dans le cas de l'interaction des NPs avec les protéines, nous avons démontré que la technique SCS permet non seulement de déterminer le  $R_h$  pour différentes protéines et mesurer le nombre de protéines sur la surface d'une nanoparticule mais aussi les mesures nous ont permis de comprendre comment chaque protéine adhère à la surface de la NP, son orientation ou sa face d'adhésion ainsi que de définir pour chaque protéine sa constante d'affinité et le coefficient de coopérativité entre la protéine et la surface d'or [11]. Dans ce projet, nous allons associer deux techniques de détection puissantes (SCS & SERS) dans le cadre de la réalisation d'un bio-capteur basé sur l'utilisation des GNR pour la détection d'une protéine spécifique la « SOD 4 » (Cu-Zn superoxyde Dismutase) qui est un biomarqueur de cancer et ceci à de très faible concentration (nM-pM) et avec une grande sensibilité apportée par la technique SCS. Nous avons démontré la faisabilité de la détection de la SOD 4 par SERS sur des NPs sphériques fonctionnalisées avec des aptamères (ADN simple brin synthétique, reconnaissant spécifiquement la SOD 4) à l'échelle nanomolaire [12]. Dans ce projet, nous proposons d'augmenter la limite de détection et la sensibilité du bio-capteur en utilisant les GNR (propriétés optiques plus importantes que les sphères) ainsi que la technique SCS. La SCS permettra une détection rapide et sensible à la taille du bio-recepteur et permettra la mesure de l'interaction avec les molécules d'intérêt (par exemple: mesurer leur orientation, nombre par NP ainsi que l'affinité et la coopérativité de leur liaison). Des mesures SCS (préliminaires) sur l'effet de la concentration de la SOD sur des NPs sphériques fonctionnalisées avec des aptamères ont été réalisées dans l'équipe NBD. Ces résultats ont démontré la sensibilité de la SCS à l'interaction de deux différents aptamères avec les molécules de SOD.

Dans le cadre de ce projet, des GNR (remplaçant les NPs sphériques) seront fonctionnalisés avec des APT et incubés avec des protéines SOD 4 à différentes concentrations. La caractérisation des propriétés plasmoniques des bio-capteurs sera réalisée en collaboration avec le laboratoire de physique de lasers (LPL) (M. Chakaroun et A. Boudrioua, Institut Galilée). L'application des bio-capteurs pour la détection de la SOD sera réalisée au laboratoire CSPBAT en utilisant les deux techniques spectroscopiques SERS et SCS. Les résultats attendus sur la mesure de la limite de détection, la constante d'affinité de la SOD avec son aptamère seront d'une grande importance dans la détection et le diagnostic du cancer à des stades très précoces.

## Références bibliographiques

1. Liu, H.; Jiang, P.; Li, Z. H.; Li, X. W.; Djaker, N.; Spadavecchia, J. HIV-1 Tat Peptide-Gemcitabine Gold (III)-PEGylated Complex Nanoflowers: A Sleek Thermosensitive Hybrid Nanocarrier as Prospective Anticancer. *Particle & Particle Systems Characterization* 2018, 35.
2. Sultana, S.; Djaker, N.; Boca-Farcau, S.; Salerno, M.; Charnaux, N.; Astilean, S.; Hlawaty, H.; de la Chapelle, M. L. Comparative toxicity evaluation of flower-shaped and spherical gold nanoparticles on human endothelial cells. *Nanotechnology* 2015, 26.
3. Spadavecchia, J.; Perumal, R.; Casale, S.; Krafft, J. M.; Methivier, C.; Pradier, C. M. Polyethylene glycol gold-nanoparticles: Facile nanostructuring of doxorubicin and its complex with DNA molecules for SERS detection. *Chemical Physics Letters* 2016, 648.
4. Djaker, N.; Hostein, R.; Devaux, E.; Ebbesen, T. W.; Rigneault, H.; Wenger, J. Surface Enhanced Raman Scattering on a Single Nanometric Aperture. *Journal of Physical Chemistry C* 2010, 114, 16250-16256.
5. Mariani, S.; Scarano, S.; Spadavecchia, J.; Minunni, M. A reusable optical biosensor for the ultrasensitive and selective detection of unamplified human genomic DNA with gold nanostars. *Biosensors & Bioelectronics* 2015, 74, 981-988.
6. Rella, R.; Spadavecchia, J.; Manera, M. G.; Siciliano, P.; Santino, A.; Mita, G. Liquid phase SPR imaging experiments for biosensors applications. *Biosensors & Bioelectronics* 2004, 20, 1140-1148.
7. Hsieh, B. Y.; Chang, Y. F.; Ng, M. Y.; Liu, W. C.; Lin, C. H.; Wu, H. T.; Chou, C. Localized surface plasmon coupled fluorescence fiber-optic biosensor with gold nanoparticles. *Analytical Chemistry* 2007, 79, 3487-3493.
8. Hong, S.; Choi, I.; Lee, S.; Yang, Y. I.; Kang, T.; Yi, J., Sensitive and Colorimetric Detection of the Structural Evolution of Superoxide Dismutase with Gold Nanoparticles. *Analytical Chemistry* 2009, 81 (4), 1378-1382.
9. Djaker, N.; Sultana, S.; Issaad, D.; Boca, S.; Moustaooui, H.; Spadavecchia, J.; Medjahed, A.; Bouafia, M.; Astilean, S.; de la Chapelle, M. L. Spherical and Flower-Shaped Gold Nanoparticles Characterization by Scattering Correlation Spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry C* 2016, 120, 11700-11708.
10. Issaad, D.; Moustaooui, H.; Medjahed, A.; Lalaoui, L.; Spadavecchia, J.; Bouafia, M.; de la Chapelle, M. L.; Djaker, N. Scattering Correlation Spectroscopy and Raman Spectroscopy of Thiophenol on Gold Nanoparticles: Comparative Study between Nanospheres and Nanourchins. *Journal of Physical Chemistry C* 2017, 121, 18254-18262.
11. Moustaooui, H.; Saber, J.; Djeddi, I.; Liu, Q. Q.; Movia, D.; Prina-Mello, A.; Spadavecchia, J.; de la Chapelle, M. L.; Djaker, N. A protein corona study by scattering correlation spectroscopy: a comparative study between spherical and urchin-shaped gold nanoparticles. *Nanoscale* 2019, 11, 3665-3673.
12. R. Dekhili, K. Cherni, H. Liu, L. Xiawu, N. Djaker, J. Spadavecchia, Aptamer gold (III)-complex nanoparticles: A new way to detect Cu, Zn SOD glycoprotein. Soumis à ACS Sensors.

## Encadrement:

Directrice de thèse: Nadia Djaker (MCF, HDR, CSPBAT), [nadia.djaker@univ-paris13.fr](mailto:nadia.djaker@univ-paris13.fr) (0148388526)

## Profil souhaité :

Le candidat doit être titulaire (ou sur le point d'obtenir) d'un M2 Biologie-santé ou Physique appliquée à la biologie ou Physique-chimie. Il devra être rigoureux(se), motivé(e) pour travailler dans un domaine pluridisciplinaire à l'interface de la biologie, chimie et physique et devra faire preuve d'une certaine autonomie.