

# NANOBIODETECTEUR

D. Stiévenard, B. Grandier, B. Salhi, J.P. Nys, X. Tao, IEMN, UMR 8520, Cité Scientifique, BP60069, 59652 Villeneuve d'Ascq  
 O. Melnyk, N. Olivier, A. Blanpain, R. Desmet IBL, UMR8161, 1 rue du Prof. Calmette, 59021 Lille  
 R. Boukherroub, Y. Coffinier IRI, USR 3078, c/o IEMN, Cité Scientifique, BP60069, 59652 Villeneuve d'Ascq

## OBJECTIFS

Le projet (Janv. 2007-Déc. 2009) concerne la synthèse et la fonctionnalisation chimique de nanofils de silicium pour l'élaboration de nanocapteurs pour des applications en nanobiosciences.

Le projet comporte plusieurs volets :

- 1 - Réalisation d'une croissance SLS localisée de nanofils entre électrodes
- 2 - Fonctionnalisation chimique et immobilisation de peptides
- 3 - Détection d'interactions biomoléculaires par voie électrique dans un sérum

## Plannin

**Tâche 1 : 0-6 mois** Réalisation des électrodes pour un prototype et pour une intégration

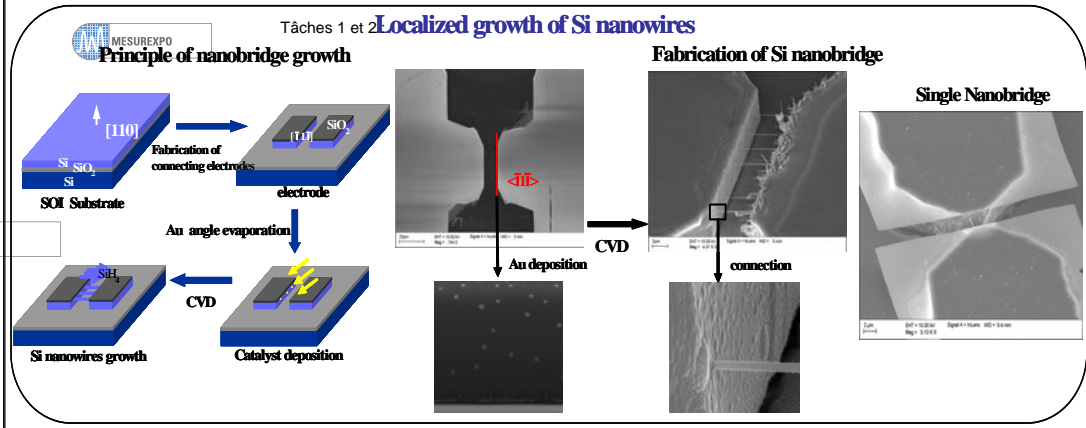
**Tâche 2 : 6-36 mois** Croissance pleine plaque et localisée des fils silicium

**Tâche 3 : 6-18 mois** Synthèse de peptides et fonctionnalisation chimique  
 3.1. Pleine plaque  
 3.2. Nanofils

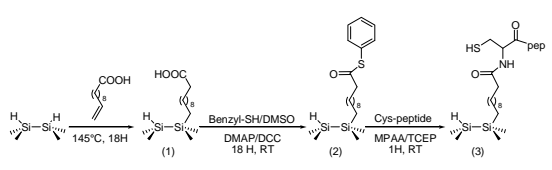
**Tâche 4 : 6-18 mois** Caractérisation : FTIR, XPS, Fluorescence  
 4.1. Pleine plaque  
 4.2. Nano fils avec peptides

**Tâche 5 : 18-36 mois** Démonstration et optimisation de la sensibilité de détection de la fragmentation enzymatique de l'héparine

