

## Nanobiologie : la révolution diagnostique

Céline Elie-Caille

Institut FEMTO-ST, CLinical & Innovation Proteomic Platform (CLIPP), UMR 6174 CNRS  
Université de Franche-comté, 25044 Besançon cedex

celine.caille@clipproteomic.fr

### **De la nanotechnologie ...**

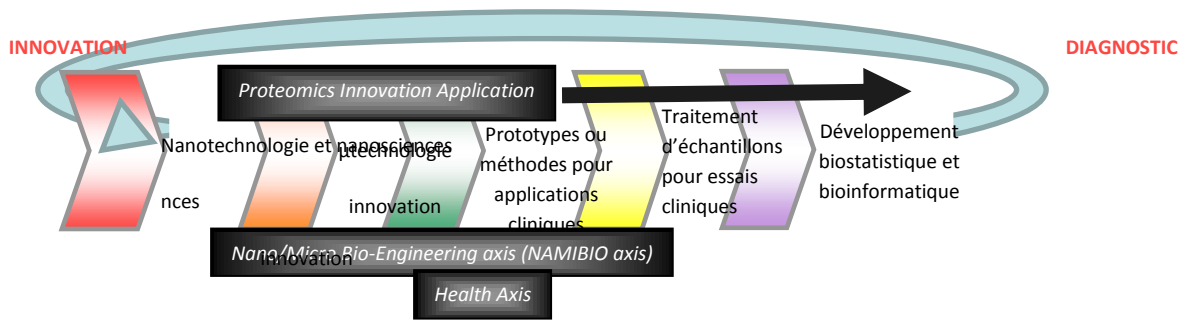
Les nanotechnologies recouvrent l'ensemble des techniques, outils et procédés qui permettent de manipuler la matière à une échelle en dessous de la centaine de nanomètres (1 nanomètre = 1 milliardième de mètre), d'élaborer de nouveaux matériaux et composants toujours plus petits, de construire atome par atome de nouvelles molécules et d'exploiter leurs propriétés en vue de nouvelles applications. Les nanotechnologies devraient constituer dans les prochaines années un marché considérable. À l'horizon 2015, 15% de l'activité manufacturière mondiale serait concernée par des dispositifs ou des matériaux utilisant des avancées issues des nanotechnologies. En 2008, le montant du marché mondial est estimé à 500 milliards de dollars et pourrait doubler en 2015, selon la *National science foundation*. Toutefois, les nanotechnologies suscitent également des inquiétudes. Manipuler la matière à l'échelle moléculaire et interférer avec le monde du vivant soulève des questions éthiques et sanitaires qui doivent être prises en considération par les pouvoirs publics et les acteurs concernés.

La nanotechnologie peut être considérée comme une évolution logique de la microélectronique dont l'objectif est la fabrication de circuits intégrés, familièrement appelés « puces électroniques » dont la référence en matériau de base est le silicium. À côté de la nanoélectronique industrielle a émergé la nanotechnologie moléculaire. Le but de cette dernière discipline est de pouvoir assurer un contrôle parfait sur la structure de la matière et de pouvoir construire des objets complexes avec une précision à l'échelle de l'atome ou de la molécule.

### **... aux nanoBIotechnologies...**

Un important challenge dans les dispositifs de BIOcapteurs et de diagnostic est de savoir comment reconstituer/étudier des mécanismes biologiques pertinents à la surface d'une biopuce et quels outils analytiques sont convenables pour fournir rapidement des informations justes sur la structure des molécules attachées à la surface. Un meilleur contrôle dans la réalisation de biopuces peut être obtenu en combinant différentes approches interdisciplinaires, avec pour préoccupation de répondre à une question clé biologique. Les recherches menées au sein de la plateforme CLIPP (Clinical & Innovation Proteomic Platform), rassemblant des compétences multidisciplinaires, sont focalisées sur cet objectif.

L'ensemble « conception, réalisation et caractérisation » de puces à protéines représente un des axes de recherche de la plateforme CLIPP. Nous développons différentes stratégies d'ingénierie/structuration de matériaux, de fonctionnalisation chimique et d'immobilisation de biomolécules qui conduit à l'optimisation d'évènements de reconnaissance et leur caractérisation à la surface de la puce. Dernièrement, nous avons développé une méthode simple pour la préparation de substrat d'or présentant des terrasses atomiquement planes, et permettant une caractérisation biomoléculaire à l'échelle nanométrique<sup>1</sup>. Le mode d'action du taxol sur les microtubules et les conséquences sur leur conformation a pu également être élucidé par observation par microscopie à force atomique (AFM) en conditions physiologiques<sup>2</sup>. Nous avons également développé des approches originales, consistant à combiner une analyse « globale » par Surface Plasmon Resonance (SPR) et un moyen de caractérisation à l'échelle nanométrique (AFM, Spectroscopie de Photo-électrons X, spectrométrie de masse (MS)). Nous avons en particulier démontré que l'orientation d'une protéine immobilisée en monocouche sur une surface, peut être déterminée par la détection de fragments secondaires spécifiques de la protéine par TOF-SIMS<sup>3</sup>. Ces développements ont contribué à l'établissement d'une nouvelle combinaison « Analyse des interactions Biomoléculaires / spectrométrie de masse (BIA-MS) basée sur une procédure totalement « on the chip »<sup>4</sup>. Nous proposons une approche bas coût combinant l'analyse sur un BIAcore 2000 sur puces synthétisées par nos soins (réalisation du substrat et greffage d'anticorps) avec l'identification par MS, directement sur la puce et sans étape d'éluion. Utilisant cette technique, l'identification de complexes protéiques a pu être obtenue, et permet ainsi de compléter l'approche BIA-MS dans la découverte et l'analyse de complexes protéiques. Dernièrement, ces développements ont été transposés à de l'analyse multiplexée sur micro-arrays. Les premiers résultats de détection de biomarqueurs dans du plasma s'avèrent être très prometteurs pour une approche diagnostic moyen/haut débit.



### Objectifs de la plateforme CLIPP

#### Références

- <sup>1</sup> Céline Elie-Caille, Jean-Yves Rauch, Alain Rouleau, Wilfrid Boireau (2009) Preparation of flat gold terraces for protein chip developments. *Micro & Nano Letters*, accepted.
- <sup>2</sup> Elie-Caille C, Severin F, Helenius J, Howard J, Muller DJ, Hyman AA (2007). Straight GDP-Tubulin Protofilaments Form in the Presence of Taxol. *Current Biology*, 17 (20), 1765-1770.
- <sup>3</sup> Aoyagi S., Rouleau A., Boireau W (2008) TOF-SIMS structural characterization of self-assembly monolayer of cytochrome b5 onto gold substrate. *Applied Surface Science*, 255 (4), 1071-1074.
- <sup>4</sup> Boireau W., Rouleau A., Lucchi G., Ducoroy P (2009) Revisited BIA-MS combination: Entire "on-a-chip" processing leading to the proteins identification at low femtomole to sub-femtomole levels. *Biosensors Bioelectronics*, 24, 1121-1127.