



**HAL**  
open science

# Nanoparticules d'or pour les biocapteurs : lecture optique de la reconnaissance moléculaire

Souhir Boujday, Michèle Salmain

► **To cite this version:**

Souhir Boujday, Michèle Salmain. Nanoparticules d'or pour les biocapteurs : lecture optique de la reconnaissance moléculaire. *Photoniques*, 2021, 106, pp.39-43. 10.1051/photon/202110639 . hal-03150625

**HAL Id: hal-03150625**

**<https://hal.science/hal-03150625>**

Submitted on 23 Feb 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

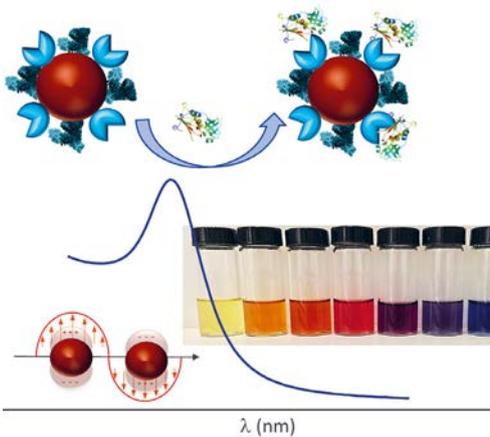
# NANOPARTICULES D'OR POUR LES BIOCAPTEURS : LECTURE OPTIQUE DE LA RECONNAISSANCE MOLÉCULAIRE

**Souhir BOUJDAY<sup>1</sup> et Michèle SALMAIN<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Sorbonne Université, CNRS, Laboratoire de Réactivité de Surface (LRS) – 4 place Jussieu – F-75005 Paris – France.

<sup>2</sup> Sorbonne Université, CNRS, Institut Parisien de Chimie Moléculaire (IPCM) – 4 place Jussieu – F-75005 Paris – France.

souhir.boujday@sorbonne-universite.fr – michele.salmain@sorbonne-universite.fr



**Les propriétés extraordinaires des nanoparticules d'or et/ou d'argent en ont fait des objets courtisés par les scientifiques toutes disciplines confondues. L'intensité de leur couleur ainsi que leur grande sensibilité optique au milieu environnant en font de puissants transducteurs pour les biocapteurs ; que ce soit grâce à des spectrophotomètres ou simplement par observation à l'œil nu. Elles assurent la lecture de la reconnaissance moléculaire via des scénarios variés alliant simplicité et faible coût.**

<https://doi.org/10.1051/photon/202110639>

Article publié en accès libre sous les conditions définies par la licence Creative Commons Attribution License CC-BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), qui autorise sans restrictions l'utilisation, la diffusion, et la reproduction sur quelque support que ce soit, sous réserve de citation correcte de la publication originale.

**L**es colloïdes de métaux nobles comme l'or, l'argent et leurs alliages exercent une fascination certaine du fait de leur couleur intense balayant tout le spectre visible et le proche infrarouge. Cette propriété optique est due au phénomène de résonance de plasmons de surface localisés (LSPR) qui induit, entre autres conséquences, deux caractéristiques spectrales remarquables : d'une part, une absorptivité élevée avec un coefficient d'extinction molaire au minimum 10000 fois supérieur à ceux des pigments organiques ( $1 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

pour la chlorophylle contre *ca.*  $1 \times 10^9$  pour des nanosphères d'or de 13 nm). Cette propriété permet de détecter ces nanoparticules à des concentrations ultra-faibles, ce qui rend possible, moyennant une association à des biorécepteurs, la lecture visuelle de la présence d'une cible sans nécessité de passer par un laboratoire d'analyse. Cette propriété est d'ailleurs actuellement mise à profit dans les tests antigéniques et sérologiques rapides destinés au diagnostic du COVID-19. D'autre part, la position de la bande LSPR des nanoparticules métalliques est sensible à divers paramètres qui permettent de

l'exploiter pour concevoir des dispositifs analytiques de formats variés tels que les biocapteurs. Les biocapteurs sont des outils analytiques associant intimement un biorécepteur à un transducteur qui convertit la reconnaissance moléculaire entre le biorécepteur et la cible en un signal physique quantifiable, généralement de nature électrique ou optique. Le choix du biorécepteur dépend évidemment de la nature chimique de la cible. Pour des cibles de type protéine, le biorécepteur est préférentiellement un anticorps ; pour des petites molécules, il peut être une enzyme, un anticorps ou un aptamère. Enfin ●●●

si la cible est un acide nucléique (ADN or ARN), le biorécepteur sera une séquence d'ADN complémentaire.

L'association des nanoparticules plasmoniques aux biorécepteurs n'est pas triviale, la liaison doit être forte et stable pour assurer le bon fonctionnement du biocapteur, mais elle doit également préserver la structure, souvent fragile, ainsi que l'orientation du biorécepteur, toutes deux primordiales pour qu'il assure sa fonction de reconnaissance moléculaire.

### FORME ET COULEUR DES NANOPARTICULES PLASMONIQUES

La synthèse de nanoparticules plasmoniques de forme sphérique est extrêmement aisée à réaliser et se déroule souvent en une étape unique en partant du précurseur métallique et d'agents assurant le double rôle de réducteur et de stabilisant, comme montré sur la figure 1a. Michael Faraday en 1857 a été l'auteur de la première description scientifique documentée d'une synthèse de nanosphères colloïdales d'or à partir d'un sel d'or et de phosphore blanc. Plus d'un siècle plus tard, John Turkevich en 1951 décrit la synthèse à partir de sel d'or et d'ions citrate dont le ratio permettait de moduler

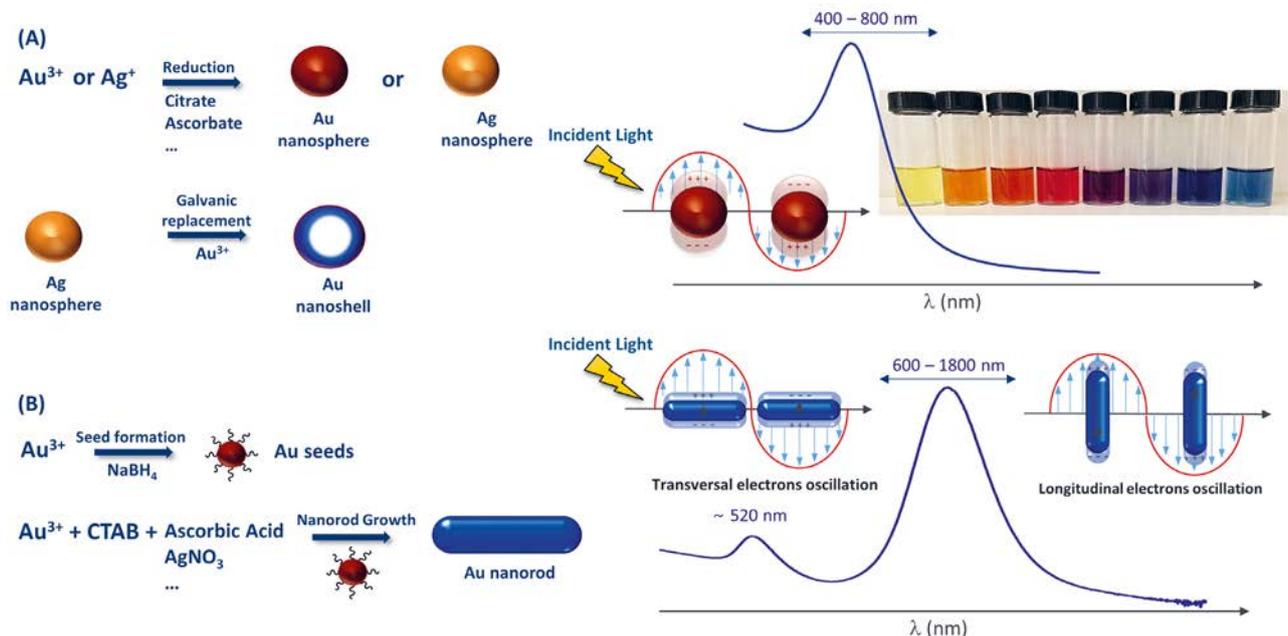
**La reconnaissance moléculaire est définie comme étant la sélection spécifique et mutuelle entre deux espèces moléculaires dans un environnement complexe contenant plusieurs espèces apparentées. Les deux partenaires se reconnaissent et s'associent avec une grande affinité. Elle trouve son origine dans les travaux d'Emil Fischer qui a introduit en 1894 le concept très expressif « clé-serrure » et elle est largement utilisée dans les biocapteurs d'affinité à travers notamment les interactions anticorps/antigènes, l'hybridation de brins d'ADN complémentaires, ou encore simplement la reconnaissance entre la biotine et l'avidine.**

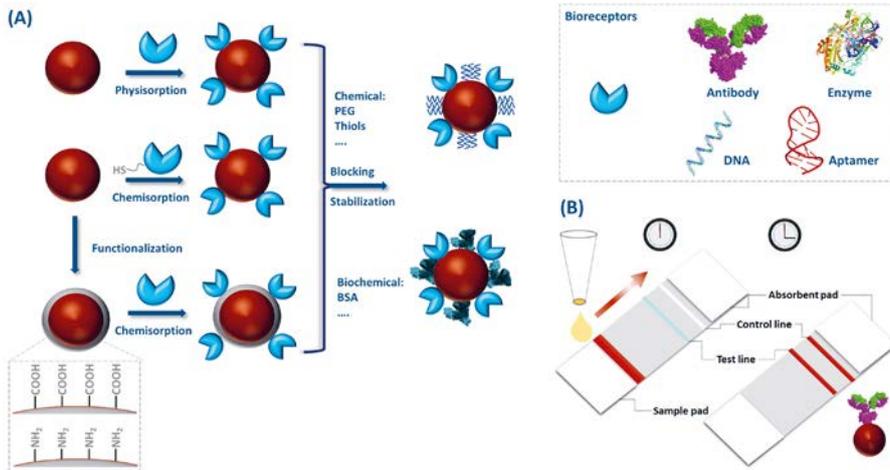
la taille des particules. Les nanoparticules d'or synthétisées par cette voie ont une bande LSPR située autour de 520 nm et présentent donc la célèbre couleur rouge rubis. Les nanoparticules d'argent préparées par cette même voie absorbent plus bas en longueur d'onde, vers 400 nm, elles sont donc jaunes. En combinant les deux métaux dans une même particule *via* des alliages Au/Ag ou des structures cœur-coquille, l'absorbance obtenue, et ainsi la couleur de la solution colloïdale, sont modulables entre ces

deux longueurs d'onde limites. Les nanocoquilles creuses d'or, synthétisées par remplacement galvanique à partir notamment de nanoparticules d'argent (Fig. 1a), permettent de localiser la bande LSPR à des longueurs d'onde proches de l'IR, difficilement atteignables avec des nanoparticules sphériques. Pour atteindre des longueurs d'onde plus élevées, il faut recourir aux particules anisotropes, telles que les nanobâtonnets d'or (Fig. 1b). La synthèse de particules anisotropes ne peut se dérouler en une seule étape et nécessite une phase de nucléation et une seconde de croissance dans des directions définies. La signature LSPR des bâtonnets présente deux maxima

**Figure 1.**

Synthèse et signature LSPR de nanoparticules sphériques (A) et de nanobâtonnets (B).





### BIOCONJUGAISON

La bioconjugaison désigne l'association des nanoparticules métalliques à des biomolécules en vue de leur utilisation pour des applications biologiques [1]. Pour les nanoparticules sphériques, cette étape est relativement aisée puisque les ligands utilisés lors de la synthèse sont labiles et faciles à déplacer par des molécules soufrées, afin de bénéficier de la forte affinité Soufre-Or. Elle est plus complexe pour les particules anisotropes puisque les ligands type CTAB (Bromure de cétrimonium) sont fortement attachés à la surface et gênent l'accès aux atomes d'or superficiels, la croissance d'une couche d'oxyde, du type silice, est souvent adoptée pour pallier cette problématique.

La bioconjugaison peut être réalisée en une étape, par physisorption, ou à travers la formation de liaisons covalentes comme illustré sur la figure 2a. Une fois opérée, il est nécessaire de stabiliser la

correspondant aux oscillations transversales et longitudinales (Fig. 1b). La bande LSPR longitudinale est la plus intense et la plus intéressante des deux, sa position dépend du rapport d'aspect des bâtonnets et peut être déplacée assez loin dans le proche IR, zone particulièrement prisée pour les applications *in vivo* puisque correspondant aux fenêtres

### Figure 2.

(a) Mécanismes de bioconjugaison, les différents types de biorecepteurs sont schématisés dans l'encart. (b) Principe des tests rapides basés sur des anticorps couplés aux nanoparticules d'or.

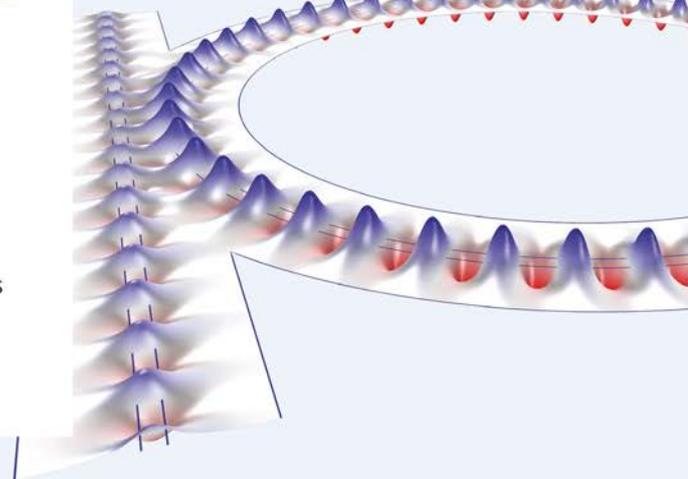
biologiques, *i.e.* régions spectrales pour lesquelles les tissus sont relativement transparents.

## ÉTUDE DE CAS

# Tout a commencé avec deux seaux d'eau...

En 1870, un scientifique du nom de John Tyndall a essayé de contrôler la lumière en utilisant deux seaux d'eau, illustrant la réflexion interne totale à un public fasciné. Aujourd'hui, les chercheurs disposent d'outils plus avancés. Lorsqu'ils fabriquent et analysent des prototypes de guides d'ondes optiques, les ingénieurs actuels utilisent des logiciels de simulation numérique pour accélérer le processus de conception.

EN SAVOIR PLUS [comsol.blog/silicon-photonics](https://comsol.blog/silicon-photonics)



suspension colloïdale par des groupements du type polyéthylène glycol ou par des protéines comme l'albumine de sérum bovin, l'agrégation, particulièrement favorisée dans les milieux complexes, demeure le principal frein posé par ces systèmes. Néanmoins, lorsque les bioconjugués sont stabilisés, ils peuvent être stockés sans altération de leur activité biologique pendant plusieurs mois et utilisés typiquement dans des tests rapides, basés sur l'apparition de leur couleur sur une bande, comme illustré sur la figure 2b.

### BIOCAPTEURS LSPR

Ce terme générique définit les biocapteurs dont la réponse se traduit par un changement de la position de la bande LSPR, mesurable par un spectrophotomètre [2] (Fig. 3). Cette variation étant induite par le changement de l'indice de réfraction du milieu environnant lors de la modification de l'état de surface des nanoparticules / nanostructures, ces systèmes sont aussi appelés biocapteurs réflectométriques. La profondeur de pénétration du champ évanescence dans la couche diélectrique étant du même ordre de grandeur que les

biomolécules, soit quelques dizaines de nm, il est possible de détecter des petites molécules avec une excellente sensibilité sans interférence de la masse (bulk). L'instrumentation associée est aussi peu sophistiquée. Elle requiert une source lumineuse (visible – proche IR), la lumière transmise étant mesurée par un spectrophotomètre.

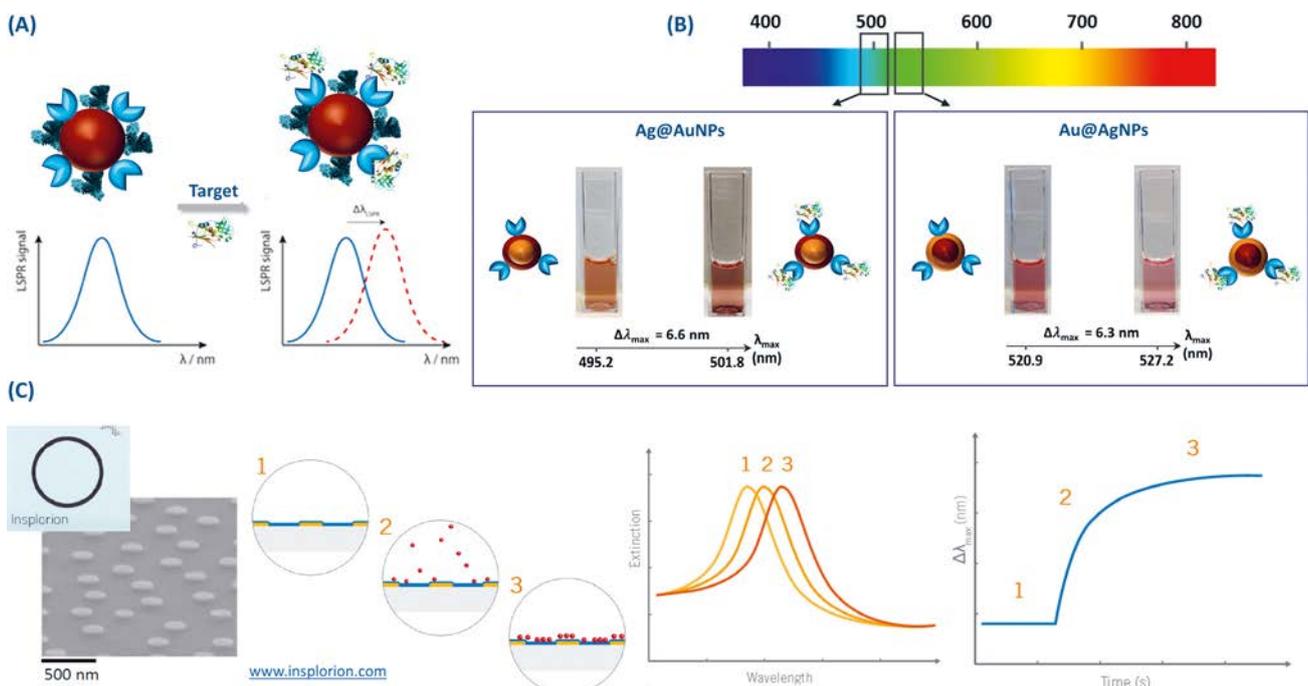
En 1998, P. Englebienne a décrit le tout premier exemple de détection d'interaction biomoléculaire entre un anticorps et sa cible sur la base de la variation de l'indice de réfraction au voisinage de nanoparticules d'or comme schématisé dans la figure 3a [3]. Selon le même principe, nous avons mis au point un biocapteur basé sur des nanoparticules d'or sphériques de 15 nm de diamètre conçu pour détecter l'enterotoxine A de *S. aureus* responsable d'intoxications alimentaires avec une sensibilité de l'ordre du ng/mL [4].

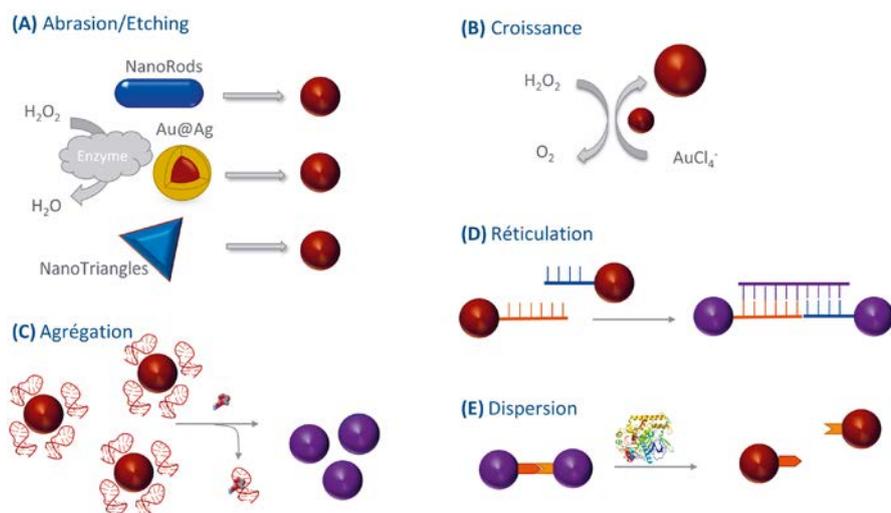
Lorsque la lumière diffractée par les particules est mesurée par un microscope à champ sombre, le seuil de détection peut être abaissé à l'échelle de la nanoparticule unique. C'est ainsi que la détection de l'interaction entre une protéine et son ligand a été réalisée avec des nanobâtonnets d'or dès 2008 par Chilkoti [6]. Cette avancée a ouvert la voie vers la miniaturisation des dispositifs en y associant la microfluidique, permettant des analyses multiples simultanées de plusieurs espèces.

À noter que le déplacement de la position de la bande LSPR avec l'indice de réfraction est faible et donc la plupart du temps indétectable par l'œil humain. Toutefois, en modulant de manière intelligente la position initiale de la bande LSPR, il est possible de détecter à l'œil nu des déplacements de quelques nanomètres. Par exemple, aux alentours de 500 nm, se produit la transition du turquoise au vert. Sur cette base, nous avons construit un biocapteur opérant en phase liquide sous forme de nanoparticules cœur-coquille argent – or (Ag@Au) de  $32 \pm 7$  nm de diamètre sur lesquelles ont été chimisorbés des anticorps dirigés contre l'enterotoxine A (Fig. 3b).

**Figure 3.**

(a) Principe des biocapteurs LSPR. (b) Lecture visuelle de la reconnaissance [5]. (c) Dispositif commercialisé par la société Insplorion pour la lecture LSPR.





**Figure 4.** Mécanismes associés aux biocapteurs colorimétriques.

La bande LSPR du bioconjugué initialement à 495 nm se déplace de 7 nm en présence de toxine ce qui induit un changement de couleur de l'orange au rouge détectable à l'œil nu. *A contrario*, l'ajout de toxine à des nanoparticules cœur coquille or-argent (Au@Ag) recouvertes d'anticorps et présentant une bande LSPR à 521 nm conduit aussi au même déplacement sans détection visuelle [5].

Enfin, malgré la sensibilité remarquable atteinte par ces systèmes en solution, une transposition sur support solide avec des substrats nanostructurés s'avère préférable au vu de la complexité de manipulation des solutions colloïdales. De nombreux dispositifs commerciaux sont actuellement développés à cette fin, c'est le cas notamment du dispositif X-Nano commercialisé par la société suédoise Inspilorion qui permet le suivi cinétique des interactions biomoléculaires sur des nanostructures d'or immobilisées sur des puces en verre (Fig. 3c).

### BIOCAPTEURS COLORIMÉTRIQUES VISUELS

Dans cette catégorie entrent les systèmes analytiques à base de nanoparticules métalliques dont le principe de détection est basé sur un changement de couleur détectable à l'œil [7]. Deux mécanismes principaux le régissent : (1) un changement de la distance inter-particules (par agrégation, réticulation ou dispersion) ;

(2) un changement de taille, de forme ou de composition des particules résultant de leur croissance ou de leur abrasion « etching » (Fig. 4).

L'agrégation peut être induite par la reconnaissance entre le biorécepteur et la cible, typiquement pour les aptamères dont le détachement des nanoparticules au profit de la cible déstabilise la suspension colloïdale, ce qui va induire *de facto* un déplacement bathochrome de la bande LSPR dû au couplage des modes plasmons qui se traduit, pour des particules d'or sphériques, par un changement du rouge au bleu-violet (Fig. 4c). La distance inter-particules peut aussi être réduite selon un mécanisme de réticulation induit par la reconnaissance

entre le biorécepteur et la cible (Fig. 4d). À l'inverse, des particules initialement réticulées peuvent être amenées à se disperser sous l'effet de la cible (Fig. 4e).

Les biocapteurs colorimétriques basés sur la croissance/abrasion des nanoparticules, dits aussi non-agrégatifs, utilisent des processus catalytiques conduisant à des variations de couleur détectables à l'œil. Ainsi, des processus d'oxydation par  $H_2O_2$  catalysés par une enzyme induisent une abrasion (etching) pouvant changer la forme ou la composition et ainsi la couleur des nanoparticules (Fig. 4a). *A contrario*,  $H_2O_2$  produit par oxydation enzymatique du glucose sert de réducteur au sel d'or et induit la croissance de nanoparticules d'or à partir de germes incolores.

### CONCLUSION

En conclusion, les extraordinaires propriétés optiques des nanoparticules de métaux nobles et leur accordabilité en font des outils de choix pour la construction de biocapteurs destinés à la détection d'une large palette d'espèces chimiques et biologiques dans les domaines d'application essentiels que sont la santé et l'environnement et l'alimentation. Les avancées sont telles que l'on peut raisonnablement prévoir que les biocapteurs plasmoniques trouveront une place de choix dans le développement de tests de diagnostic au chevet du patient (point-of-care testing, POCT). ●

### RÉFÉRENCES

- [1] L. Zhang *et al.*, *Biosens Bioelectron* **165**, 112370 (2020)
- [2] V. Pellás *et al.*, *Biosens* **10**, 146 (2020)
- [3] P. Englebienne, *Analyst* **123**, 1599-603 (1998)
- [4] M. Ben Haddada *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.* **409**, 6227-34 (2017)
- [5] A. Loiseau *et al.*, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **11**, 46462-71 (2019)
- [6] G.J. Nusz *et al.*, *Anal. Chem.* **80**, 984-9 (2008)
- [7] H. Aldewachi *et al.*, *Nanoscale* **10**, 18-33 (2018)