**Tâche 6 : 24-36 mois** Détection d'héparanase dans un milieu complexe (surnaçant de cellules) – Prototype fonctionnel



### Tâche 3 : Stratégie d'immobilisation de peptides via la ligation native sur substrat de nanofils Si hydrogéné



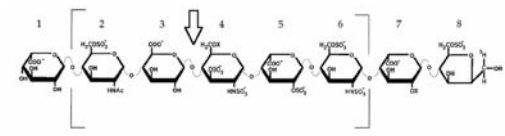
Le tableau ci-dessous montre les résultats des analyses XPS, en pourcentage de l'aire totale des surfaces de nanofils, des différentes étapes pour la ligation des peptides CysLK'(p-CF<sub>3</sub>, PhCH<sub>3</sub>CO)EPVHG-NH<sub>2</sub> et l'expérience de contrôle avec le peptide SerLK'(CF<sub>3</sub>)EPVHG-NH<sub>2</sub> (contrôle négatif).

Surface	Si2p	O1s	C1s	S2s	N1s	F1s	Na1s
SiNW-COOH (1)	50	22	28	-	-	-	-
SiNW-CO-SPh (2)	44.5	17	37	1.34	-	-	-
SiNW-CO-CYS (3)	28	21.5	38.5	1.06	4	1.7	5.2
SiNW-CO-SER contrôle	40.9	20	34.5	0.72	1.12	0.06	2.8

L'analyse du spectre XPS de la surface de nanofils Si terminée par la fonction acide carboxylique montre la présence des seuls éléments : Si, C et O (SiNW-COOH). Après couplage chimique de la fonction acide terminale avec le benzylthioester, il y a apparition d'une nouvelle composante due au S2s (SiNW-CO-SPh). Après incubation de ces surfaces avec les peptides, on peut remarquer la présence de fluor (F1s) pour la surface SiNW-CO-CYS. Ceci est en accord avec l'immobilisation covalente du pep-CYS-CF<sub>3</sub> sur ces nanofils. Il est à noter que, concernant le pep-SER-CF<sub>3</sub> (contrôle négatif), il y a apparition de traces de fluor correspondant à une possible physisorption du peptide contrôlé. Ces résultats nous prouvent que l'on a bien une immobilisation chimio sélective du pep-Cys-CF<sub>3</sub> sur la surface de nanofils activée par le groupement thioester.

### Tâche 5 : Objectif de détection

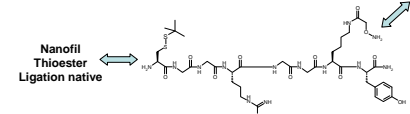
L'héparanase est une enzyme impliquée dans la formation de métastases. Elle dégrade les héparanase sulfates qui constituent la matrice extracellulaire, et ainsi favorise la migration des cellules tumorales. Nous allons greffer de l'héparine sur les nanofils et suivre la dégradation de cette molécule par l'enzyme *in situ* par mesures électriques. L'héparine est une molécule fortement chargée (-2 sulfates par unité glucosidique). La dégradation enzymatique va donc induire une perte de charges importante à la surface du nanofil. Avant d'étudier l'héparanase, nous allons caractériser le système avec l'héparanase, une enzyme d'origine bactérienne qui est un bon modèle de l'héparanase.



L'héparinase hydrolyse les liaisons b-D-Glucuroniques

#### Méthodologie

La liaison de l'héparine aux nanofils est basée sur l'utilisation d'un peptide bifonctionnel, qui réagit par la cystéine N-terminale avec les thioesters de surface, et par le groupement aminoxycetyl avec l'extrémité réductrice des polysaccharides. L'arginine centrale permettra de réaliser une coupure trypsique contrôlée, qui conduira au détachement de la molécule d'héparine (3000 g/mol) par la liaison oxime.



Ce peptide a été synthétisé avec succès. La liaison oxime de ce peptide à un sucre (lactose) est quantitative

#### Perspectives

Lorsque le système aura été caractérisé avec l'héparinase, nous allons étudier l'activité héparanase sur l'enzyme purifiée ou dans le surnaçant de cellules saines ou cancéreuses