

Titre de la thèse: Nano-hybrides Metal/Silice/Carbure de Silicium à propriétés optiques linéaires et non linéaires exaltées pour l'imagerie cellulaire

Directeur de thèse et comité d'encadrement: Eliane SOUTEYRAND, Virginie MONNIER et Vladimir LYSENKO.

Début : Octobre 2013.

Mots-clefs : Nanoparticules, chimie colloïdale, biotechnologies, plasmonique, fluorescence, optique non linéaire.

Domaine et contexte scientifiques : L'imagerie cellulaire fluorescente est une technique non invasive permettant de mettre en évidence les cellules impliquées dans des processus pathologiques. Elle nécessite cependant un marquage préalable des cellules par des molécules fluorescentes. Le marquage est une étape-clé car son efficacité détermine le seuil inférieur de détection. Afin d'être efficaces, les marqueurs utilisés doivent donc avoir un fort rendement de fluorescence (taux d'émission radiative), cibler efficacement les cellules pathologiques et être non toxiques lorsqu'ils sont utilisés *in vivo*. Les **nanoparticules de carbure de silicium (SiC)** sont des marqueurs prometteurs car en plus de leur large domaine spectral de fluorescence, elles sont biocompatibles et inertes chimiquement [Botsoa 2008]. De plus, elles présentent une réponse en optique non linéaire, ce qui permet d'accéder au domaine spectral du proche infra-rouge dans lequel l'absorption des tissus biologiques est minimale [Bonacina 2013]. Elles ont cependant un rendement de fluorescence très faible (inférieur à 1%). Récemment, à l'Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL), nous avons montré qu'il était possible d'exalter la fluorescence des nanoparticules de SiC en plaçant à proximité une nanoparticule métallique [Sui 2012, Sui 2013]. Cet effet est dû à l'excitation de **plasmons localisés** générant des champs électriques très intenses à proximité de la nanoparticule métallique [Mertens 2007] à condition que la distance métal-émetteur fluorescent soit bien contrôlée [Lakowicz 2006]. Ainsi, nous avons élaboré et caractérisé des nanoparticules hybrides combinant un cœur d'or, une coquille de silice (espaceur) et des nanoparticules de SiC greffées en surface (Figure 1) présentant une fluorescence exaltée jusqu'à 2 ordres de grandeur par rapport au SiC seul [Sui 2012, Sui 2013].

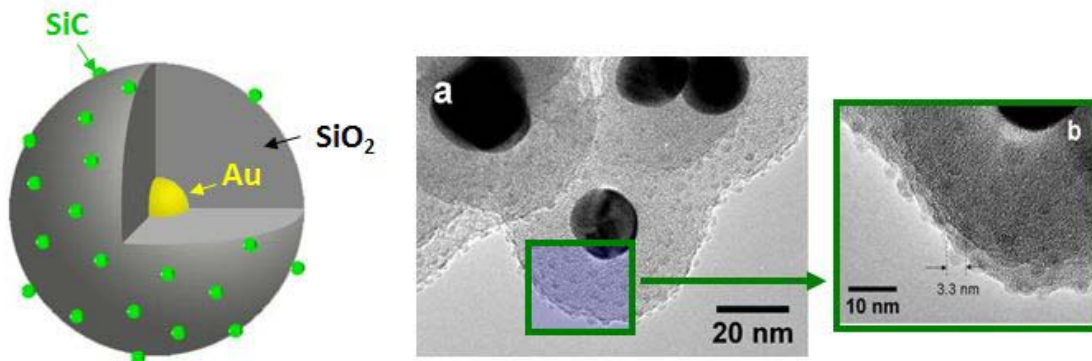


Figure 1. Schéma et image obtenue par microscopie électronique en transmission de nanoparticules hybrides Au/SiO₂/SiC.

Objectif de la thèse, verrous scientifiques et contribution originale attendue : Le but de cette thèse est d'utiliser ces nanoparticules hybrides comme marqueur pour une imagerie cellulaire efficace et ciblée. La coquille de silice sera utilisée comme plate-forme d'ancrage de biomolécules (anticorps capables de reconnaître spécifiquement les biomarqueurs exprimés à la surface de cellules tumorales, par exemple). Les verrous scientifiques identifiés sont : 1) le contrôle de la composition chimique et de la structure des nanoparticules hybrides afin d'optimiser le facteur d'exaltation des propriétés optiques, 2) la dispersion des nanoparticules hybrides en milieu biologique sans dégradation des propriétés optiques, 3) le ciblage de cellules en minimisant l'adsorption non spécifique. L'originalité de ce sujet de thèse réside dans l'élaboration d'une sonde biologique combinant uniquement des matériaux biocompatibles, présentant des propriétés optiques variées (linéaire et non linéaire) et capable d'atteindre spécifiquement des cibles cellulaires. Ces nouveaux marqueurs à propriétés optiques exaltées devraient permettre de diminuer les quantités à injecter *in vitro* puis éventuellement *in vivo*, tout en couvrant une large plage d'excitation et de détection.

Programme de recherche et démarche scientifique proposée : Le(la) doctorant(e) étudiera d'abord l'influence de plusieurs paramètres sur l'exaltation des propriétés optiques du SiC: diamètre et forme (sphère, bâtonnet) du cœur métallique, nature du métal (Au ou Ag) et épaisseur de la coquille de silice. Pour cette tâche, il(elle) utilisera des méthodes de synthèse chimique en solution (sol-gel, fonctionnalisation). Il(elle) analysera leurs propriétés structurales grâce aux outils de caractérisation disponibles à l'INL (MEB, spectroscopies UV-Vis et IR) ainsi que leurs propriétés optiques par spectroscopie de fluorescence stationnaire et résolue en temps et par microscopie à excitation biphotonique. Il(elle) testera ensuite l'efficacité de ces nano-hybrides optimisés comme sondes biologiques : incubation dans différents types de cellules, analyse de la distribution cellulaire par microscopie confocale de fluorescence et étude de la cytotoxicité. Enfin, les nano-hybrides seront fonctionnalisés afin de cibler spécifiquement des cellules cancéreuses. Pour cela, des antigènes spécifiques tumoraux seront immobilisés sur la silice par des méthodes de chimie de surface bien maîtrisées dans l'équipe « Chimie-Nanobiotechnologies » de l'INL [Trévisan 2010, Yang 2012]. Ces nano-hybrides biofonctionnalisés seront ensuite mis en présence de lignées cellulaires et l'efficacité du ciblage sera contrôlée au microscope confocal.

Encadrement scientifique, interactions et collaborations éventuelles : Le(la) doctorant(e) effectuera sa thèse dans l'équipe « Chimie et Nanobiotechnologies » de l'INL et sera encadré(e) par Eliane Souteyrand, Directrice de Recherche CNRS, et co-encadré(e) par Virginie Monnier, Maître de Conférence à l'Ecole Centrale de Lyon. Il(elle) travaillera également en interaction forte avec l'équipe « Spectroscopie et Nanomatériaux » de l'INL (Vladimir Lysenko et Jean-Marie Bluet) pour la spectroscopie de fluorescence, le groupe GAP-Biophotonics de l'Université de Genève (Luigi Bonacina) pour la microscopie biphotonique et le laboratoire CARMeN de l'INSA de Lyon (Alain Gélouën) pour l'incubation cellulaire.

Profil du candidat recherché : Master 2 Recherche et/ou diplôme d'ingénieur en chimie, physique ou matériaux. Le(la) candidat(e) devra aimer le travail expérimental et être capable de travailler à l'interface de plusieurs disciplines (chimie, physique et biologie).

Compétences développées au cours de la thèse et perspective professionnelle : En fin de thèse, le(la) doctorante aura acquis des compétences en synthèse chimique de nanoparticules et sera autonome sur plusieurs techniques de caractérisation microscopiques (MEB, microscopie confocale) et spectroscopiques (UV-Vis, IR, fluorescence). Il(elle) aura également appris à valoriser ses travaux sous forme de publications et de brevets (l'INL est lauréat national du Trophée de l'Innovation 2012 de l'INPI). Grâce à la multi-disciplinarité des techniques utilisées et aux nombreux collaborateurs avec lesquels il(elle) aura interagi pendant sa thèse, son profil sera tout à fait adapté pour un poste dans la recherche académique ou dans l'industrie.

Rénumération : Allocation de recherche MESR (1300 € net/mois). Possibilité d'obtenir une Mission Doctorale d'Enseignement (ex-Monitorat) pour un revenu total de 1650 € net/mois.

Contacts : Virginie MONNIER (04 72 18 62 39, virginie.monnier@ec-lyon.fr), Eliane SOUTEYRAND (04 72 18 62 35, eliane.souteyrand@ec-lyon.fr). **Merci de contacter ces 2 personnes simultanément.**

Références bibliographiques sur le sujet de thèse :

- [Bonacina 2013] Bonacina L, Nonlinear Nanomedicine: Harmonic Nanoparticles toward Targeted Diagnosis And Therapy, *Molecular Pharmaceutics*, 2013, sous presse (DOI: 10.1021/mp300523e).
- [Botsoa 2008] Botsoa J, Lysenko V, Gélouën A, Marty O, Bluet JM, Guillot G., Application of 3C-SiC quantum dots for living cell imaging, *Applied Physics Letters*, 2008; 92, p. 173902.
- [Lakowicz 2006] Lakowicz JR. Plasmonics in Biology and Plasmon-Controlled Fluorescence, *Plasmonics* 2006; 1, p. 5.
- [Mertens 2007] Mertens H, Koenderink AF, Polman A, Plasmon-enhanced luminescence near noble-metal nanospheres, *Physical Review B*, 2007; 76, p. 115123.
- [Sui 2012] Sui N, Monnier V, Zakharko Y, Chevolot Y, Alekseev S, Bluet JM, Lysenko V, Souteyrand E, Plasmon-controlled narrower and blue-shifted fluorescence emission in (Au@SiO₂)SiC nanohybrids, *Journal of Nanoparticle Research*, 2012; 14, p. 1004.
- [Sui 2013] Sui N, Monnier V, Zakharko Y, Chevolot Y, Alekseev S, Bluet JM, Lysenko V, Souteyrand E, Fluorescent (Au@SiO₂)SiC Nanohybrids: Influence of Gold Nanoparticle Diameter and SiC Nanoparticle Surface Density, *Plasmonics*, 2013; 8, p. 85.
- [Trévisan 2010] Trévisan M, Schawaller M, Quapil G, Souteyrand E, Mérieux Y, Cloarec JP, Evanescent wave fluorescence biosensor combined with DNA bio-barcode assay for platelet genotyping, *Biosensors and Bioelectronics*, 2010; 26, p. 1631.
- [Yang 2012] Yang Z, Chevolot Y, Ataman-Önal Y, Choquet-Kastylevsky G, Souteyrand E, Laurenceau E, Cancer biomarkers detection using 3D microstructured protein chip: Implementation of customized multiplex immunoassay, *Sensors and Actuators B*, 2012; 175, p. 22.