



Ampère

Unité Mixte de Recherche du CNRS - UMR 5005

Génie Electrique, Automatique, Bio-ingénierie

Propriétés diélectriques de biomatériaux

Laboratoire concerné : Laboratoire AMPERE

Partenariat : laboratoire d'Ingénierie des Matériaux Polymères de Lyon UMR5223 (IMP)

Département concerné : Bioingénierie

Thématique : T2, thématique transverse : Biomicrosystèmes, Bioélectrochimie et Bioélectromagnétisme.

Domaine et contexte scientifiques

Domaines scientifiques : biologie structurale, biophysique et nanomatériaux diélectriques.

Contexte :

Il s'agit de développer une technique de caractérisation structurale des protéines apportant deux innovations :

- Caractérisation à l'échelle d'une seule molécule de protéine (échelle globale)
- Caractérisation à l'échelle de l'acide aminé (échelle locale)

Cette échelle de caractérisation structurale est nécessaire pour comprendre comment les fonds génétiques, i.e. les variations de compositions en acides aminés entre individus pour une même protéine, participent à la résistance aux traitements médicamenteux ou encore à l'apparition de certaines maladies (Cancers, Alzheimer, etc.).

Le sujet propose comme solution :

- De déposer les échantillons de protéines dans des pores pouvant contenir au plus une à quelques molécules de protéine (caractérisation structurale d'une molécule de protéine).
- Identifier les changements structuraux d'une protéine via la mesure d'un signal diélectrique dans ces pores par spectroscopie diélectrique large bande. Les transitions de phase sont détectées via l'analyse de la dérivé première de la permittivité alors que la dynamique moléculaire l'est par l'analyse de la dérivé seconde (pertes de permittivité).

Ces mesures diélectriques sur une quantité de matière de l'ordre de l'attogramme (10^{-18} g) explorent aussi un champ nouveau dans le diélectrique.

Mots-clefs

Protéine, propriétés diélectriques, nanomatériaux.

Objectifs de la thèse

Il s'agit de mesurer la réponse diélectrique des protéines en milieu confiné (pore de volume nanométrique, i.e. de la taille d'une protéine), de déterminer si cette réponse peut être utilisée comme nouvelle mesure physique des structures protéiques de l'échelle nanométrique à l'angström, et si elle démontre un potentiel d'utilisation des protéines comme nanomatériaux diélectriques innovants.

Verrous scientifiques

Les difficultés du projet sont de trouver les conditions pour faire des mesures diélectriques sur protéine puis d'établir la relation entre la réponse diélectrique de l'échantillon et la structure de la protéine. Les grands verrous sont donc:

- préparation des échantillons :
 - o problème de nanofluidique : dépôt des échantillons dans des pores de l'ordre du nanomètre
 - o Intégrité structurale des échantillons: les protéines maintiennent leur structures en milieu aqueux alors que les mesures diélectriques nécessitent l'évaporation de l'eau. Il faut donc déterminer des solutions permettant de faire des mesures diélectriques (sans eau) conservant l'intégrité structurale de la protéine.
- Interprétation des mesures diélectriques :
 - o Etablir une relation entre la structure (forme, taille, composition en acide aminé) de la protéine et le signal diélectrique mesuré (permittivité ϵ') et (permittivité ϵ'').

On testera différentes solutions modulant la structure de la protéine, différentes compositions en acides aminés, différentes protéines afin d'affecter la réponse diélectrique qui dépend à la fois de la composition chimique du matériau et de sa structure physique.

De plus, on étudiera les mêmes échantillons par des méthodes biophysiques et biochimiques classiques pour déterminer l'état structurel et fonctionnel des protéines à l'échelle macroscopique (i.e. en solution).

Contributions originales attendues

Contribution en ingénierie des matériaux

Les protéines, caractérisées essentiellement en solution, sont des matériaux fragiles en termes d'ingénierie. En effet, elles offrent un fort potentiel par exemple en tant que capteurs mais leur faible stabilité les rend peu fiable. La thèse explorera les performances structurales des protéines en milieu confiné et sec, afin de déterminer si ainsi leur potentiel comme nanomatériaux est meilleur.

