

PROPOSITION DE PROJET DOCTORAL RENTRÉE OCTOBRE 2020

Développement de supports solides fonctionnalisés par des aptamères pour l'analyse d'ions présents à l'état de trace dans des échantillons complexes

Mots clés : chimie analytique, traitement de l'échantillon, aptamères, ions

Résumé du projet (10 lignes max., ce résumé servira à la mise en ligne)

Les aptamères sont des simples brins d'ADN ou d'ARN synthétiques de quelques dizaines de nucléotides qui sont capables de fixer spécifiquement un ligand qui peut être une molécule ou un ion. Différents aptamères ayant chacun une grande affinité pour un ion donné seront immobilisés sur des supports solides pour extraire, concentrer et purifier les ions avant leur analyse en spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif. Les protocoles d'extraction sélective des ions ciblés (Pb^{2+} , Cd^{2+} et Hg^{2+}) contenus initialement à l'état de traces dans des échantillons environnementaux complexes (eaux et extraits de sols) seront optimisés et les performances des oligosorbants ainsi obtenus seront caractérisées et comparées pour la première fois à celles des polymères à empreintes ioniques. La miniaturisation de ces supports sera également étudiée.

CONTEXTE SCIENTIFIQUE GÉNÉRAL.

Les aptamères sont de simples brins d'ADN ou d'ARN synthétiques de quelques dizaines de nucléotides qui sont capables de fixer spécifiquement et avec une grande affinité un ligand qui peut être une molécule ou un ion. Cette propriété peut être mise à profit dans le traitement de l'échantillon, en particulier en extraction sur phase solide (SPE) [1]. En effet, des supports fonctionnalisés par des aptamères, dits oligoadsorbants, permettent d'extraire et de préconcentrer sélectivement un composé avant son analyse. Ceci permet d'améliorer très sensiblement la sensibilité de la méthode analytique globale, même lorsque des détecteurs aussi performants qu'un spectromètre de masse sont utilisés puisqu'ils sont sensibles aux effets de matrice.

Jusqu'à présent, les études alliant aptamères et SPE publiées au niveau international et les travaux réalisés au laboratoire concernant les oligoadsorbants ont quasi-exclusivement ciblé des molécules [1-6]. Or, des aptamères spécifiques d'ions ont également été décrits et utilisés pour développer des capteurs [7], mais très rarement pour faire du traitement de l'échantillon [8]. Ainsi, la fonctionnalisation de supports solides avec un aptamère spécifique d'un ion pour mettre en œuvre une extraction sur phase solide sélective de cet ion contenu initialement à l'état de trace dans des échantillons complexes serait innovante. De plus, les performances de ces nouveaux supports seront comparées pour la première fois à celles obtenues avec des polymères à empreintes ioniques, qui constituent un autre savoir-faire du laboratoire (une thèse soutenue et deux autres en cours sur cette thématique (M. Boudias et P. Cao) [9,10]. Enfin, la miniaturisation de ces oligoadsorbants apporterait un aspect innovant supplémentaire à ce projet, puisque ceci n'a déjà été réalisé que par 2 équipes dans le monde, dont celle du laboratoire, et pour extraire non pas des ions mais des molécules [2,11].

[1] V. Pichon *et al.*, Aptamer-based-sorbents for sample treatment – a review, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 681

[2] F. Brothier and V. Pichon, Miniaturized DNA aptamer-based monolithic sorbent for selective extraction of a target analyte coupled on-line to nanoLC, *Anal. Bioanal. Chem.* 30 (2014) 7875

[3] A. Wassim Hadj and V. Pichon, Characterization of oligosorbents and application to the purification of ochratoxin A from wheat extracts, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 1233

[4] V. Pichon and coll., Novel extraction supports based on immobilized aptamers: evaluation for the selective extraction of cocaine, *Talanta* 85 (2011) 616