Les propriétés diélectriques des matériaux à l'échelle nanométrique sont peu étudiées, les résultats seront donc originaux. Ils ouvriront peut être de nouvelles perspectives dans le domaine diélectrique pour l'appareillage haute ou basse tension.

Contribution en biophysique

De plus, il n'existe à ce jour aucune technique capable de caractériser structurellement une protéine de l'échelle nanométrique (une protéine unique) à l'échelle de l'Angström (un acide aminé). Les mesures diélectriques offrent cette possibilité via les permittivités, i.e. la polarisation dans le matériau, ϵ' (transition de phase) et ϵ'' (dynamique moléculaire).

Contribution en santé publique

Ces échelles de caractérisations structurales sont nécessaires au développement de thérapies personnalisées pour soigner les maladies génétiques, qui surviennent après modification de seulement quelques acides aminés. Le projet permettra de proposer des kits de diagnostics structuraux (pores nanométriques) pour classer les performances d'une protéine face aux perturbations génétiques comme :

Mutations fragiles (Défauts) : perte de structure se traduisant par une absence de signal diélectrique

Mutations robustes : maintien de la structure se traduisant par un signal diélectrique proche de la protéine sans mutation

Mutations adaptées : modification de la structure (nouvelle structure sous jacent l'adaptabilité) se traduisant par un signal diélectrique différent de la protéine sans mutation.

Programme de recherche et démarche scientifique proposée

Le programme est focalisé autour de la préparation des échantillons et l'analyse des résultats.

Préparation des échantillons- Le but est de tester si une mesure diélectrique permet de caractériser structurellement une protéine et si oui jusqu'à quelle échelle, locale : acides aminés et atomes (angström), et globale : protéines (nanomètre). A cette fin des solutions de protéines seront déposées dans des pores nanométriques et évaporées afin d'effectuer des mesures diélectriques par spectroscopie diélectrique à large bande (sans eau). La faisabilité de la mesure nécessite d'identifier les solutions volatiles supportées par les

protéines i.e. conservant une structuration tridimensionnelle ou la modifiant localement (échelle d'un acide aminé). De plus, il faudra déterminer une technique permettant le dépôt des protéines dans des pores de l'ordre d'une dizaine de nanomètre de diamètre pour effectuer des mesures sur quelques molécules de protéines (problème de nanofluidique). Il faudra faire varier le confinement en utilisant des pores de tailles différentes pour descendre à l'échelle de la protéine unique.

Interprétation des mesures- Les protéines seront analysées par des méthodes biophysique (structure) et biochimique (fonction) après avoir subies un traitement identique à celui utilisé pour les mesures diélectriques afin de connaître leur état structural. Les mesures se feront sur des protéines de structures physiques différentes et de compositions chimiques différentes afin de cerner la relation réponse diélectrique et structure. Si les mesures diélectriques sur protéines réussissent, nous ouvrirons aussi le travail sur d'autres échantillons biologiques : sucres et lipides.

Prévention et sécurité

Les moyens expérimentaux sont déjà installés, et ne nécessitent pas de nouvelles analyses des risques. Seule une formation à la santé et à la sécurité au travail est nécessaire, aucune habilitation particulière.

Encadrement scientifique :

1. Comité d'encadrement

Hervé MOREL (laboratoire AMPERE) : 10%, Directeur de thèse

Claire Lesieur (Laboratoire AMPERE) : 50 %, co-encadrement, expertise en biophysique et biologie structurale des protéines.

Anatoli Serghei (Laboratoire IMP (Ingénierie des Matériaux Polymères) : 40 %, co-encadrement, expertise en nanomatériaux polymères chimiques et mesures diélectriques.

2. Justification du comité d'encadrement constitué de trois membres

Claire Lesieur a obtenu l'autorisation de soutenir son HDR. Après son obtention (1^{er} Septembre 2017), le comité d'encadrement sera constitué d'Anatoli Serghei et Claire Lesieur.

3. Intégration au sein du (ou des) laboratoire(s) (Département/Priorité(s) impliqué(s)) (pourcentage du temps travail au sein de ce ou ces laboratoire(s))

Le projet s'intègre dans le département Bioingénierie du laboratoire AMPERE et sa thématique T2, Biomicrosystèmes, Bioélectrochimie et Bioélectromagnétisme.

Ce département s'occupe de l'étude des biomicrosystèmes (cellules) avec par exemple comme objectif l'intégration de biocapteurs électrochimiques dans des dispositifs de diagnostic « point of care » (objectif en santé publique).

De manière similaire, le projet s'occupe de l'étude des bionanosystèmes (protéines, objets habitant dans une cellule) avec la aussi des objectifs en santé publique. Le développement d'une nouvelle technique de biophysique permettra de caractériser la structure d'une protéine unique et de distinguer des structures différentes de quelques acides aminés (échelle locale). En d'autres termes, on accèdera, pour une même protéine, aux différences structurales entre individus de fonds génétiques variables (mutations). Les fonds génétiques sont responsables des différences de réactivité face aux traitements médicamenteux et à l'apparition ou non de certaines maladies (cancers, Alzheimer, etc.). Connaître l'impact de la variabilité génétique sur la structure d'une protéine est nécessaire pour comprendre comment les fonds génétiques protègent ou au contraire fragilisent un humain vis à vis d'une maladie ou d'un traitement.

Ainsi, le projet s'intègre dans la thématique T2 par un travail à l'échelle nanométrique visant aussi à des objectifs en termes de santé publique.

4. Partenariat avec l'IMP :

Anatoli Serghei s'occupera de la partie diélectrique (40 %) du projet alors que Claire Lesieur dirigera la partie biophysique et biochimique, l'analyse des données (diélectriques et biophysique) et l'interprétation des résultats (60 %).

Financement de la thèse (origine, employeur, montant, durée du financement, etc.)

1. Contrat unique de 3 ans
2. L'employeur est une tutelle
3. Oui, le candidat souhaite faire du monitorat

Objectifs de valorisation des travaux de recherche :

1. Forme : publication, brevets, autres

Deux publications dans des revues internationales.

Une participation annuelle à une conférence nationale ou internationale.

Cette thèse, exploratoire, a pour objectif de mesurer une réponse diélectrique d'attogramme de matière protéique (une molécule de protéine), mesure jamais réalisée auparavant.

Nous espérons des applicabilités en développement thérapeutiques via la mise en place de kits de diagnostic structural. Les informations structurales seraient obtenues à partir de très petites quantités de protéines pures via une plateforme de service par exemple.

Suite à cette thèse, nous envisagerons d'utiliser les protéines pour fonctionnaliser des fibres textiles en partenariat avec Pierre Yves Suchail de l'entreprise Moulinage du Solier à Saint Etienne.

2. Volume de publications (conférence/revues, etc), brevets, autres

Trois conférences.

Deux publications.

3. Contraintes de confidentialité éventuelle

Aucune

4. Calendrier prévisionnelle (même très prospectif) : quoi en année 1, quoi en année 2, quoi en année 3

Année 1 : conférence (poster)

Année 2 : 1 publication, 1 conférence (poster)

Année 3 : 1 publication, 1 conférence (présentation orale)

Profil du candidat recherché (prérequis)

Master 2 en biochimie structurale, ou en physique chimie moléculaire, ou en physique, ou en biophysique ou en science des matériaux

Compétences qui seront développées au cours du doctorat

Compétences expérimentales : chimie (préparation des pores), biochimie, biophysique, nano diélectrique.

Compétences autres : analyses de données, anglais lu, parlé écrits, bioinformatique

Perspectives professionnelles après le doctorat

Carrière académique ou carrière dans l'industrie (Industrie pharmaceutique ou industrie des matériaux polymères).

Références bibliographiques sur le sujet de thèse

1. Achoch, M. *et al.* Protein structural robustness to mutations: an in silico investigation. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 13770–13780 (2016).
2. Vuillon, L. & Lesieur, C. From local to global changes in proteins: a network view. *Curr Opin Struct Biol* **31**, 1–8 (2015).
3. Tacnet, P. *et al.* Trimeric reassembly of the globular domain of human C1q. *Biochim Biophys Acta* **1784**, 518–29 (2008).
4. Serghei, A., Zhao, W., Miranda, D. & Russell, T. P. Curie transitions for attograms of ferroelectric polymers. *Nano Lett* **13**, 577–80 (2013).