- [5] V. Pichon and coll., New extraction sorbent based on aptamers for the determination of ochratoxine A in red wine, *Anal. Bioanal. Chem.* 400 (2011) 1199
- [6] V. Pichon and coll., Determination of cocaine in human plasma by selective solid-phase extraction using an aptamer-based sorbent, *Anal. Chem.* 81 (2009) 7081
- [7] F. Li *et al.*, Electrochemical aptamer-based sensors for food and water analysis: a review, *Anal. Chim. Acta* 1051 (2019) 1
- [8] Y.-K. Li *et al.*, Functionalized magnetic composites based on the aptamer serve as novel bio-adsorbent for the separation and preconcentration of trace lead, *Talanta* 203 (2019) 210
- [9] V. Pichon and coll., Potential of ion imprinted polymers synthesized by trapping approach for selective solid phase extraction of lanthanides, *Talanta*, 161 (2016) 459
- [10] V. Pichon and coll., Selective solid phase extraction of lanthanides from tap and river waters with ion imprinted polymers, *Anal. Chimica Acta*, 963 (2017) 44
- [11] A. Marechal *et al.*, In-line coupling of an aptamer based miniaturized monolithic affinity preconcentration unit with capillary electrophoresis and laser induced fluorescence detection, *J. Chromatogr. A* 1406 (2015) 109

Description des différents objectifs et de la stratégie envisagée pour les atteindre.

Le premier objectif est d'immobiliser des aptamères spécifiques d'un ion sur un support solide afin d'extraire par SPE en format usuel (quelques dizaines de mg de phase solide introduits dans une cartouche) cet ion contenu à l'état de trace dans un échantillon complexe avant son analyse par spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS). Les aptamères seront produits à façon par des sociétés spécialisées à partir de séquences déjà décrites dans la littérature, puis immobilisés selon les protocoles déjà mis en œuvre par le passé au laboratoire. Trois ions pour lesquels des aptamères ont été décrits seront ciblés : Cd(II), Hg(II) et Pb(II) [12-14]. Chaque support sera caractérisé par l'étude de sa sélectivité, c'est à dire son aptitude à extraire l'ion cible par rapport à un oligoadsorbant fonctionnalisé par un aptamère non spécifique de l'ion cible, et de sa spécificité, c'est-à-dire son aptitude à extraire l'ion cible par rapport à d'autres ions dits interférents susceptibles d'être présents dans l'échantillon. L'étude de différents paramètres, tels que la capacité, les volumes de fin de fixation ou les interactions non spécifiques, permettra d'optimiser les protocoles d'extraction et de déterminer alors les rendements d'extraction et facteurs d'enrichissement. Ces mesures seront tout d'abord faites avec des milieux purs dopés puis avec des échantillons réels dopés ou certifiés (eaux environnementales et extraits de sols). Les performances de ces oligoadsorbants seront alors comparées à celles obtenues avec des polymères à empreintes ioniques qui sont actuellement en cours de synthèse et de caractérisation au laboratoire dans le cadre de l'ANR Surimi (AAP 2018, thèse P. Cao). Toutes les analyses seront faites après extraction par ICP-MS, équipement déjà présent au laboratoire.

Ensuite, la miniaturisation de ces supports sera étudiée. Les aptamères seront alors greffés sur des supports solides monolithiques synthétisés directement dans des capillaires de quelques dizaines de micromètres de diamètre interne. La miniaturisation des oligoadsorbants a déjà été étudiée au LSABM en synthétisant un monolithe par voie Sol-gel [2]. Une approche de synthèse par voie organique sera alors envisagée dans le but d'améliorer la robustesse de la synthèse. D'autres paramètres tels que la perméabilité, la surface spécifique ou la taille des pores sur les propriétés d'extraction seront étudiés. Des applications à des échantillons réels seront faites une fois les protocoles d'extraction optimisés.

- [12] S. M. Taghdisi *et al.*, An electrochemical aptasensor based on gold nanoparticles, thionine and hairpin structure of complementary strand of aptamer for ultrasensitive detection of lead, *Sensor Act. B* 234 (2016) 462
- [13] H. Abu-Ali *et al.*, Development of novel and highly specific ssDNA-aptamer-based electrochemical biosensor for rapid detection of Mercury (II) and Lead (II) ions in water, *Chemosensors* 7 (2019) 27
- [14] H. R. Lotfi Zadeh Zhad *et al.*, A reagentless and reusable electrochemical aptamer-based sensor for rapid detection of Cd(II), *J. Electroanal. Chem.* 803 (2017) 89

Directeur de thèse : Professeure Valérie PICHON, valerie.pichon@espci.fr; **Tél.** : 01 40 79 47 72, Laboratoire de Sciences Analytiques Bioanalytiques et Miniaturisation, UMR Chimie, Biologie et Innovation 8231, ESPCI Paris, PSL Université, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris