



HAL
open science

Nanoparticules hybrides et multifonctionnelles pour l'imagerie médicale, la biodétection et la photothérapie

Virginie Monnier

► **To cite this version:**

Virginie Monnier. Nanoparticules hybrides et multifonctionnelles pour l'imagerie médicale, la biodétection et la photothérapie. Matériaux. Université de Lyon, 2019. tel-03677344

HAL Id: tel-03677344

<https://hal.science/tel-03677344>

Submitted on 24 May 2022

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.



N° d'ordre NNT : xxx

**HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES (HDR)
DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée à l'Ecole centrale de Lyon**

**Ecole Doctorale N° 160
Electronique, Electrotechnique et Automatique**

Discipline : Ingénierie pour le Vivant

Soutenance prévue le 24/06/2019, par :

Virginie MONNIER-VILLAUME

Maître de Conférences à l'Ecole Centrale de Lyon (CNU 31)
Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL) – Equipe Chimie & Nanobiotechnologies

**Nanoparticules hybrides et multifonctionnelles
pour l'imagerie médicale, la biodétection et la
photothérapie**

Devant le jury composé de :

M. Jean-Olivier DURAND	Directeur de Recherche CNRS	ICGM, Université de Montpellier	Rapporteur
Mme Emilie GENIN	Maître de conférences	ISM, Université de Bordeaux	Rapporteuse
Mme Claire WILHELM	Directrice de Recherche CNRS	LMSC, Université Paris 7 Diderot	Rapporteuse
Mme Rachel MEALLET- RENAULT	Professeure	ISMO, Université Paris- Saclay	Examinatrice
M. Fabrice DASSENOY	Professeur	LTDS, Ecole Centrale de Lyon	Examineur
Mme Marie FRENEA- ROBIN	Maître de conférences	Laboratoire Ampère, Université Lyon 1	Examinatrice
M. Yann CHEVOLOT	Directeur de Recherche CNRS	INL, Ecole Centrale de Lyon	Examineur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier chaleureusement Jean-Olivier Durand, Emilie Génin, Claire Wilhelm, Rachel Méallet-Renault, Fabrice Dassenoy et Marie Frenea-Robin qui ont accepté d'examiner mon travail.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance aux responsables de l'équipe de recherche Chimie et Nanobiotechnologies de l'INL qui se sont succédés depuis mon arrivée à l'Ecole Centrale de Lyon : Eliane Souteyrand et Yann Chevolut. Grâce à leur soutien, j'ai pu construire au fil des années mes différents projets de recherche et les mener à bien. Je les remercie aussi pour leurs qualités humaines exceptionnelles qui rendent l'atmosphère de travail très agréable.

Un grand merci également à tous les membres permanents de l'équipe, c'est un plaisir de travailler avec vous au quotidien, que ce soit en recherche ou en enseignement : merci donc à Emmanuelle Laurenceau, Christelle Yeromonahos, Magali Phaner-Goutorbe, Isabel Nabeth, Jean-Pierre Cloarec et Thomas Gehin.

Le travail de recherche présenté dans ce manuscrit n'aurait pas été possible sans les doctorants que j'ai co-encadré ou que je co-encadre actuellement : Ning Sui, Maxime Boksebeld, Feixiong Chen, Rachael Taitt et Mathias Urbain. J'en profite aussi pour remercier tous les stagiaires qui ont travaillé sur mes différents projets, et de façon générale, tous les doctorants et ATER qui se sont succédé dans l'équipe au fil des ans.

Les différentes collaborations dont sont issus ces travaux ont été déterminantes. Je souhaite donc remercier les équipes du SYMME à Annecy (Ronan Le Dantec et Yannick Mugnier), du groupe GAP-Biophotonics à Genève (Luigi Bonacina et Vasyl Kilin), du laboratoire Ampère à Ecully (Marie Frenea-Robin et Naoufel Haddour), l'équipe Spectroscopie et Nanomatériaux de l'INL (Jean-Marie Bluet et Vladimir Lysenko), Sergei Alekseev de l'Université de Kiev, Giacomo Ceccone du Centre de Recherche Européen d'Ispra en Italie, Alain Géloën du laboratoire CARMEN de l'INSA Lyon, Pierre-François Brevet de l'Institut Lumière Matière à Lyon, François Morvan de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron à Montpellier, Olivier Vidal de l'Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle de Lille et enfin Yves Mérieux de l'EFS Lyon.

Je n'oublie pas non plus ceux et celles qui m'ont donné le goût de la recherche : Alain Ibanez et Nathalie Sanz, mes directeur et co-directrice de thèse, et Peter Reiss du CEA Grenoble.

Je souhaite également remercier la direction de l'INL pour son soutien : Catherine Bru-Chevallier et Christian Seassal, ainsi que l'équipe administrative : Patricia Dufaut, Sylvie Goncalves, Bénédicte André et Emmanuelle Foltzer. Merci aussi à mes collègues enseignants du 4ème étage, Yves Robach, Bertrand Vilquin, Ségolène Callard, José Penuelas, Christelle Monat et Emmanuel Drouard, et également à Thérèse Martin, secrétaire du département STMS.

Pour finir, un petit mot à mes parents et mes beaux-parents. Merci à tous de me supporter dans tous les sens du terme ! J'en profite aussi pour saluer Jacqueline et Charles, Frédéric et Patricia, Sophie et Nicolas.

Et enfin, un immense merci et tout mon amour à mes deux hommes (qui seront bientôt trois): mon fils Martin et mon mari Alain !

Table des matières

Liste des acronymes et formules chimiques utilisés	3
I. Dossier administratif	5
Formation et activités de recherche	7
Activités d'enseignement.....	8
En tant que maître de conférences (depuis 2008).....	8
Synthèse	8
Evolution.....	8
Détail	8
En tant que doctorante vacataire (2003-2006).....	11
Responsabilités en enseignement.....	11
Responsabilités pédagogiques	11
Responsabilités administratives.....	12
Autres	12
Autres activités pédagogiques	12
Actions de vulgarisation scientifique en enseignement.....	13
Encadrement doctoral et scientifique au niveau recherche	15
Co-encadrements de doctorants.....	15
Encadrements autres que les co-directions de thèse	15
Rayonnement et animation scientifique au niveau recherche	17
Implication dans l'organisation de conférences.....	17
Participation à des jurys de thèse en tant qu'examinatrice.....	17
Expertise scientifique	18
Actions de promotion de la science en recherche	18
Responsabilités scientifiques dans des contrats de recherche	19
Publications scientifiques	21
Synthèse	21
Détail	21
II. Activités de recherche	31
Préambule	33
Introduction.....	35
II.0. Résumé des activités de recherche menées en thèse et en post-doctorat	40
II.0.1. Nanocristaux organiques fluorescents inclus dans des couches minces sol-gel pour la réalisation de capteurs chimiques et biologiques.....	40

II.0.2. Nanoparticules Fer-Platine pour le stockage magnétique	45
II.0.3. Nanocomposites hybrides piézoélectriques à base de nanoparticules de niobate de lithium en matrice polymère	48
Conclusion	50
II.1. Axe 1 : Nanoparticules à propriétés de fluorescence exaltées	52
II.1.1 Théorie du couplage plasmon-fluorescence	52
II.1.2. Elaboration de nanoparticules cœur-coquille Métal@Silice.....	55
II.1.3. Greffage et encapsulation d'émetteurs fluorescents	58
II.1.3.1. Nanoparticules de carbure de silicium (SiC).....	58
II.1.3.2. Fluorophores organiques	60
II.1.4. Conclusion sur l'axe 1	62
II.2. Axe 2 : Nanoparticules à propriétés optiques non linéaires pour le ciblage cellulaire et la photothérapie	63
II.2.1. Quelques éléments d'optique non linéaire à deux photons.....	63
II.2.2. Nanoparticules de SiC actives en SHG pour le ciblage de cellules cancéreuses	65
II.2.2.1. Fonctionnalisation des nanoparticules de SiC.....	65
II.2.2.2. Imagerie multiphotonique ciblée de cellules cancéreuses	67
II.2.3. Nanoparticules hybrides plasmoniques actives en SHG pour l'imagerie et la photothérapie	68
II.2.3.1. Nanoparticules de SiC décorées par des nanobâtonnets d'or	69
II.2.3.2. Nanoparticules de LiNbO ₃ recouvertes d'une nanocoquille d'or.....	72
II.2.4. Conclusion sur l'axe 2	74
II.3. Axe 3 : Nanoparticules magnétiques pour le diagnostic biomédical	75
II.3.1. Glyconanoparticules magnétiques pour la capture de lectines impliquées dans l'adhésion de la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75
II.3.1.1. Immobilisation des molécules glycomimétiques sur les nanoparticules magnétiques ...	76
II.3.1.2. Détection et extraction de lectines par les glyconanoparticules magnétiques	78
II.3.2. Nanoparticules magnétiques fonctionnalisées par des molécules électroactives pour la détection de plaquettes sanguines	80
II.3.2.1. Double fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques.....	82
II.3.2.2. Etude des propriétés électrochimiques des nanoparticules sous champ magnétique ...	84
II.3.2.3. Capture et détection d'antigènes plaquettaires	85
II.3.3. Conclusion sur l'axe 3	86
III. Conclusion et perspectives.....	87
Bibliographie.....	95

Liste des acronymes et formules chimiques utilisés

AFM	Microscopie à Force Atomique
AQ	Anthraquinone-2-carboxylic acid
APDMS	3-aminopropyldimethylethoxysilane
APTES	3-aminopropyltriethoxysilane
APTMS	3-aminopropyltrimethoxysilane
ATP	Adénosine triphosphate
BC	Bleu de Cibacron
BM	Bleu de Méthylène
BPEI	Branched PolyEthyleneImine
BSA	Bovine Serum Albumin
CBB	Coomassie Brilliant Blue
CT	Computed Tomography
CTAB	Bromure d'hexadecyltriméthylammonium
CV	Cyclic voltammetry
Cy3	Cyanine 3
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DIC	N,N'-Diisopropylcarbodiimide
EDA	Ethylènediamine
EDC	1-Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
EDX	Energy-dispersive X-Ray spectroscopy
EFTEM	Energy-Filtered Transmission Electron Microscopy
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EPR	Enhanced penetration and retention effect
Fc	Ferrocene carboxylic acid
FePt	Fer-Platine
FiTC	Fluorescein isothiocyanate
FRET	Förster Resonance Energy Transfer
HPA	Human Platelet Antigen
IRM	Imagerie par résonance magnétique
KNbO₃	Niobate de potassium
LiNbO₃	Niobate de lithium
LSPR	Localized Surface Plasmon Resonance
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
MEF	Metal-Enhanced Fluorescence
MET	Microscopie Electronique en Transmission
MTMOS	Methyltrimethoxysilane
NaBH₄	Borohydrure de sodium
NdFeB	Néodyme-Fer-Bore
NH₂OH, HCl	Hydroxylamine hydrochloride
NHS	N-Hydroxysuccinimide
NPs	Nanoparticules
OAc	Acide oléique
OAm	Amine oléique
ODPA	Octadecyl phosphonic acid
ONL	Optique Non Linéaire
PAMAM	Polyamidoamine dendrimer
PBS	Phosphate Buffered Saline
PE	Phycoérythrine

PEG	Polyéthylène glycol
PN	Pentadecanenitrile
POC	Point-Of-Care
ppb	Partie par milliard
P(VDF-TrFE)	Poly(vinylidène-trifluoroéthylène)
PVP	Poly(vinylpyrrolidone)
RMS	Roughness Mean Square
ROS	Reactive oxygen species
SERS	Surface –Enhanced Raman Scattering
SiC	Carbure de silicium
SHG	Second Harmonic Generation
SQUID	Superconducting QUantum Interference Device
SWV	Square-Wave Voltammetry
TEOS	Tetraethoxysilane
THPC	Chlorure de tétrakis(hydroxyméthyl)phosphonium
TMOS	Tetramethoxysilane
ToF-SIMS	Time-of-Flight Secondary-Ion Mass Spectrometry
TPEF	Two-Photon excited Fluorescence
TPL	Two-Photon excited Luminescence
XPS	X-Ray Photoelectron Spectroscopy

I. Dossier administratif

Virginie MONNIER (épouse VILLAUME)

Née le 11/03/1980 à Montpellier (34). Mariée, 1 enfant.

Téléphone : 04 72 18 62 39 ; E-mail : virginie.monnier@ec-lyon.fr

Formation et activités de recherche

- Depuis 2008 **Maître de conférences (CNU 31). Ecole Centrale de Lyon, Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL, UMR 5270)**
Enseignement (214 h eq TD/an en moyenne) dans l'équipe Chimie du département Sciences et Techniques des Matériaux et des Surfaces (STMS) et dans le Master Nanoscale Engineering (NSE) de l'Université de Lyon.
Recherche dans l'équipe Chimie et Nanobiotechnologies de l'INL. *Synthèse, fonctionnalisation et caractérisation de nanoparticules hybrides et multifonctionnelles pour le diagnostic et l'imagerie médicale.*
- 2008 **Post-doctorat. Université Nancy I. Laboratoire de Synthèse Organo-Métallique et Réactivité (SOR).** Pr. Y. Fort et Dr. D. Rouxel. *Synthèse et caractérisation de nanocomposites piézoélectriques à base de nanoparticules de LiNbO_3 .*
- 2006-2007 **Post-doctorat. CEA Grenoble, Laboratoire d'Electronique Moléculaire Organique et Hybride (LEMOH).** Dr. P. Reiss et Dr. Y. Samson. *Synthèse et caractérisation de nanoparticules colloïdales d'alliage FePt pour le stockage magnétique.*
- 2003-2006 **Doctorat en Physique et Chimie des Matériaux. Université Joseph Fourier (Grenoble I). CNRS Grenoble, Laboratoire de Cristallographie (Institut Néel).** Directeurs de thèse : Dr. A. Ibanez et Dr. N. Sanz-Menez. *Elaboration et caractérisation structurale de nanocristaux moléculaires fluorescents en couches minces sol-gel : Application à la réalisation de capteurs chimiques et biologiques.*
Enseignement (152 h eq TD sur 3 ans). Université Joseph Fourier. *Travaux Pratiques de Chimie et Travaux Dirigés de Mécanique.*
- 2002-2003 **Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) en Physique des Matériaux. Université Joseph Fourier (Grenoble I).** Mention Assez Bien.
Stage de DEA. Laboratoire de Cristallographie. *Elaboration et caractérisation de nanocristaux organiques en couches minces sol-gel pour la réalisation de nanocapteurs luminescents.*
- 2000-2003 **Ingénieur de l'Ecole Nationale Supérieure de Physique de Grenoble (ENSPG).¹ Institut National Polytechnique de Grenoble (INPG).** Mention Bien.
Stage élève-ingénieur. CEA Grenoble / ESRF. *Etude des conditions de facettage d'une surface de tungstène par du platine.*
Stage ouvrier. Gaz de France, Montpellier. *Aide à l'installation d'un système de télésurveillance de postes de détentes de gaz.*
- 1997-2000 **Classes Préparatoires aux Grandes Ecoles, PCSI/PC.** Lycée Joffre, Montpellier.
- 1997 **Baccalauréat Scientifique.** Mention Assez Bien. Lycée Nevers, Montpellier.

¹ Aujourd'hui Grenoble INP-Phelma (Ecole nationale supérieure de physique, électronique, matériaux).

Activités d'enseignement

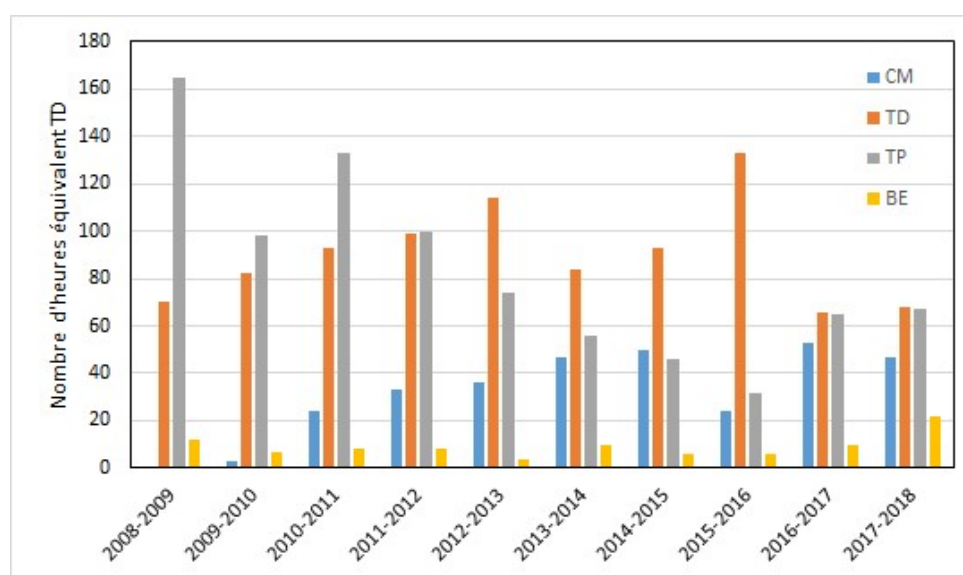
En tant que maître de conférences (depuis 2008)

Synthèse

Type d'activité d'enseignement	Heures équivalent TD (moyenne annuelle)
Cours magistraux (CM)	31,5
Travaux dirigés (TD)	90
Travaux pratiques (TP)	83,5
Bureau d'études (BE) ²	9
Total	214

Evolution

Le graphique ci-dessous représente la répartition par type d'enseignement en fonction de l'année universitaire depuis mon recrutement en tant que maître de conférences. On note une progression logique du nombre d'heures réalisées en CM au fil des années (excepté en 2015-2016 où j'ai eu une décharge de 96 h pour cause de congé maternité). Actuellement, mes enseignements sont équitablement répartis entre CM, TD et TP. Pour les années 2008-2009 et 2009-2010, j'ai disposé d'une décharge de 26 h et 16 h équivalent TD, respectivement, en tant que maître de conférences nouvellement recrutée.



Détail

Ecole Centrale de Lyon (ECL, <http://www.ec-lyon.fr/>)

La formation d'ingénieurs généralistes à l'ECL se répartit sur 6 semestres (du S5 au S10). La période du S5 au S7 correspond au Tronc Commun, la période du S8 au S10 correspond au Parcours Electif (parcours à la carte pour les élèves), le semestre S10 étant le Travail de Fin d'Etudes (TFE) pour lequel les élèves réalisent un stage en entreprise ou en laboratoire de recherche. Mes enseignements à l'ECL en Tronc Commun portent principalement sur la chimie physique, sachant que la formation d'ingénieur généraliste nécessite des activités d'enseignements transverses en physique/chimie/matériaux,

² Une séance de BE est une séance de TD avec un côté interdisciplinaire, au cours de laquelle les élèves sont amenés à travailler sur un mini-projet en lien avec plusieurs chapitres du cours ou même plusieurs disciplines.

comme par exemple les BE de synthèse. En Parcours Electif, mes enseignements sont plus spécialisés et en lien direct avec mes activités de recherche sur les nanoparticules, la chimie de surface et la caractérisation des surfaces et des matériaux. Ces activités sont réparties de la façon suivante ³:

Tronc Commun (S6-S7):

- UE Physique et Chimie de la Matière (S6-S7)
CM Réactivité et cinétique chimique (12 h eq TD/an).
TD Chimie (40 h eq TD/an) : Modèle quantique de la liaison chimique, Thermodynamique statistique, Réactivité et cinétique chimique, Liaisons faibles, Transferts électroniques.
TP Chimie (60 h eq TD/an): Chromatographie en phase gazeuse et en phase liquide, Spectrophotométrie de réactions redox, Etude potentiométrique de la corrosion galvanique, Mesure de surface spécifique par adsorption de gaz.
BE Synthèse et étude de cas en physique-chimie-matériaux (4 h eq TD/an) : Travail en mode « apprentissage par problèmes » pour faire émerger des concepts scientifiques vus en cours à partir d'un article de presse généraliste. Quelques exemples de sujets traités ces dernières années : maison solaire, textiles intelligents, énergie pour l'électronique nomade, écrans plats et tactiles.
- Cours d'approfondissement (S7)
TD Chimie Moléculaire et Supramoléculaire (4 h eq TD/an): A partir d'une problématique de l'industrie pharmaceutique (trouver une molécule médicamenteuse permettant de cibler un virus), le cours traite des différents aspects de la chimie moléculaire/supramoléculaire et la modélisation de molécules et de leurs interactions du point de vue mécanique moléculaire et mécanique quantique. L'outil de modélisation utilisé est le logiciel HyperChem.
- UE Professionnelle (S5-S6-S7)
Projets d'élèves (10 h eq TD/an) : Encadrement de groupes de 5-6 élèves travaillant sur un projet commun pendant 9 mois. Les sujets de projets que j'ai encadré étant en lien avec la vulgarisation scientifique, ils seront décrits plus loin dans la partie correspondante.
Projets d'application recherche (5 h eq TD/an) : Initiation à la recherche en laboratoire pour des groupes de 1-2 élèves pendant 7 mois. Les sujets traités seront décrits dans la partie « Stages et projets de recherche niveau M1 ».
Tutorat (6 h eq TD/an): Suivi de 6 élèves par an en entretien individuel (3/an/élève) pour l'aide à la construction du projet professionnel.

Parcours Electif (S8-S9-S10):

- UE Elective (S8) :
CM et TD Analyser et observer la matière (CM : 4 h eq TD/an, TD : 4 h eq TD/an): Spectroscopie de photoélectrons X et spectroscopie infrarouge. Etudes de cas sur l'identification d'un matériau inconnu à partir de résultats expérimentaux. Enseignement en anglais depuis 2017.

³ Les nombres d'heures équivalent TD indiqués sont des moyennes annuelles établies depuis mon recrutement en 2008.

TP Optique et photonique pour l'ingénieur (6 h eq TD/an) : Spectroscopie infrarouge.

- Module Ouvert Disciplinaire (S9) :
BE Nanotechnologies (8 h eq TD/an): Nanoparticules magnétiques pour le stockage d'information et le biomédical. Introduction et pré-requis théoriques, présentation de travaux de recherche récents. Réalisation d'une petite expérience en laboratoire et étude d'une publication scientifique.
- Option Bioingénierie et Nanotechnologies (S9) :
CM et TD Couches minces et surfaces fonctionnalisées (CM: 4 h eq TD/an, TD: 2 h eq TD/an) : Monocouches moléculaires auto-assemblées
Atelier Elaboration d'opales synthétiques à partir de silice colloïdale (BE : 2 h eq TD/an, TP : 8 h eq TD/an) : Cours introductif puis réalisation d'un TP de 8 h par groupe de 6 élèves : synthèse de silice colloïdale, dépôt de couches minces par dip-coating, caractérisation par MEB et traitement des images.
Projet de recherche (10 h eq TD/an): Initiation à la recherche en laboratoire pour des groupes de 4-6 élèves pendant 3 mois. Les sujets traités seront décrits dans la partie « Stages et projets de recherche niveau M2 ».
- Travail de Fin d'Etudes (S10) :
Tutrice pédagogique (3 h eq TD/an et par élève) : suivi du stage, correction du rapport et interrogation lors de la soutenance.

Master Nanoscale Engineering (NSE, <http://master-nano.universite-lyon.fr/>)

Le Master international NSE a été créé en 2008 sous l'impulsion de 3 tutelles : l'Ecole Centrale de Lyon, l'INSA de Lyon et l'Université Lyon 1. L'enseignement y est réalisé intégralement en anglais car l'effectif est composé de plus de 70% d'étudiants étrangers au niveau M1. Les nanotechnologies y sont enseignées de façon pluri-disciplinaire (physique-chimie-biologie) pour des étudiants ayant des parcours académiques très divers. J'ai eu l'opportunité d'enseigner dans ce master à partir de 2010.

- Niveau M1:
CM et TD Fundamental Basis of Science (CM: 10 h eq TD/an, TD: 4 h eq TD/an): Crystallography and Radiocrystallography, Macroscopic and Statistical Thermodynamics. Ce cours intervenant en tout début de M1, est destiné aux étudiants n'ayant pas initialement reçu une formation en physique afin de pouvoir les remettre à niveau pour la suite du Master.
- Niveau M2 :
CM Biosensors and Biochips (2,5 h eq TD/an): Plasmonic biosensors.
Tutrice pédagogique de stage M2 : suivi du stage, correction du rapport et interrogation lors de la soutenance.

Ecole Doctorale Electronique, Electrotechnique et Automatique (EEA, <https://edeea.universite-lyon.fr/>)

- Tutoriale à destination des étudiants en thèse :

Cours d'ouverture scientifique Plasmonic Nanoparticles for Biosensing Applications (3 h eq TD/an).

En tant que doctorante vacataire (2003-2006)

Cette première expérience en tant que vacataire m'a permis de me former à différentes techniques d'enseignement, à la préparation d'exercices, notamment en mécanique, où j'ai participé à la rédaction de deux examens au cours de chaque année d'enseignement et à la correction des copies. J'ai également participé à des réunions pédagogiques et des jurys d'examen. Mes enseignements ont été répartis de la façon suivante.

UFR de Chimie, Université Joseph Fourier (Grenoble I)

- Niveau L1 :
TP Chimie (32 h eq TD): Mesure de la concentration d'une solution par spectrophotométrie, Dosages microchimiques, Cristallographie.

IUT Mesures Physiques, Université Joseph Fourier (Grenoble I)

- Niveau L1 (1^{ère} année d'IUT) :
TD Mécanique (120 h eq TD): Cinématique, Dynamique des corps en translation, Frottements/Glissement, Frottements visqueux, Pendule oscillant, Moments de forces, Travail et énergie, Chocs.

Responsabilités en enseignement

Les responsabilités décrites ci-dessous marquent mon envie de m'impliquer dans l'enseignement au niveau de l'ECL et au niveau du Master Nanoscale Engineering, avec des responsabilités de cours prises quasiment depuis mon recrutement en tant que maître de conférences. Depuis 2017, je m'investis également davantage dans la vie de l'ECL en tant que membre du conseil des études et du conseil de mon département d'enseignement.

Responsabilités pédagogiques

Depuis 2016 : **Responsable de l'équipe d'enseignement de Chimie** de l'ECL comportant 6 enseignant-chercheurs, 1 adjoint technique et en moyenne 1 ATER et 2-3 doctorants effectuant une mission d'enseignement. Mise au point des plannings et gestion des crédits pédagogiques.

Depuis 2015 : Responsable du cours de tronc commun **Réactivité et cinétique chimique** (UE PCM tc2).

Depuis 2011 : **Responsable de l'UE S1-4 Fundamental Basis of Science** du master NSE, niveau M1. Mise au point des plannings pour les 4 enseignant-chercheurs impliqués dans l'UE. Je m'assure également de la cohérence pédagogique du cours en lien avec les autres cours du master.

2013-2015 : Co-responsable du cours d'approfondissement **Chimie moléculaire et supramoléculaire** (PCMa-2FH).

2009-2017 : **Responsable des Travaux Pratiques de Chimie (UE PCM tc3)** à l'ECL. Mise au point des plannings, gestion du matériel de TP, formation des nouveaux enseignants, montage d'un nouveau TP (chromatographie en phase liquide), évolution des fascicules pédagogiques et mise en place des corrigés-type ainsi que de grilles de notation détaillées.

Responsabilités administratives

Depuis 2018 : Membre nommée au Conseil du Département Sciences et Techniques des Matériaux et des Surfaces (STMS) de l'ECL. Ce conseil a un rôle consultatif qui regroupe toutes les activités du département (enseignement, pédagogie, recrutements, budget, animation de la recherche, etc).

Depuis 2017 : Membre élue au Conseil des Etudes (CE) de l'ECL. Ce conseil définit la politique d'enseignement de l'ECL. Il examine notamment les projets de nouveaux cours et filières et donne un avis qui est ensuite voté au Conseil d'Administration. Il s'assure également de la cohérence des enseignements avec la future intégration des élèves dans la vie active. Le CE se réunit au complet régulièrement (tous les 2-3 mois) mais plusieurs groupes de travail émergeant du CE se retrouvent en amont pour préparer les séances. Ainsi je suis membre de plusieurs de ces groupes :

- Groupe de réflexion sur les temps pédagogiques;
- Groupe de travail sur l'évolution du règlement de scolarité;
- Commission d'exonération des frais universitaires.

Depuis 2017 : Représentante de l'UE Physique et Chimie de la Matière au comité d'évaluation des enseignements de l'ECL.

Depuis 2016 : Membre de la Commission des Echanges Universitaires (CEU) de l'ECL.

Depuis 2014 : Correspondante site web du département STMS de l'ECL depuis 2014.

2012-2014 : **Secrétaire du Jury de Parcours Electif** de la promotion 2013 de l'ECL.

2011-2013 : **Secrétaire du Jury de Tronc Commun** de la promotion 2013 de l'ECL.

Participation à 3 comités de sélection (CNU 31-33 et 63) pour le recrutement de maîtres de conférences.

Autres

Depuis 2015 : **Sauveteur Secouriste au Travail (SST)**.

Autres activités pédagogiques

Rédaction de supports de cours et documents pédagogiques:

- Chapitre 2 du cours de Chimie de Tronc Commun dans l'UE Physique et Chimie de la Matière de l'ECL sur la Réactivité et cinétique chimique (25 pages).
- Cours Crystallography and Radiocrystallography (29 pages) et Statistical Thermodynamics (19 pages) du module Fundamental Basis of Science du Master NSE.

Investissement dans les méthodes de pédagogie innovante :

- Depuis 2015, j'utilise des **boîtiers de vote interactifs** et le **logiciel TurningPoint** dans le cadre du cours de Réactivité et cinétique chimique pour évaluer le travail préparatoire et la compréhension des élèves (amphis de 100 élèves environ). Des questions de cours et de petits exercices sont ainsi posés aux élèves qui peuvent directement se rendre compte de leur niveau de compréhension. Le cours est ensuite adapté en fonction de leurs réponses. Je propose aussi des exercices d'entraînement sous forme de QCM sur les plate-formes pédagogiques **DidacTest** (<https://didactest.ec-lyon.fr>) et **Moodle** (<https://moodle.ec-lyon.fr>).

- L'impact de cette pratique pédagogique sur la compréhension des élèves en cours et en travaux dirigés a récemment été analysé en 2017 par une équipe de recherche de l'Institut Français de l'Éducation dans le cadre du programme NéoPassSup : <http://neosup.ens-lyon.fr/app.php/accueil>
- A partir de 2013, avec Jean-Pierre Cloarec (responsable du cours), j'ai participé à la transformation du cours d'approfondissement Chimie moléculaire et supramoléculaire pour mettre en place une pédagogie en classe inversée. Comme j'en ai parlé plus haut, le cours vise à faire travailler les élèves sur une problématique de l'industrie pharmaceutique (trouver une molécule médicamenteuse permettant de cibler un virus). En travaillant par groupes (de 8 élèves maximum), les élèves abordent la modélisation de molécules et leurs interactions du point de vue mécanique moléculaire et mécanique quantique. Ils sont également sensibilisés à la notion de propriété industrielle. Les rendus attendus sont des rapports techniques et une soutenance pour la défense de brevet sur la molécule sélectionnée. La méthode mise en place a fait l'objet d'une présentation orale et de la publication d'un acte de congrès lors **du 8^{ème} colloque QPES (« Questions de Pédagogie dans l'Enseignement Supérieur ») en 2015** : « Comment adapter un jeu d'entreprise pour enseigner la chimie en école d'ingénieur »⁴.
- Enfin, que ce soit pour mes enseignements à l'ECL ou en Master, j'utilise les serveurs pédagogiques Claroline et Moodle pour déposer mes supports de cours en ligne, à destination des élèves.

Actions de vulgarisation scientifique en enseignement

- **2009-2016 : Ateliers scientifiques pédagogiques pour collégiens, partenariat avec l'Institut Paul Bocuse.**

Le groupe « Ose les Sciences », créé par des enseignant-chercheurs de l'ECL, organise depuis 2007 des événements autour de la science et d'éléments de la vie quotidienne. Ses objectifs sont de promouvoir les sciences auprès des jeunes, d'encourager les filles à faire des sciences pour l'ingénieur et d'inciter les jeunes de quartiers défavorisés à envisager des études supérieures. Dans ce cadre, et par le biais de projets d'élèves de 1^{ère} année à l'ECL, j'ai encadré la mise en place et la présentation d'ateliers scientifiques pédagogiques à destination de collégiens issus de quartiers défavorisés (classes de 3^{ème}, collège Victor Schoelcher, La Duchère, Lyon 09, faisant partie du Réseau d'Éducation Prioritaire). Comme le montre le tableau ci-dessous, les thèmes abordés et les partenariats ont été assez variés.

⁴ J.-P. Cloarec, V. Monnier, N. Haddour, G. Le Mauff, J.-P. Berthet, *Actes du VIII^{ème} Colloque "Questions Pédagogie Dans l'Enseignement Supérieur,"* 2015, pp. 403–408.

Année	Thème abordé	Partenariat
2009-2010	La science en cuisine	Collège Victor Schoelcher
2009-2010	L'acidification des océans	Collège Victor Schoelcher Projet EPOCA (« European Project on Ocean Acidification ») http://www.epoca-project.eu/ Aquarium de Lyon
2010-2011	Quoi d'noeuf en sciences? (œuf en cuisine et en sciences)	Collège Victor Schoelcher Institut Paul Bocuse
2010-2011	Les sciences, c'est pas de la fiction	Programme TUMM (« Traits d'Union Multi-quartiers Multi-campus »)
2011-2012	Ateliers autour du sucre	Collège Victor Schoelcher Institut Paul Bocuse
2012-2013	Les inchocolables (chocolat en cuisine et en sciences)	Collège Victor Schoelcher Institut Paul Bocuse
2013-2014	Le lait et les fruits	Collège Victor Schoelcher
2014-2015	Magie et fluides	Collège Victor Schoelcher
2015-2016	Star Wars et police scientifique	Collège Victor Schoelcher

En particulier, entre 2010 et 2013, nous avons travaillé en collaboration avec l'Institut Paul Bocuse (IPB), à Ecully. L'objectif était de mêler sciences et cuisine en choisissant un ingrédient spécifique (œuf, sucre ou chocolat) et en expliquant scientifiquement des recettes utilisant cet ingrédient. Ces ateliers pédagogiques ont été construits en étroite collaboration entre des élèves-ingénieurs de 1^{ère} année de l'ECL et des étudiants en 2^{ème} année du Programme Arts Culinaires et Management de la Restauration. Parmi les ateliers élaborés, on peut citer ceux réalisés autour de la caramélisation et du sucre « soufflé » faisant intervenir la notion de température de transition vitreuse ou autour de la mousse au chocolat avec la notion de tensio-actif. Ces ateliers ont été réalisés devant les collégiens et lors de deux sessions différentes : à l'IPB, où les ateliers ont été co-présentés par les élèves-ingénieurs et les étudiants en arts culinaires réalisant les recettes en direct (voir article paru dans Le Progrès le 19/04/2013); à l'ECL, où les ateliers ont été animés par les élèves-ingénieurs, avec une présentation et une visite du Campus afin de faire découvrir leurs études d'ingénieur aux collégiens et à leurs professeurs.

▪ **2019 : Atelier de découverte de la chimie pour des élèves de maternelle.**

Cet atelier a été organisé en partenariat avec la classe de petite section de l'école maternelle Vallon de Grandvaux, à Ecully. Il s'agissait de montrer aux enfants la séparation des composants de la couleur verte par chromatographie, en utilisant un papier buvard imbibé d'eau salée. Pour maintenir l'attention de ces très jeunes élèves, je me suis appuyée sur une histoire lue en classe, Petit-Bleu et Petit-Jaune⁵, dans laquelle les couleurs se séparent lorsque les personnages se mettent à pleurer (ce qui explique l'utilisation d'eau salée). En expliquant que les larmes « attrapent » les deux couleurs et les entraînent à des vitesses différentes le long du papier, on peut aborder (sans le dire) les notions de liaisons faibles et de capillarité, et surtout donner le goût de l'expérience scientifique aux enfants. Cet atelier réalisé récemment pourrait être l'occasion de démarrer un nouveau partenariat dans le cadre des projets d'études, comme cela avait été fait précédemment avec le collège Schoelcher (voir paragraphe précédent).

⁵ « Petit-Bleu et Petit-Jaune », Leo Lionni, Ed. L'Ecole des Loisirs.

Encadrement doctoral et scientifique au niveau recherche

Co-encadrements de doctorants (5)

- Oct. 2017-... **Rachael Taitt**
Thèse de l'Ecole Centrale de Lyon, bourse MENRT.
Nanoparticules coeur-coquille actives en optique non linéaire pour l'imagerie et la photothérapie du cancer
Co-encadrement (80%) avec Yann Chevolot
- Oct. 2015 – ... **Mathias Urbain**
Thèse de l'Université de Savoie, bourse MENRT.
Synthèses hydrothermales d'oxydes nanométriques non centrosymétriques de morphologie contrôlée.
Co-encadrement (25%) avec Yannick Mugnier et Sandrine Beauquis (Université de Savoie)
- Nov. 2014 –
Sept. 2017 **Feixiong Chen**
Thèse de l'Ecole Centrale de Lyon, bourse du China Scholarship Council (CSC).
Dual functionalization of magnetic nanoparticles by electroactive molecules and antibodies for platelet antigens detection
Co-encadrement (80%) avec Yann Chevolot et Naoufel Haddour (laboratoire Ampère)
- Oct. 2013 –
Oct. 2016 **Maxime Bokseveld**
Thèse de l'Ecole Centrale de Lyon, bourse MENRT.
Elaboration et caractérisation de nanoparticules hybrides pour la microscopie multiphotonique et la thérapie ciblée du cancer.
Co-encadrement (60%) avec Yann Chevolot et Eliane Souteyrand
- Sept. 2009 –
Sept. 2012 **Ning Sui**
Thèse de l'Ecole Centrale de Lyon, bourse du China Scholarship Council (CSC).
Synthesis, characterization and optical properties of hybrid nanoparticles working with plasmon-fluorescence coupling.
Co-encadrement (60%) avec Eliane Souteyrand

Encadrements autres que les co-directions de thèse

ATER (1)

- Oct. 2012 –
Août 2013 **Marie-Virginie Salvia**
Elaboration de nanoparticules hybrides à cœur métallique (Au, Ag), coquille de silice et greffage d'émetteurs fluorescents.
Encadrement à 100% en recherche.

Stages et projets de recherche niveau Master 2 (8)

- Nov. 2018 –
Mai 2019 **Kostiantyn Tieriekhov.** Projet de recherche Erasmus Plus Franco-Ukrainien.
Dual functionalized magnetic nanoparticles for capture and detection of blood platelets.
Encadrement à 100%.
- Mars – Juillet
2018 **Nicolas Martinez-Rodriguez.** Stage de M2 (Master Nanoscale Engineering – Université de Lyon)

- Core-shell nanoparticles with nonlinear optical properties for cancer imaging and phototherapy.*
Encadrement à 100%.
- Fév. – Juillet 2017 **Eloïse Millet.** Stage de fin d'études (5^{ème} année INSA Lyon)
Nanoparticules coeur-coquille actives en optique non linéaire pour l'imagerie et la photothérapie du cancer.
Encadrement à 100%.
- Janv. – Mars 2016 **Amélie Aussel, Ana Belen Moral Balandin, Jean-Charles Valmorin.** Projet de recherche (option Bioingénierie et Nanotechnologies)
Étude de la résistance mécanique des membranes en silicium à différentes sollicitations : Chimiques, mécaniques et thermiques.
Co-encadrement (50%) avec Yann Chevolot.
- Janv. – Mars 2015 **Thomas Baert, Justine Beaujoin, Mathilde Guillemot, Marine Le Goas, Julien Teychene.** Projet de recherche (option Bioingénierie et Nanotechnologies)
Analyse quantitative de la fluorescence de dispersions de nanoparticules de petits volumes.
Co-encadrement (50%) avec Yann Chevolot.
- Fév. – Juillet 2014 **Marie-Charlotte Horny.** Stage de fin d'études (3^{ème} année PHELMA – INPG Grenoble)
Biocapteurs photoniques : développement de nouveaux matériaux vers une plus grande sensibilité.
Co-encadrement (50%) avec Cécile Jamois (équipe Nanophotonique de l'INL).
- Janv. – Mars 2014 **Clothilde Coilhac, Rebecca Grojsman, Pascale Laignelet, Phuoc Vy.** Projet de recherche (option Bioingénierie et Nanotechnologies)
Fonctionnalisation de nanoparticules magnétiques par de l'ADN marqué au Cy3.
Co-encadrement (50%) avec Yann Chevolot.
- Sept. 2012 – Mars 2013 **Eloïse Perrin.** Projet de fin d'études (5^{ème} année INSA Lyon)
Biocapteurs photoniques sur silicium poreux : étude de l'influence des biomolécules sur le matériau.
Co-encadrement (33%) avec Cécile Jamois et Yann Chevolot.

Stages niveau Master 1 (11)

- Janv. – Fév. 2018 **Feng Liu.** Stage M1 Nanoscale Engineering.
Effet of metal nanoparticles on blood clot nanostructure.
Co-encadrement (50%) avec Christelle Yeromonahos.
- Oct. 2017 – Avril 2018 **Mélanie Bresse, Thibault Vergez.** Projet d'application recherche (2^{ème} année ECL)
Effet des nanoparticules sur la nanostructure des caillots sanguins humains.
Co-encadrement (50%) avec Christelle Yeromonahos.
- Oct. 2016 – Avril 2017 **Xavier Denos.** Projet d'application recherche (2^{ème} année ECL)
Synthèse chimique et caractérisation de nanoparticules coeur-coquille pour l'imagerie cellulaire multiphotonique et la photothérapie.
Encadrement à 100%.
- Mai – Juillet 2016 **Shen Chen.** Stage M1 Nanoscale Engineering.
Voltamperometric characterization of electroactive molecules.
Co-encadrement (50%) avec Feixiong Chen.

- Janv. – Fév.
2015 **Ali Jaffal.** Stage M1 Nanoscale Engineering.
Chemical functionalization of silicon carbide nanoparticles with amine functional groups.
Co-encadrement (50%) avec Maxime Bokseveld.
- Mai – Juin
2013 **Hongjun Liu.** Stage M1 Nanoscale Engineering.
Synthesis and self-assembly of colloidal nanoparticles: towards colloidal phononic crystals.
Encadrement à 100%.
- Oct. 2012 –
Avril 2013 **Marine Le Goas, Lucien Talvard.** Projet d'application recherche (2^{ème} année ECL)
Nanomatériaux combinant molécules d'ADN et particules métalliques.
Co-encadrement (50%) avec Magali Phaner-Goutorbe.
- Oct. 2011 –
Janv. 2012 **Marion Mathélié.** Projet d'application recherche (2^{ème} année ECL)
Optimisation par un plan d'expériences de la synthèse de nanoparticules d'or.
Encadrement à 100%.
- Janv. 2011 **Roxanne Hachani.** Stage M1 Nanoscale Engineering.
Titration of amine groups deposited on silica colloids by Coomassie Blue colorimetric method.
Encadrement à 100%.
- Juin – Août
2010 **Laurence Allègre.** Stage 4^{ème} année INSA Lyon.
Réalisation d'un biocapteur photonique sur silicium poreux.
Co-encadrement (33%) avec Cécile Jamois et Yann Chevolut.
- Oct. 2009 –
Juin 2010 **Nicolas Beaumatin, Francisco Palazon.** Projet d'application recherche (2^{ème} année ECL)
Elaboration et caractérisation de nano-sondes biocompatibles SiC/SiO₂/Au pour l'imagerie fluorescente efficace des cellules vivantes.
Encadrement à 100%.

Autres stages

2014 (3 mois) : Santana Su (Licence, Université d'Ottawa), **2012 (2 mois)** : Mireille Dessureault (Licence, Université d'Ottawa), **2009 (1 mois)** : Alexis Marchais (1^{ère} année, Ecole Centrale de Lyon).

Rayonnement et animation scientifique au niveau recherche

Implication dans l'organisation de conférences

- **Membre du comité d'organisation des 1^{ères} journées plénières du GDR BioIngénierie des Interfaces (GDR B2I)**, Ecully, 29-30 juin 2016.
- **Membre du comité d'organisation des journées « Formation d'ingénieurs citoyens en NanoMicroTechnologies »**, Villeurbanne, 19-20 mars 2015.

Participation à des jurys de thèse en tant qu'examinatrice

- **Adalberto Piacentini**, 2017, Laboratoire de Tribologie et de Dynamique des Systèmes, Ecole Centrale de Lyon
Characterization of calcium carbonate nanoparticles in overbased alkylsalicylate detergents : a new insight on the formation mechanism.
Pr. Helmut Cölfen (University of Konstanz)

Pr. André Nonat (Université de Bourgogne)
 Pr. Juan-Manuel Garcia-Ruiz (University of Granada)
 Dr. Virginie Monnier (Ecole Centrale de Lyon)
 Pr. Fabrice Dassenoy (Ecole Centrale de Lyon)
 M. Pierre Tequi (Chevron Oronite)

- **Yuriy Zakharko**, 2012, Institut des Nanotechnologies de Lyon, INSA Lyon.
Initial and Plasmon-Enhanced Optical Properties of Nanostructured Silicon Carbide.
 Pr. Gilles Lerondel (Université de Technologies Troyes)
 Pr. Alex Rozhin (Aston University)
 Pr. Christophe Dujardin (Université Lyon I)
 Pr. Alain Dereux (Université de Bourgogne)
 Pr. Vincent Paillard (Université de Toulouse)
 Dr. Jean-Marie Bluet (INSA Lyon)
 Dr. Virginie Monnier (Ecole Centrale de Lyon)

Expertise scientifique

16 articles expertisés pour les journaux : *ACS Applied Materials & Interfaces, Advanced Healthcare Materials, Advanced Materials, Chemical Physics Letters, Journal of Luminescence, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, Journal of Nanoparticle Research, Journal of Physical Chemistry, Materials Chemistry and Physics, Nanoscale, Plasmonics, Sensors and Actuators B, Small.*

Actions de promotion de la science en recherche

- **Présentation sur le thème « Marquage de cellules cancéreuses » lors de la visite de la presse pour les 10 ans de l'INL.** 28 novembre 2017. Article paru dans le magazine Lyon Capitale (Janvier 2018) : « Vers la fin des biopsies grâce aux nanotechnologies ».
- **Participation aux Journées Portes Ouvertes de l'Ecole Centrale de Lyon :** Organisation d'une visite de laboratoire pour plusieurs groupes. 20 mai 2017.
- **Présentation des activités de recherche et d'enseignement en Chimie & Nanobiotechnologies à l'ECL.** Journée TIPE à destination des professeurs de classes préparatoires aux grandes écoles des lycées de Lyon, 25 juin 2014.
- **Consultation pour plusieurs travaux de lycéens (type TPE) ou d'étudiants en classes préparatoires (type TIPE).**

Responsabilités scientifiques dans des contrats de recherche

En tant que coordinatrice

Projet	Année d'obtention / Durée	Source de financement	Montant global alloué	Partenaires	Titre complet du projet
DOMINO	2015 / 1 an	BQR ECL	32 k€	<u>Académique</u> : Laboratoire Ampère (Ecully)	Capture et détection d'antigènes plaquettaires à l'aide de nanoparticules multifonctionnelles et d'un système microfluidique miniaturisé
Collaboration avec GAP-Biophotonics	2015 / 1 an	Partenariat Hubert Curien France-Suisse	2 k€	<u>Académique</u> : GAP-Biophotonics (Genève)	Marqueurs nano-hybrides possédant des propriétés optiques non linéaires exaltées par plasmon pour l'imagerie cellulaire
Soutien thèse M. Bokseveld	2013 / 3 ans	Labex iMUST	30 k€	<u>Académiques</u> : INL (équipe Spectroscopie et Nanomatériaux) CaRMen, Villeurbanne	Marqueurs nano-hybrides métal/silice/SiC avec des propriétés optiques linéaires et non linéaires exaltées pour l'imagerie cellulaire
BIOMAGNET	2009 / 1 an	BQR ECL	20 k€	<u>Académique</u> : Laboratoire Ampère (Ecully)	Filaments de nanoparticules magnétiques ancrés sur supports pour la détection biologique électrochimique

En tant que responsable scientifique

Projet	Année d'obtention / Durée	Source de financement	Montant global alloué	Coordinateur et partenaires	Titre complet du projet
RACINE	2017 / 3,5 ans	ANR Projet de Recherche Collaborative	440 k€	<u>Coordinateur</u> : P. F. Brevet (ILM, Villeurbanne) <u>Partenaires académiques</u> : SYMME (Annecy) INL (Ecully)	Dispositif optique non linéaire actif basé sur des nanostructures sources coeur diélectrique non centrosymétrique – coquille plasmonique
CLIPO	2016 / 3,5 ans	ANR Projet de Recherche Collaborative Entreprises	566 k€	<u>Coordinatrice</u> : C. Jamois (INL, Villeurbanne) <u>Partenaires industriels</u> : CEA Leti (Grenoble) Avalun (Grenoble)	Plateforme nanophotonique et clipsable pour la biodétection
NANOFIMT	2015 / 3 ans	Interreg V France-Suisse (FEDER)	404 k€	<u>Coordinateur</u> : R. Le Dantec (SYMME, Annecy) <u>Partenaires académiques</u> : GAP-Biophotonics (Genève) EPFL (Lausanne) <u>Partenaires industriels</u> : Epithelix (Archamps) Aurea Technology (Besançon) TIBIO (Comano, Suisse)	Nanoparticules harmoniques fonctionnalisées pour l'imagerie ultra-sensible et le théranostic

Publications scientifiques

Synthèse

Articles publiés dans des revues internationales avec comité de lecture	30
Brevet	1
Chapitre de livre	1
Conférences invitées en tant qu'oratrice	9
Facteur h (Scopus)	8
Nombre de citations (Scopus)	219

Détail

Articles publiés dans des revues internationales avec comité de lecture

- A1** J. Zhang, D. Léonard, R. Mazurczyk, C. Yeromonahos, V. Monnier, T. Géhin, S. Monfray, Y. Chevolut, J. P. Cloarec, **Orthogonal chemical functionalization of patterned Au/TiW substrate for selective immobilization of nanoparticles**, *Nanotechnology*, acceptée (2019).
- A2** J. Riporto, M. Urbain, Y. Mugnier, V. Multian, F. Riporto, K. Bredillet, S. Beauquis, C. Galez, V. Monnier, Y. Chevolut, V. Gayvoronsky, L. Bonacina, R. Le Dantec, **Second harmonic spectroscopy of ZnO, BiFeO₃ and LiNbO₃ nanocrystals**, *Optical Materials Express*, 9, 1955-1966 (2019).
- A3** M. Boksebeld, V. Kilin, R. Taitt, L. Bonacina, A. Géloën, V. Lysenko, Y. Chevolut, V. Monnier, **Nonlinear plasmonic nanohybrids as probes for multimodal cell imaging and potential phototherapeutic agents**, *Biomedical Physics and Engineering Express*, 5, 025039 (2019).
- A4** F. Chen, N. Haddour, M. Frenea-Robin, Y. Chevolut, V. Monnier, **Electroactive magnetic nanoparticles under magnetic attraction on a microchip electrochemical device**, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 475, 345-351 (2019).
- A5** T. Tytus, O. Phelan, M. Urbain, G. Clarke, J. Riporto, R. Le Dantec, G. Djanta, S. Beauquis, V. Monnier, Y. Chevolut, C. Galez, Y. Mugnier, **Preparation and preliminary non-linear optical properties of BiFeO₃ nanocrystal suspensions from a simple, chelating agent-free precipitation route**, *Journal of Nanomaterials*, 3019586 (2018).
- A6** C. Ray, M. Caillau, C. Jonin, E. Benichou, C. Moulin, E. Salmon, M. E. Maldonado, A. S. L. Gomes, V. Monnier, E. Laurenceau, J. L. Leclercq, Y. Chevolut, T. Delair, P. F. Brevet, **Quadratic nonlinear optics to assess the morphology of riboflavin doped chitosan for eco-friendly lithography**, *Optical Materials*, 80, 30-36 (2018).
- A7** K. N'Konou, M. Chalh, V. Monnier, N. P. Blanchard, Y. Chevolut, B. Lucas, S. Vedraine, P. Torchio, **Impact of Ag@SiO₂ core-shell nanoparticles on the photoelectric current of plasmonic inverted organic solar cells**, *Synthetic Metals*, 239, 22-28 (2018).
- A8** F. Chen, N. Haddour, M. Frenea-Robin, Y. Chevolut, V. Monnier, **Polyamidoamine Dendrimers as Crosslinkers for Efficient Electron Transfer between Redox Probes onto Magnetic Nanoparticles**, *ChemistrySelect*, 3, 2823-2829 (2018).
- A9** M. Boksebeld, V. Kilin, A. Géloën, G. Ceccone, A. Jaffal, C. Schmidt, S. Alekseev, V. Lysenko, J. P. Wolf, L. Bonacina, E. Souteyrand, Y. Chevolut, V. Monnier, **Folate-modified silicon carbide nanoparticles as multiphoton imaging nanoprobe for cancer-cell-specific labeling**, *RSC Advances*, 7, 27361-27369 (2017).
- A10** M. Boksebeld, N. P. Blanchard, A. Jaffal, Y. Chevolut, V. Monnier, **Shape-selective purification of gold nanorods using a simple centrifugation method**, *Gold Bulletin*, 50, 69-76 (2017).

- A11** H. Hajjaji, S. Alekseev, G. Guillot, N. P. Blanchard, V. Monnier, Y. Chevolot, G. Brémond, M. Querry, D. Philippon, P. Vergne, J. M. Bluet, **Luminescence nanothermometry with alkyl-capped silicon nanoparticles dispersed in nonpolar liquids**, *Nanoscale Research Letters*, 9, 94 (2014).
- A12** Y. Chevolot, E. Laurenceau, M. Phaner-Goutorbe, V. Monnier, E. Souteyrand, A. Meyer, T. Géhin, J. J. Vasseur, F. Morvan, **DNA directed immobilization glyocluster array: applications and perspectives**, *Current Opinion in Chemical Biology*, 18, 46–54 (2014).
- A13** N. Sui, V. Monnier, M. V. Salvia, Y. Chevolot, E. Souteyrand, **Magnetic and optical properties of Ag@SiO₂-FITC-Fe₃O₄ hybrid nanoparticles**, *Materials Science and Engineering B*, 182, 92-95 (2014).
- A14** F. Palazon, V. Monnier, Y. Chevolot, E. Souteyrand, J.P. Cloarec, **Nanotraps: Different approaches for the precise placement of micro and nano-objects from a colloidal dispersion onto nanometric scale sites of a patterned macroscopic surface**, *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 2, 249-262 (2013).
- A15** N. Sui, V. Monnier, Y. Zakharko, Y. Chevolot, S. Alekseev, J. M. Bluet, V. Lysenko, E. Souteyrand, **Fluorescent (Au@SiO₂)SiC Nanohybrids: Influence of Gold Nanoparticle Diameter and SiC Nanoparticle Surface Density**, *Plasmonics*, 8, 85-92 (2013).
- A16** N. Sui, V. Monnier, Z. Yang, Y. Chevolot, E. Laurenceau, E. Souteyrand, V. Dugas, **Preparation of core-shell silver/silica nanoparticles and their application for enhancement of Cyanine 3 fluorescence**, *International Journal of Nanoscience*, 11, 1240020 (2012).
- A17** M. Trévisan, Y. Chevolot, V. Monnier, J. P. Cloarec, E. Souteyrand, A. Duval, J. Moreau, M. Canva, **Elaboration and grafting of magnetic bead-chains for detection of anisotropy with polarimetric surface plasmon resonance imaging system**, *International Journal of Nanoscience*, 11, 1240012 (2012).
- A18** N. Sui, V. Monnier, Y. Zakharko, Y. Chevolot, S. Alekseev, J. M. Bluet, V. Lysenko, E. Souteyrand, **Plasmon-controlled narrower and blue-shifted fluorescence emission in (Au@SiO₂)SiC nanohybrids**, *Journal of Nanoparticle Research*, 14, 1004 (2012).
- A19** M. Trévisan, A. Duval, J. Moreau, B. Bartenlian, M. Canva, V. Monnier, Y. Chevolot, J. P. Cloarec, E. Souteyrand, **Assembling, locating, grafting and actuating permanent filaments for validation of Polarimetric Surface Plasmon Resonance Imaging system**, *Procedia Engineering*, 25, 872-875 (2011).
- A20** C. Jamois, C. Li, E. Gerelli, Y. Chevolot, V. Monnier, R. Skryshevskiy, R. Orobtschouk, E. Souteyrand, T. Benyattou, **Porous-silicon based planar photonic crystals for sensing applications**, *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 7713, 77130U (2010).
- A21** N. Sanz-Menez, V. Monnier, I. Colombier, P. L. Baldeck, M. Irie, A. Ibanez, **Photochromic fluorescent diarylethene nanocrystals grown in sol-gel thin films**, *Dyes and Pigments*, 89 (3), 241-245 (2011).
- A22** V. Monnier, E. Dubuisson, N. Sanz-Menez, B. Boury, V. Rouessac, A. Ayrat, R. B. Pansu, A. Ibanez, **Selective chemical sensors based on fluorescent organic nanocrystals confined in sol-gel coatings of controlled porosity**, *Microporous and Mesoporous Materials*, 132, 531-537 (2010).
- A23** E. Dubuisson, V. Monnier, N. Sanz-Menez, B. Boury, Y. Usson, R. B. Pansu, A. Ibanez, **Brilliant molecular nanocrystals emerging from sol-gel thin films: Towards a new generation of fluorescent biochips**, *Nanotechnology*, 20, 315301 (2009).
- A24** V. Monnier, M. Delalande, P. Bayle-Guillemaud, Y. Samson, P. Reiss, **Synthesis of homogeneous FePt nanoparticles using a nitrile ligand**, *Small*, 4, 1139-1142 (2008).
- A25** V. Monnier, M. Bacia, J. L. Putaux, A. Ibanez, **TEM characterization of organic nanocrystals grown in sol-gel thin films**, *Journal of Nanoparticle Research*, 10, 129-139 (2008).

- A26** V. Monnier, E. Dubuisson, N. Sanz, A. Ibanez, **Organic nanocrystals grown in sol-gel matrices: New hybrid organic-inorganic materials for optics**, *Research on Chemical Intermediates*, 34, 155-167 (2008).
- A27** S. Badré, V. Monnier, R. Méallet-Renault, C. Dumas-Verdes, E. Yu. Schmidt, A. I. Mikhaleva, G. Laurent, G. Levi, A. Ibanez, B. A. Trofimov, R. B. Pansu, **Fluorescence of molecular micro- and nanocrystals prepared with Bodipy derivatives**, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 183, 238-246 (2006).
- A28** V. Monnier, N. Sanz, M. Bacia, R. Pansu, A. Ibanez, **Molecular nanocrystals grown in sol-gel thin films for ultrabright chemical sensor applications**, *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 6192, 61921I (2006).
- A29** V. Monnier, N. Sanz, E. Botzung-Appert, M. Bacia, A. Ibanez, **Confined nucleation and growth of organic nanocrystals in sol-gel matrices**, *Journal of Materials Chemistry*, 16, 1401-1409 (2006).
- A30** E. Botzung-Appert, V. Monnier, T. H. Duong, R. Pansu, A. Ibanez, **Polyaromatic Luminescent Nanocrystals for Chemical and Biological Sensors**, *Chemistry of Materials*, 16, 1609-1611 (2004).

Brevet

- B1** A. Ibanez, V. Monnier, N. Sanz, R. Pansu, **Fluorescent Organic Nanocrystals for Producing Biosensors**, *Patent WO 2008/145875* (2008).

Chapitre de livre

- C1** C. Jamois, C. Li, E. Gerelli, R. Orobtschouk, T. Benyattou, A. Belarouci, Y. Chevlot, V. Monnier, E. Souteyrand, **New concepts of integrated photonic biosensors based on porous silicon**, *Biosensors – Emerging Materials and Applications*, Chapitre 14, Edited by Pier Andrea Serra, InTech (2011).

Conférences invitées dans un congrès national ou international

En tant qu'oratrice

- INV1** V. Monnier, **Nanoparticules plasmoniques hybrides pour l'imagerie médicale et la photothérapie**, *Workshop « Matériaux moléculaires pour les applications biomédicales »*, Montpellier, France, 29-30 mai 2018.
- INV2** V. Monnier, **Multi-functionalization of magnetic nanoparticles for biosensing applications**, *C'Nano 2017*, Villeurbanne, France, 5-7 décembre 2017.
- INV3** M. Bokseveld, N. Sui, M. V. Salvia, Y. Zakharko, S. Alekseev, A. Rogov, C. Schmidt, L. Bonacina, A. Geloën, J. M. Bluet, V. Lysenko, E. Souteyrand, Y. Chevlot, V. Monnier, **Nanoparticules hybrides plasmoniques pour le marquage biologique**, *4^{ème} journée scientifique de la Faculté des Sciences et Technologies (FST) Lyon 1*, Villeurbanne, France, 23 juin 2015.
- INV4** V. Monnier, **Chimie des interfaces sur microsystèmes et sur nanoparticules pour le diagnostic et l'imagerie**, *1^{ère} journée scientifique de l'équipe Ingénierie Moléculaire et Nano-Objets, Institut Charles Gerhardt*, Montpellier, France, 10 juin 2015.
- INV5** V. Monnier, N. Sui, M. V. Salvia, M. Bokseveld, Y. Zakharko, L. Bonacina, J. M. Bluet, V. Lysenko, M. Trévisan, A. Cornillon, J. P. Cloarec, Y. Chevlot, E. Souteyrand, **Nanoparticules: un outil pour le diagnostic et l'imagerie médicale**, *Journées NanoMicroTechnologies au service de la santé*, Saint-Etienne, France, 3-4 avril 2014.

- INV6** V. Monnier, **Nanoparticules Métal@Silice: Synthèse, Exaltation des Propriétés Optiques et Applications Biomédicales**, *Ecole Thématique CNRS Nanoparticules fonctionnelles, synthèse et applications biomédicales (détection, vectorisation imagerie)*, Porquerolles, 29 septembre-4 octobre 2013.
- INV7** V. Monnier, M. Trévisan, N. Sui, A. Cornillon, Y. Chevolot, J. P. Cloarec, E. Souteyrand, **Nanoparticules: un outil pour le diagnostic et l'imagerie médicale**, *La bio-ingénierie à l'Ecole Centrale de Lyon*, Ecully, France, 4 octobre 2012.
- INV8** V. Monnier, N. Sui, Y. Chevolot, E. Souteyrand, **Synthèse et caractérisation de nanoparticules hybrides**, *Journée Bio@ECL*, Ecully, France, 22 mars 2012.
- INV9** V. Monnier, N. Sanz, A. Ibanez, M. Delalande, P. Reiss, Y. Samson, **Synthèse et caractérisation de nanocristaux pour l'optique et le stockage magnétique**, *Conférence invitée à l'Institut de Chimie de Nice*, Nice, France, 20 avril 2007.

En tant que co-auteur

- INV10** F. Palazon, H. Chamas, D. Ferrah, P. Rojo-Romeo, Y. Chevolot, C. Chevalier, V. Monnier, G. Grenet, T. Baron, E. Souteyrand, A. Souifi, J. P. Cloarec, **Collective addressing of nano-objects on supports with surface functionalization and Physico-chemistry of interfaces**, *CMOS Emerging Technology Research*, Whistler, Canada, 17-19 juillet 2013.
- INV11** F. Palazon, H. Chamas, P. Rojo-Romeo, D. Ferrah, Y. Chevolot, C. Chevalier, G. Grenet, A. Belarouci, V. Monnier, T. Baron, E. Souteyrand, J. P. Cloarec, **Sorting, placing and anchoring nano-objects on a large scale with submicronic precision**, *LETI Innovation Days, Nanopackaging International Workshop*, Grenoble, France, 27-28 juin 2013.
- INV12** C. Jamois, M. Erouel, E. Gerelli, H. Liu, T. Benyattou, R. Orobtschouk, Y. Chevolot, V. Monnier, E. Souteyrand, **Porous-Silicon-based Photonic Crystals for Biosensing Applications**, *INDO-US International Workshop on Nanosensor Science & Technology*, Berhampur, Odisha, Inde, 27 février-1er mars 2013.
- INV13** N. Sui, M. V. Salvia, V. Monnier, Y. Zakharko, S. Alekseev, Y. Chevolot, J. M. Bluet, V. Lysenko, E. Souteyrand, **Nanoparticules hybrides Au/SiO₂/SiC à propriétés optiques exaltées pour l'imagerie cellulaire**, *Journées Lyonnaises Agents d'imagerie, « Nanoparticules multimodales pour le diagnostic et la thérapie »*, Lyon, France, 21 février 2013.
- INV14** A. Cornillon, Y. Mérieux, V. Monnier, P. Charrette, J. P. Cloarec, E. Souteyrand, **Separation and analysis of multifunctional particles by flow cytometry for blood platelet genotyping**, *Congrès international de la Société de BioChromatographie et Nanoséparation*, Bordeaux, France, 23-26 octobre 2012.
- INV15** V. Monnier, N. Sanz, A. Ibanez, **Nanocrystallization from solutions**, *International School on Crystal Growth (ISCG 2005)*, Puebla, Mexique, 7-11 mars 2005.
- INV16** N. T. Ha-Duong, V. Monnier, R. Méallet-Renault, A. Ibanez, R. B. Pansu, **Fluorescent nanocrystals as ultra-bright time resolved sensors**, *Workshop MIT/ENS Cachan Micro and Nano Photonics: from concepts to applications in Information Technologies and Nanotechnologies*, Boston, Etats-Unis, 8-13 octobre 2004.

Communications orales dans des conférences internationales

- OI1** M. Bokseveld, A. Rogov, C. Schmidt, V. Kilin, R. Taitt, L. Bonacina, A. Géloën, V. Lysenko, Y. Chevolot, V. Monnier, **Nonlinear plasmonic nanohybrids as probes for multimodal cell imaging and potential phototherapeutic agents**, *Metallic Nano-Objects (MNO) Workshop 2018*, Villeurbanne, France, 5-7 novembre 2018.

- OI2** R. Taitt, E. Millet, M. Urbain, V. Kilin, Y. Mugnier, L. Bonacina, A. Géoën, R. Le Dantec, Y. Chevolot, V. Monnier, **Gold-coated harmonic nanoparticles for multi-modal targeted imaging and treatment of cancer**, *Gold Conference 2018*, Paris, France, 15-18 juillet 2018.
- OI3** M. Frenea-Robin, F. Chen, N. Haddour, Y. Chevolot, V. Monnier, **Electroactive Magnetic Nanoparticles for Electrochemical Signal Amplification under Magnetic Attraction on a Microchip Device**, *12th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers (MagMeet)*, Copenhagen, Danemark, 22-26 mai 2018.
- OI4** F. Chen, N. Haddour, M. Frénéa-Robin, Y. Mérieux, Y. Chevolot, V. Monnier, **Double functionalization of magnetic colloids with electroactive molecules and antibody for platelet detection and separation**, *ChinaNANO 2017*, Pékin, Chine, 29-31 août 2017.
- OI5** F. Chen, N. Haddour, M. Frenea-Robin, Y. Mérieux, Y. Chevolot, V. Monnier, **Double functionalization of magnetic colloids with electroactive molecules and antibody for platelet detection and separation**, *BioNanoMed 2017*, Krems, Autriche, 20-22 mars 2017.
- OI6** M. Boksebeld, A. Rogov, C. Schmidt, L. Bonacina, S. Alekseev, A. Geloën, V. Lysenko, Y. Chevolot, E. Souteyrand, V. Monnier, **Nonlinear optical nanohybrids as labels for cell imaging in nonlinear microscopy and cancer phototherapy**, *EMRS 2016 Spring Meeting*, Lille, France, 2-6 mai 2016.
- OI7** F. Palazon, P. Rojo-Romeo, V. Monnier, F. Zuttion, M. Phaner-Goutorbe, E. Souteyrand, Y. Chevolot, J. P. Cloarec, **Colloids' selective deposition on a micropatterned gold/silica substrate based on surface chemical functionalization via self-assembled monolayers**, *4th International Colloids Conference*, Madrid, Espagne, 15-18 juin 2014.
- OI8** M. Boksebeld, N. Sui, M. V. Salvia, V. Monnier, Y. Zakharko, V. Lysenko, L. Bonacina, J. M. Bluet, Y. Chevolot, E. Souteyrand, **Enhanced optical and nonlinear optical properties of silicon carbide nanoparticles through fluorescent-plasmonic coupling for cell labeling applications**, *EMRS 2014 Spring Meeting*, Lille, France, 26-30 mai 2014.
- OI9** L. Li, V. Monnier, Y. Chevolot, E. Souteyrand, L. Guo, **Electrochemical aptamer sensor based on 1D Fe₃O₄ nanomaterials and rolling circle amplification**, *4th Workshop Centrale-Beihang*, Pékin, Chine, 19-21 mai 2014.
- OI10** N. Sui, V. Monnier, S. Alekseev, Y. Zakharko, Y. Chevolot, V. Lysenko, J. M. Bluet, E. Souteyrand, **Metal-enhanced fluorescence in hybrid (Au@SiO₂)SiC nanoprobles**, *EMRS 2011 Fall Meeting*, Varsovie, Pologne, 19-23 septembre 2011.
- OI11** N. Haddour, Y. Chevolot, M. Trévisan, V. Monnier, J. P. Cloarec, M. Phaner-Goutorbe, E. Souteyrand, L. Li, L. Guo, **Magnetic nanofilaments strongly anchored on transduction supports for biodetection (BIOMAGNET project)**, *4th Workshop Centrale-Beihang*, Ecully, France, 26-28 mai 2010.
- OI12** N. Haddour, Y. Chevolot, M. Trévisan, V. Monnier, J. P. Cloarec, M. Phaner-Goutorbe, E. Souteyrand, L. Li, L. Guo, **Magnetic filaments strongly anchored on transduction supports for biodetection**, *3rd Workshop Centrale-Beihang*, Pékin, Chine, 10-12 juin 2009.
- OI13** V. Monnier, N. Sanz, R. Pansu, A. Ibanez, **Organic nanocrystals grown in sol-gel thin films for ultrabright chemical and biological sensors**, *SPIE Photonics Europe 2006*, Strasbourg, France, 3-6 avril 2006.
- OI14** V. Monnier, N. Sanz, P. L. Baldeck, R. Pansu, A. Ibanez, **Confined growth of organic nanocrystals for optics**, *CREST Symposium on organic nanocrystals and nanoparticles*, Sendai, Japon, 2 octobre 2005.
- OI15** N. T. Ha-Duong, V. Monnier, R. Méallet-Renault, A. Ibanez, R. B. Pansu, **Fluorescent nanocrystals as ultra-bright time resolved sensors**, *Europtrode VII*, Madrid, Espagne, 5-7 avril 2004.
- OI16** E. Botzung-Appert, V. Monnier, R. B. Pansu, A. Ibanez, **Organic nanocrystals grown in sol-gel matrices for linear and nonlinear optics**, *Japan-France Conference on Molecular Photonics and Biophotonics at Micro and Nano-scale (JFC2003)*, Hyogo, Japon, 26-29 octobre 2003.

Communications orales dans des conférences nationales

- ON1** M. Urbain, F. Riporto, V. Monnier, S. Beauquis, Y. Mugnier, **Synthèse solvothermale de LiNbO_3 nanométrique de morphologie contrôlée**, *Matériaux 2018*, Strasbourg, France, 19-23 Novembre 2018.
- ON2** K. N'Konou, M. Chalh, V. Monnier, S. Vedraïne, Y. Chevolut, P. Torchio, **Propriétés photoélectriques de cellules solaires organiques inverses intégrant des nanosphères de type cœur-coquille Ag@SiO_2** , *SPIc 2017: Deuxième Congrès National Science et Technologie des Systèmes pi-Conjugués*, Limoges, France, 16-20 Octobre 2017.
- ON3** J. P. Cloarec, V. Monnier, N. Haddour, G. Le Mauff, J. P. Berthet, « **Comment adapter un jeu d'entreprise pour enseigner la Chimie en école d'ingénieur ?** », *8^{ème} colloque Questions de Pédagogie dans l'Enseignement Supérieur (QPES)*, Brest, France, 17-19 juin 2015.
- ON4** M. Bokseveld, N. Sui, M. V. Salvia, Y. Zakharko, L. Bonacina, J. M. Bluet, V. Lysenko, Y. Chevolut, E. Souteyrand, V. Monnier, **Synthèse de nanoparticules hybrides à propriétés optiques linéaires et non linéaires exaltées par couplage plasmonique**, *Colloque de Recherche Inter-Ecoles Centrales*, Ecully, France, 2-6 juin 2014.
- ON5** F. Palazon, P. Rojo-Romeo, V. Monnier, D. Ferrah, A. Belarouci, C. Jamois, Y. Chevolut, J. P. Cloarec, **Combinaison de voies bottom-up et top-down pour la fabrication de surfaces nanostructurées fonctionnelles**, *Colloque de Recherche Inter Ecoles Centrales (CRIEC)*, Marseille, France, 11-15 juin 2012.
- ON6** N. Sui, V. Monnier, Y. Zakharko, S. Alekseev, J. M. Bluet, V. Lysenko, E. Souteyrand, **Plasmon-Controlled Fluorescence in $(\text{Au@SiO}_2)\text{SiC}$ Nanohybrids**, *Après-midi thématique Plasmonique*, Ecully, France, 27 octobre 2011.
- ON7** N. Sui, V. Monnier, Y. Zakharko, Y. Chevolut, S. Alekseev, J. M. Bluet, V. Lysenko, E. Souteyrand, **Fluorescence Plasmon-Contrôlée dans des Nanohybrides $(\text{Au@SiO}_2)\text{SiC}$** , *Discussions Or-Nano "Nanoparticules d'Or et Biocapteurs"*, Paris, France, 18 octobre 2011.
- ON8** N. Sui, E. Souteyrand, V. Monnier, **Hybrid $\text{Au@SiO}_2\text{-SiC}$ nanoparticles as potential all biocompatible nanoprobe**, *Colloque de Recherche Inter-Ecoles Centrales*, Paris, France, 14-18 juin 2011.
- ON9** N. Sui, E. Souteyrand, V. Monnier, **Hybrid metal SiC nanoprobe for efficient fluorescent cancer cells imaging and detection**, *Colloque de Recherche Inter-Ecoles Centrales*, Lille, France, 12-15 juin 2010.
- ON10** O. Plantevin, A. Delattre, V. Monnier, M. Delalande, Y. Samson, P. Reiss, H. Cruguel, O. Kaïstov, F. Fortuna, H. Bernas, **Contrôler l'anisotropie magnétique d'une assemblée de nanoparticules de FePt par irradiation ionique**, *1^{ère} réunion du GDR Nanoalliages*, Ile d'Oléron, France, 9-11 juin 2008.
- ON11** V. Monnier, J. Eschbach, M. Thomassey, D. Rouxel, Y. Fort, **Nanocomposites hybrides piézoélectriques à base de nanoparticules de Niobate de Lithium (LN)**, *Congrès SFC Grand-Est 5*, Nancy, 22-23 mai 2008.
- ON12** A. Ibanez, V. Monnier, N. Sanz, **Les nanocristaux organiques : élaboration, propriétés optiques et perspectives d'applications**, *Journées Nationales des Cristaux pour l'Optique (JNCO 2005)*, Ecully, France, 12-14 décembre 2005.
- ON13** M. Bacia, V. Monnier, N. Sanz, A. Ibanez, **Information structurale à partir de la diffraction électronique d'objets organiques**, *Groupement des utilisateurs de microscopes électroniques*, Lille, France, 16-17 novembre 2005.
- ON14** V. Monnier, N. Sanz, R. Pansu, A. Ibanez, **Nanocristaux organiques luminescents inclus dans des couches minces sol-gel pour la réalisation de capteurs chimiques et biologiques**, *4^{ème} atelier régional : Matériaux sol-gel pour l'optique*, Grenoble, France, 7 décembre 2004.
- ON15** V. Monnier, L. Cagnon, R. Pansu, A. Ibanez, **Nanocristaux organiques luminescents inclus dans des couches minces sol-gel pour la réalisation de capteurs chimiques et biologiques**, *3^{ème} atelier régional : Matériaux sol-gel pour l'optique*, Annecy, France, 4 décembre 2003.

Posters

- P1** R. Taitt, E. Millet, M. Urbain, V. Kilin, Y. Mugnier, L. Bonacina, A. Géoën, R. Le Dantec, Y. Chevolot, V. Monnier, **Gold-coated harmonic nanoparticles for multi-modal targeted imaging and treatment of cancer**, *Summer School on Photothermal effects in Plasmonics*, Porquerolles, France, 24-29 juin 2018.
- P2** M. Boksebeld, V. Kilin, A. Géoën, G. Ceccone, A. Jaffal, C. Schmidt, S. Alekseev, V. Lysenko, J. P. Wolf, L. Bonacina, Y. Chevolot, V. Monnier, **Folate-modified silicon carbide nanoparticles as multiphoton imaging nanoprobe for cancer-cell specific labeling**, *C’Nano 2017*, Villeurbanne, France, 5-7 décembre 2017.
- P3** K. N’Konou, M. Chalh, V. Monnier, N. Blanchard, Y. Chevolot, B. Lucas, S. Vedraïne, P. Torchio, **Impact of Ag@SiO₂ core-shell nanoparticles on the photoelectric current of plasmonic inverted organic solar cells**, *C’Nano 2017*, Villeurbanne, France, 5-7 décembre 2017.
- P4** M. Boksebeld, A. Rogov, C. Schmitt, S. Alekseev, L. Bonacina, A. Géoën, V. Lysenko, Y. Chevolot, E. Souteyrand, V. Monnier, **Synthesis and characterization of hybrid nanoparticles for non linear optic cell imaging**, *NanoNano*, Villeurbanne, France, 15-16 juin 2015.
- P5** V. Monnier, S. Su, L. Ducrocq, O. Vidal, M. Noël, A. Angeli, F. Morvan, J. J. Vasseur, J. M. Lacroix, Y. Chevolot, E. Souteyrand, **Magnetic glyco-nanoparticles for the identification of new lectin targets involved in Pseudomonas Aeruginosa adhesion**, *EMRS Spring Meeting 2015*, Lille, France, 11-15 mai 2015.
- P6** S. Sultana, M. V. Salvia, Y. Chevolot, E. Souteyrand, M. Lamy de la Chapelle, V. Monnier, N. Djaker, **Characterization of fluorescent core-shell gold-silica nanoparticles by Fluorescence Correlation Spectroscopy**, *Focus on Microscopy 2015*, Göttingen, Allemagne, 29 mars-1^{er} avril 2015.
- P7** M. Boksebeld, A. Rogov, L. Bonacina, S. Alekseev, V. Lysenko, Y. Chevolot, E. Souteyrand, V. Monnier, **Gold-based nanohybrids with plasmon-enhanced nonlinear optical properties for cell imaging**, *Société Française de Nanomédecine*, Nancy, France, 9-12 décembre 2014.
- P8** N. Sui, M. V. Salvia, M. Boksebeld, S. Alekseev, Y. Chevolot, V. Lysenko, J. M. Bluet, E. Souteyrand, V. Monnier, **Metal@Silica nanohybrids for fluorescent enhancement of organic dyes and inorganic nanoparticles**, *Journées NanoMicroTechnologies au service de la santé*, Saint-Etienne, France, 3-4 avril 2014.
- P9** F. Palazon, F. Zuttion, E. Souteyrand, V. Monnier, M. Phaner-Goutorbe, P. Rojo-Romeo, Y. Chevolot, J. P. Cloarec, **Selective surface chemical functionalization of micropatterned gold/silica substrates: A mean for colloids’ selective deposition on microsystems**, *6^{ème} colloque UMI-LN2*, Allevard-les-Bains, France, 9-10 juillet 2014.
- P10** H. Hajjaji, Y. Ryabchikov, J. M. Bluet, V. Lysenko, P. Vergne, D. Philippon, M. Query, G. Brémond, G. Guillot, N. Blanchard, S. Alekseev, V. Monnier, Y. Chevolot, **Photoluminescence thermometry with alkyl - terminated silicon nanoparticles dispersed in non - polar liquids**, *Journées Nationales sur les Technologies Emergentes en micro-nanofabrication (JNTE)*, Evian, France, 21-23 mai 2013.
- P11** C. Jamois, M. Erouel, E. Gerelli, H. Liu, A. Harouri, T. Benyattou, R. Orobitchouk, Y. Chevolot, V. Monnier, E. Souteyrand, **Porous-Silicon Photonics for Biosensing**, *Conférence MediNano*, Lyon, France, 30-31 octobre 2013.
- P12** C. Jamois, M. Erouel, E. Gerelli, H. Liu, A. Harouri, T. Benyattou, R. Orobitchouk, Y. Chevolot, V. Monnier, E. Souteyrand, **Porous-Silicon Photonics for Biosensing**, *26^{ème} Entretiens Jacques Cartier, Colloque 6 – Santé, Biologie, Micronanosystèmes*, Villeurbanne, France, 25-26 novembre 2013.
- P13** A. Cornillon, J. P. Cloarec, Y. Mérieux, V. Monnier, P. Charrette, E. Souteyrand, **Système de capture d’ADN à base de particules magnétiques et fluorescentes biofonctionnalisées pour le génotypage plaquettaire**, *Ecole Thématique CNRS « Nanoparticules fonctionnelles*:

synthèses, caractérisation et applications biomédicales », Porquerolles, France 30 septembre-4 octobre 2013.

- P14** A. Cornillon, J. P. Cloarec, Y. Mérieux, V. Monnier, P. Charrette, E. Souteyrand, **Système de capture d'ADN à base de particules magnétiques et fluorescentes multifonctionnelles couplé à la cytométrie de flux pour le génotypage sanguin**, *Acfas2013, Colloque 128 : Nanoparticules et nanomatériaux pour la médecine*, Université Laval, Québec, Canada, 6-7 mai 2013.
- P15** C. Jamois, M. Erouel, V. Monnier, Y. Chevolut, T. Benyattou, **BiP BiP : Biocapteurs Photoniques à base de Silicium Poreux**, *Journées Nationales en Nanosciences et Nanotechnologies (J3N)*, Bordeaux, France, 7-9 novembre 2012.
- P16** H. Hajjaji, J. M. Bluet, P. Vergne, D. Philippon, G. Brémond, Y. Ryabchikov, S. Alekseev, V. Monnier, Y. Chevolut, **Nanosondes fluorescentes à base de silicium (Si) et de carbure de silicium (SiC) pour l'exploration des pressions et températures dans les films lubrifiants**, *Colloque UMI-LN2*, Sherbrooke, Canada, 15-18 juillet 2012.
- P17** N. Sui, V. Monnier, S. Alekseev, Yuriy Zakharko, Y. Chevolut, V. Lysenko, J. M. Bluet, E. Souteyrand, **Tunable plasmonic-fluorescent nanohybrids for the exaltation of organic and inorganic fluorescent emitters**, *EMRS 2012 Spring Meeting*, Strasbourg, France, 14-18 mai 2012.
- P18** N. Sui, V. Monnier, S. Alekseev, Yuriy Zakharko, Y. Chevolut, V. Lysenko, J. M. Bluet, E. Souteyrand, **Metal-enhanced fluorescence in hybrid (Au@SiO₂)SiC nanoprobés**, *4^{ème} colloque du Laboratoire International Associé : Nanotechnologies & Nanosystèmes*, Allevard-les-Bains, France, 10-13 juillet 2011.
- P19** N. Sui, V. Monnier, S. Alekseev, Y. Zakharko, Y. Chevolut, V. Lysenko, J. M. Bluet, E. Souteyrand, **Metal-Enhanced Fluorescence in Hybrid (Au@SiO₂)-SiC Nanoprobés**, *Ecole thématique Nano-Objets aux InterfaceS (NOIS 2011)*, Anglet, France, 16-20 mai 2011.
- P20** N. Sui, V. Monnier, S. Alekseev, Yuriy Zakharko, Y. Chevolut, V. Lysenko, J. M. Bluet, E. Souteyrand, **Elaboration and Characterization of Hybrid (Au@SiO₂)-SiC Nanoprobés for Efficient Fluorescent Imaging of Living Cells**, *Hybrid Materials 2011*, Strasbourg, France, 7-10 mars 2011.
- P21** N. Sui, V. Monnier, Y. Zakharko, Y. Chevolut, O. Marty, V. Lysenko, M. Phaner-Goutorbe, J. M. Bluet, E. Souteyrand, **Hybrid Gold/Silica/Silicon Carbide nanoprobés for efficient fluorescent imaging of living cells**, *3^{ème} colloque du Laboratoire International Associé « Nanotechnologies & Nanosystèmes »*, Sherbrooke, Canada, 12-16 juillet 2010.
- P22** N. Sui, V. Monnier, Y. Zakharko, Y. Chevolut, O. Marty, V. Lysenko, M. Phaner-Goutorbe, J. M. Bluet, E. Souteyrand, **Hybrid Au/SiO₂/SiC nanoprobés for efficient fluorescent imaging of living cells**, *Journées Nanosciences et Industrie*, Ecully, France, 25-26 mars 2010.
- P23** N. Sui, V. Monnier, S. Alekseev, Y. Zakharko, Y. Chevolut, O. Marty, V. Lysenko, M. Phaner-Goutorbe, J. M. Bluet, E. Souteyrand, **Hybrid Au/SiO₂/SiC nanoprobés for efficient fluorescent imaging of living cells**, *Colloque Jacques Cartier « Se connecter au Nanomonde »*, Ecully, France, 30 novembre-1^{er} décembre 2009.
- P24** V. Monnier, S. Alekseev, V. Lysenko, O. Marty, M. Phaner-Goutorbe, Y. Chevolut, E. Souteyrand, **Nano-sondes biocompatibles « SiC/SiO₂/Au » pour l'imagerie fluorescente efficace des cellules vivantes**, *2^{ème} Colloque du Laboratoire International Associé Nanotechnologies & Nanosystèmes*, Anse, France, 1^{er}-3 juillet 2009.
- P25** C. Jamois, T. Benyattou, C. Li, R. Orobtschouk, Y. Chevolut, V. Monnier, E. Souteyrand, **Porous-Silicon-based Photonic Crystals for Biosensing Applications**, *2^{ème} Colloque du Laboratoire International Associé Nanotechnologies & Nanosystèmes*, Anse, France, 1^{er}-3 juillet 2009.
- P26** O. Plantevin, A. Gentils, B. Décamps, F. Fortuna, A. Delattre, V. Monnier, P. Reiss, Y. Samson, **Light ion irradiation of FePt nanoparticles**, *XI^{ème} colloque Sfm*, Paris, France, 22-26 juin 2009.

- P27** P. Bayle-Guillemaud, M. Delalande, V. Monnier, Y. Samson, P. Reiss, **In situ L1₀ ordering of FePt nanoparticles**, *14th European Microscopy Congress*, Aachen, Allemagne, 1–5 septembre 2008.
- P28** V. Monnier, J. Eschbach, M. Thomassey, D. Rouxel, Y. Fort, **Piezoelectric hybrid nanocomposites based on lithium niobate (LN) nanoparticles**, *5th International Conference on Nanosciences & Nanotechnologies*, Thessalonique, Grèce, 14-16 juillet 2008.
- P29** A. Delattre, V. Monnier, M. Delalande, Y. Samson, P. Reiss, **Synthesis and characterisation of FePt nanoparticles suitable for magnetic data storage devices**, *Nanoscience with Nanocrystals (NaNax 3)*, Lecce, Italie, 21-23 mai 2008.

II. Activités de recherche

Préambule

Après avoir fait des études d'ingénieur à l'École Nationale Supérieure de Physique de Grenoble (2000-2003) et m'être spécialisée en Physique des Matériaux avec un DEA à l'Université Grenoble 1 (2002-2003), j'ai choisi un stage de fin d'études permettant de combiner différents aspects : l'élaboration de matériaux, leur caractérisation et une application concrète. J'avais plusieurs souhaits. En premier lieu, je voulais élaborer moi-même des matériaux par une méthode simple et ne nécessitant pas de conditions extrêmes de pression ou de température. Ainsi la chimie des matériaux et plus particulièrement la chimie sol-gel, qui est classée parmi les méthodes de chimie douce m'a immédiatement attirée. Ensuite, je souhaitais ne pas « m'enfermer » dans un domaine de recherche particulier, mais plutôt travailler sur un sujet pluridisciplinaire combinant la physique, la chimie et pourquoi pas la biologie. En cela, les nanotechnologies m'ont tout de suite intéressée, d'autant plus que l'environnement scientifique grenoblois y était tout à fait favorable. Après cette première expérience en recherche qui s'est poursuivie par une thèse (2003-2006), j'ai toujours cherché à combiner ces différents aspects, en restant dans le domaine des nanoparticules, tout en essayant de diversifier mes expériences avec différentes méthodes de synthèses et applications visées.

Au cours de ma thèse au Laboratoire de Cristallographie à Grenoble (aujourd'hui rattaché à l'Institut Néel), je me suis d'abord intéressée à l'élaboration de matériaux nanocomposites à base de nanocristaux organiques fluorescents inclus dans des couches minces sol-gel. L'application visée était de concevoir un capteur ultrasensible de molécules chimiques et biologiques en solutions aqueuses. J'ai ensuite poursuivi mes activités sur les nanoparticules en changeant de domaines d'application. Ainsi, au cours d'un premier post-doctorat au CEA Grenoble (2006-2007), mon sujet de recherche portait sur la nucléation et la croissance de nanoparticules métalliques FePt synthétisées par chimie colloïdale pour le stockage magnétique. Enfin, lors d'un deuxième post-doctorat à l'Université de Nancy (2008), mon objectif était d'élaborer des nanocomposites piézoélectriques à base de nanoparticules de LiNbO_3 incluses dans des couches minces de polymères.

Le lien entre ces différentes activités est donc clairement la synthèse et la caractérisation de nanoparticules par voie chimique, en utilisant des méthodes de nucléation et de croissance de particules nanométriques en solution. La variété des techniques que j'ai pu utiliser en synthèse (chimie sol-gel, organo-métallique, réduction de sels métalliques), en caractérisation (microscopie optique et électronique, spectroscopie optique, magnétométrie) pour différentes applications (capteurs fluorescents, stockage magnétique, capteurs piézoélectriques) ont abouti à la construction de mes projets de recherche actuels.

En intégrant l'équipe Chimie et Nanobiotechnologies de l'INL en tant que maître de conférences (2008), j'avais pour mission d'utiliser des nanoparticules pour des applications biomédicales. J'ai donc essayé de combiner l'ensemble de mes savoir-faire acquis en thèse et en post-doctorat pour construire mes différents projets de recherche en m'appuyant sur les compétences de mon équipe d'accueil. Je me suis fixée comme objectif général d'élaborer des nanosondes multifonctionnelles, fournissant un signal physique intense et capables d'atteindre une cible biologique spécifique grâce à une fonctionnalisation de surface adaptée.

Ces différentes activités de recherche vont être présentées dans cette section en commençant par une introduction sur les nanoparticules multifonctionnelles.

Introduction

Dans le domaine des nanotechnologies, le début du XXI^{ème} siècle a été marqué par le rapprochement des sciences des matériaux et des sciences du vivant ^[1]. Avec la capacité de synthétiser des nanomatériaux de taille, forme et composition contrôlées, il est devenu possible de contrôler finement les propriétés optiques, magnétiques, électriques et mécaniques de ces objets à l'échelle du nanomètre. Cette dimension étant également celles des objets biologiques comme les protéines, les brins d'ADN ou les virus, les nanomatériaux peuvent être combinés au vivant sous la forme de nanostructures hybrides, être utilisés pour explorer et manipuler les cellules ou pour la détection de biomolécules. De nombreuses applications potentielles peuvent alors être envisagées dans le domaine de la médecine régénérative à l'aide de biomatériaux nanostructurés, de la thérapie avec des nanomédicaments pouvant être guidés vers leur cible et localisés par imagerie, ou du diagnostic avec des implants et des capteurs miniaturisés.

Idéalement, les nanomatériaux doivent pouvoir remplir plusieurs fonctions simultanément. On parle alors de nanoparticules multifonctionnelles. Ainsi les nanoparticules « théranostiques » sont capables de transporter un agent de contraste et un principe actif pharmaceutique. Dans le domaine des biocapteurs, une nanoparticule doit pouvoir faciliter la capture d'une cible dans le milieu d'analyse puis réaliser la transduction de cet événement de reconnaissance en signal physique mesurable. Ainsi il y a un intérêt évident à coupler différents matériaux et différentes molécules au sein d'une même nanoparticule.

Plusieurs défis technologiques doivent alors être surmontés. D'une part, l'assemblage de matériaux différents ou de molécules et de matériaux différents de façon contrôlée à l'échelle du nanomètre nécessite de mettre en œuvre une chimie adaptée. D'autre part, les propriétés provenant des différents composants doivent rester actives sur la nanoparticule multifonctionnelle et si possible « communiquer » dans un ordre bien déterminé pour pouvoir produire les fonctions attendues.

Les nanoparticules multifonctionnelles qui ont été élaborées depuis ces deux dernières décennies sont tellement diverses qu'il est impossible de parvenir à toutes les citer de façon exhaustive. En particulier, le domaine de la santé a généré une grande variété de nanoparticules multifonctionnelles, notamment à cause des nombreuses techniques d'imagerie existantes. Afin d'avoir tout de même un aperçu de l'état de l'art, nous avons classé ces nanoparticules en deux familles : 1) nanoparticules couplant deux matériaux différents, 2) nanoparticules hybrides couplant des matériaux inorganiques et des molécules organiques. Nous nous limiterons à leurs applications dans le domaine biomédical. Les méthodes de synthèse ne seront pas détaillées.

1) Nanoparticules couplant deux matériaux différents

Ces nanoparticules sont diverses en raison de la nature des matériaux choisis et de la façon de les combiner selon différentes architectures et géométries. Les matériaux couplés peuvent être des métaux (en général or ou argent), des matériaux magnétiques (en général de l'oxyde de fer), des semi-conducteurs, des oxydes (en général de la silice mais aussi des oxydes de terres rares pour leurs propriétés de luminescence) ou des polymères. Les architectures trouvées dans la littérature sont de différents types (Figure 1): « Janus » ^[2] (dimères de nanoparticules ou couverture asymétrique de la surface d'une nanoparticule par un matériau différent), cœur-satellite ou cœur-coquille ^[3], « hollow »

ou « *yolk-shell* »^[4] c'est-à-dire avec une partie vide permettant par exemple d'encapsuler un principe actif, « *nano-rattle* »^[5] (identique à la structure « *hollow* » mais avec une coquille poreuse), voire même « *nanomatryoshka* » lorsque plusieurs coquilles différentes sont empilées sur le même cœur^[6]. De plus, toutes ces nano-architectures peuvent aussi être réalisées à partir de nanoparticules non sphériques, comme par exemple des nanobâtonnets ou des nano-étoiles.

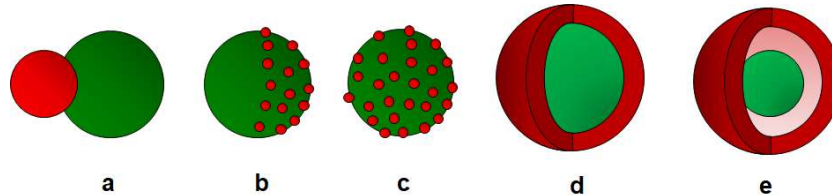


Figure 1. Exemples d'architectures possibles pour des nanoparticules couplant deux matériaux différents : dimère « *Janus* » (a), « *Janus* » avec couverture partielle de la surface (b), cœur-satellite (c), cœur-coquille (d) et « *hollow* » (e).

Chaque type d'architecture a un intérêt particulier en fonction de l'application visée. Dans le cas des nanoparticules type « *Janus* », le but est de découpler les propriétés des deux matériaux et de pouvoir les manipuler séparément pour une expérience particulière. Par exemple, des nanoparticules « *Janus* » or/polystyrène ont été fabriquées pour permettre la détection par SERS (or) d'une part, et la bio-reconnaissance/délivrance de médicaments (polystyrène fonctionnalisé) d'autre part^[7]. Dans le cas des nanoparticules à structure cœur-satellite ou cœur-coquille et leurs dérivées, l'objectif est plutôt de provoquer une synergie entre les deux matériaux. Ainsi des nanoparticules comportant un cœur d'oxyde de fer et une coquille d'or ont permis d'amplifier la génération de chaleur en combinant les effets hyperthermique du cœur magnétique et photothermique de la coquille plasmonique^[8]. La silice est également très utilisée en tant que coquille sur des cœurs métalliques^[9] ou magnétiques^[10] pour servir de couche protectrice vis-à-vis du milieu extérieur^[11] ou au contraire de matrice poreuse pour assurer la diffusion contrôlée de molécules^[12], ou enfin d'espaceur pour moduler les propriétés optiques de nanosondes lumineuses telles que des nanoparticules semi-conductrices^[13] ou d'oxydes de terres rares^[14]. La silice sert aussi de plate-forme d'ancrage pour une fonctionnalisation ultérieure^[15]. Ce matériau est également largement utilisé en tant que cœur pour faire croître des coquilles métalliques ou magnétiques. En particulier, les nanocoquilles d'or, comme nous aurons l'occasion d'en rediscuter par la suite, présentent une bande plasmon dans le proche infrarouge (fenêtre de transparence biologique), ce qui les rend particulièrement intéressantes en tant que sondes optiques pour des biocapteurs analysant directement des fluides biologiques complexes^[16] ou en tant qu'agents thérapeutiques grâce aux propriétés photothermiques de l'or^[17]. Ces nanocoquilles d'or peuvent également être déposées sur des cœurs magnétiques pour pouvoir obtenir des sondes multimodales pour l'imagerie, les nanoparticules d'oxyde de fer étant de bons agents de contraste pour l'IRM tandis que les nanocoquilles d'or sont bien visibles en CT^[18]. Les structures complexes, telles que les nanoparticules à coquilles multiples, peuvent être utilisées à des fins d'amplification de signal Raman ou fluorescent lorsque des émetteurs sont insérés par exemple entre deux coquilles métalliques^[19,20]. Pour les nano-architectures non sphériques, il s'agit souvent d'exalter les propriétés physiques, comme par exemple pour les nanobâtonnets et les nano-étoiles métalliques qui présentent des champs proches plasmoniques à leurs extrémités (« *hot spots* »). Le couplage or/argent dans des nanobâtonnets cœur-coquille présente un grand intérêt puisqu'il permet d'augmenter nettement la sensibilité de la détection par SERS par rapport à des nanobâtonnets d'or sans coquille^[21].

2) Nanoparticules hybrides couplant des matériaux inorganiques et des molécules organiques

La notion de matériaux hybrides inorganique-organique, définie notamment par C. Sanchez *et al* [22], prend tout son sens dans le domaine des nanoparticules pour la santé puis qu'il s'agit de faire interagir des nano-objets souvent inorganiques avec des biomolécules ou des tissus biologiques purement organiques. Afin que cette interaction soit spécifique et ciblée, une modification chimique de la surface des nanoparticules par des molécules organiques ou une encapsulation de ces nanoparticules dans une capsule organique biocompatible est en général indispensable. De la même manière que pour les nanoparticules couplant deux matériaux différents, la variété est grande en termes de molécules/matériaux combinés et de nano-architectures pour les nanoparticules hybrides. Les matériaux utilisés sont ceux cités précédemment avec une emphase particulière sur la silice qui représente une plate-forme d'ancrage versatile et qui, grâce à sa porosité ajustable, sert de matrice pour l'encapsulation de nombreuses molécules [23]. Si on tente de lister les grandes familles de nano-architectures présentes dans la littérature, on peut citer (Figure 2): les nanoparticules type « core-brush » [24] (cœur inorganique avec des molécules organiques adsorbées en greffées en surface), les nanogels [25] (nanoparticules inorganiques piégées dans une structure polymérique type gel) et les « nanocarriers » [26] (coquilles inorganique ou organique encapsulant une espèce organique à l'intérieur). La nanostructure type « Janus » est également trouvée sous forme de nanoparticule hybride inorganique/organique [27].

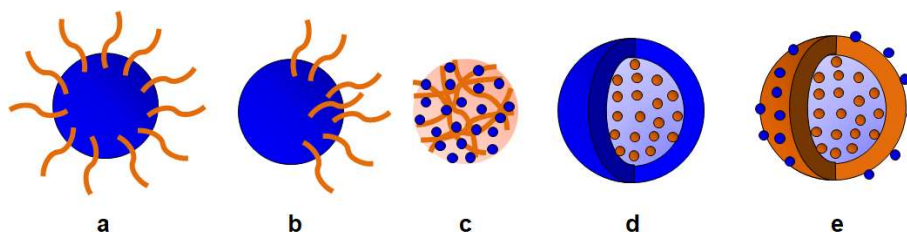


Figure 2. Exemples d'architectures possibles pour des nanoparticules hybrides inorganique/organique : « core-brush » (a), « Janus » (b), nanogel (c), « nanocarrier » inorganique (d) et « nanocarrier » organique avec des satellites inorganiques en surface (e). La composante inorganique est représentée en bleu, la composante organique en orange.

La structure type « core-brush » est la plus simple à réaliser lorsqu'il s'agit de fonctionnaliser le cœur inorganique pour atteindre une cible biologique spécifique. Quand la partie « brush » est greffée de façon covalente, la partie « core » est en général préalablement modifiée par une couche chimique d'accroche qui dépend de la nature du matériau composant le cœur et de la fonction de ciblage à apporter à la nanostructure. Les molécules d'accroche les plus courantes sont les silanes (pour les cœurs de silice ou d'oxyde) et les thiols (pour les cœurs d'or) puisque l'autre extrémité de ces molécules peut être extrêmement variée (groupements amines, acides carboxyliques, thiols, acides phosphoniques, etc) [24]. Des molécules de petite taille sont en général utilisées mais les dendrimères sont également intéressants pour augmenter la densité surfacique de sondes organiques et améliorer la stabilité colloïdale des nanoparticules [28]. Les molécules greffées sur ces couches d'accroche peuvent être des biomolécules dont la nature dépend de l'application visée : par exemple, oligonucléotides pour réaliser des biocapteurs [29] ou anticorps pour l'imagerie de cellules cancéreuses [30]. Cette structure est également utilisée pour immobiliser des émetteurs Raman qui dans ce cas doivent se situer à proximité d'un cœur métallique pour générer un effet SERS [31]. L'adsorption physique est aussi une approche possible pour élaborer des nanostructures « core-brush ». Elle est en général plus simple

à mettre en œuvre. Elle concerne préférentiellement l'adsorption de polymères qui peuvent servir à augmenter la stabilité colloïdale des nanoparticules en milieu biologique ou à réduire leur cytotoxicité^[32], ou avoir une réelle fonction active comme par exemple des polymères répondant à une stimulation (température, pH)^[33] ou des biopolymères pour assurer une fonction de reconnaissance biologique dans le cas par exemple de la délivrance ciblée de médicaments^[34]. La géométrie « Janus », dans le cas des nanoparticules type « core-brush », présente un intérêt notamment pour la délivrance de médicaments en permettant par exemple la délivrance simultanée de deux principes actifs différents ou en associant au sein de la même nanoparticule un agent thérapeutique et un agent de diagnostic^[27]. L'architecture « nanogel » permet d'encapsuler des nanoparticules inorganiques servant par exemple d'agents de diagnostic ou d'imagerie dans une capsule polymère contenant une grande quantité d'eau sans pour autant se dissoudre en milieu aqueux^[25]. La capsule peut aussi subir un gonflement sous l'effet d'une stimulation externe, ce qui permet de libérer les nanoparticules *in vivo* au niveau de la cible sans qu'ils soient métabolisés ou qu'ils aient un effet toxique, comme c'est le cas par exemple pour les agents d'imagerie IRM^[35]. Enfin, les « nanocarriers » sont particulièrement utiles pour la délivrance d'agents thérapeutiques. La coquille de la capsule peut être de nature très diverse, cependant deux types particuliers émergent dans la littérature : la silice mésoporeuse en ce qui concerne les coquilles inorganiques et les liposomes pour les coquilles organiques. Dans le cas de la silice mésoporeuse, il est nécessaire d'ajouter des composants type « nanovalves » dont l'ouverture est activable afin d'éviter un relargage trop précoce^[36]. Pour les liposomes, les principes actifs sont naturellement insérés au moment de la formation de la structure en contrôlant la concentration des phospholipides, la température et le pH. Leur libération peut être réalisée par une augmentation de température au-delà du point de fusion des liposomes^[37] ou par effet de radiofréquences si des nanoparticules répondant à un champ magnétique sont encapsulées^[38]. Récemment des liposomes recouverts de nanoparticules d'or ont aussi été synthétisés pour pouvoir bénéficier de l'effet de cavitation plasmonique (formation de nanobulles) induit par une excitation laser pulsée^[39].

Mes activités de recherche dans ce contexte

Je me suis intéressée aux nanomatériaux hybrides dès mon DEA et ma thèse, où j'ai élaboré des nanocristaux organiques dans des matrices minérales de silice. Ensuite, j'ai diversifié mes activités vers de nouveaux matériaux (alliages et oxydes magnétiques, oxydes piézoélectriques, métaux, semi-conducteurs) tout en continuant de les combiner à des molécules organiques pour les fonctionnaliser ou pour les disperser dans des matrices. Ce sont ces différents aspects que nous allons tenter d'illustrer dans ce mémoire, à travers plusieurs exemples. Concernant l'assemblage de matériaux à l'échelle du nanomètre, nous nous intéresserons à la synthèse de nanoparticules cœur-coquille faisant intervenir des matériaux assez différents du point de vue de leur nature et de leur structure : métaux/oxydes/semi-conducteurs, amorphes/cristallins, organique/inorganique, sphériques/allongées. La variété des propriétés physiques sera également mise en avant : fluorescence, plasmonique, magnétisme, optique non linéaire, électrochimie, qui nécessitera de faire appel à de nombreuses techniques de caractérisation. Enfin, leur utilisation pour des applications biomédicales sera évaluée. Dans ce manuscrit, nous nous limitons aux études *in vitro*, compte tenu des nombreuses questions que suscite l'introduction de nanoparticules dans un organisme vivant (toxicité, pharmacocinétique, accumulation et dégradation). A plus long terme, nous envisageons des études sur tissus reconstitués puis sur petit animal, notamment pour les nanoparticules à visée phototherapeutique, que j'introduirais dans ce mémoire.

Dans cette partie décrivant mes activités de recherche, je résumerai donc brièvement les sujets sur lesquels j'ai travaillé en thèse et en post-doctorat (**Partie II.0**) puis je développerai les trois grands axes autour des nanoparticules multifonctionnelles que j'ai développés depuis mon arrivée à l'INL (**Parties II.1, II.2 et II.3**). Ces trois axes concernent :

- 1) les nanoparticules à propriétés de fluorescence exaltées : ces nanoparticules à structure cœur-coquille contenant un cœur métallique et une coquille de silice permettent d'agir sur les propriétés de fluorescence de fluorophores organiques et de nanoparticules semi-conductrices (**Partie II.1**);
- 2) les nanoparticules à propriétés optiques non linéaires pour le ciblage cellulaire et la thérapie : ici aussi, une structure cœur-coquille (cœur actif en optique non linéaire et coquille plasmonique) permet d'envisager une détection par microscopie multiphotonique et des propriétés photothérapeutiques (**Partie II.2**);
- 3) les nanoparticules magnétiques multi-fonctionnalisées pour le diagnostic : des nanoparticules modifiées chimiquement par des fluorophores et des molécules électroactives, et fonctionnalisées par des sondes biologiques adaptées sont utilisées pour la capture de cibles en milieu complexe et la détection sur des biocapteurs miniaturisés (**Partie II.3**).

II.0. Résumé des activités de recherche menées en thèse et en post-doctorat

Cette première partie concerne les travaux de recherche réalisés pendant ma thèse et mes post-doctorats. Mon objectif est ici de présenter un résumé et de montrer comment ces activités antérieures ont conduit à l'élaboration de mes projets de recherche actuels.

II.0.1. Nanocristaux organiques fluorescents inclus dans des couches minces sol-gel pour la réalisation de capteurs chimiques et biologiques

Période	DEA (mars-juin 2003) puis Thèse (octobre 2003-septembre 2006)
Publications associées	A21, A22, A23, A25, A26, A27, A28, A29, A30
Brevet	B1
Directeurs de thèse	Dr. A. Ibanez et Dr. N. Sanz, Laboratoire de Cristallographie, Grenoble
Collaborations	Dr. R. Pansu, Laboratoire de Photophysique et Photochimie Supramoléculaire et Macromoléculaire, ENS Cachan Pr. A. Ayrat, Dr. V. Rouessac, Institut Européen des Membranes, Montpellier Pr. B. Boury, Institut Charles Gerhardt, Montpellier Dr. J. L. Putaux, Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, Grenoble Société ATMEL, Saint-Egrève

La combinaison délibérée de matériaux organiques et inorganiques est un défi datant du début de l'ère industrielle, bien que ce type de matériau hybride soit déjà rencontré depuis l'antiquité. Ainsi la teinte Bleu Maya, retrouvée extrêmement bien conservée sur des fresques mexicaines datant de 800 avant JC, correspond à des molécules de pigment indigo encapsulées dans une argile minérale, la palygorskite ^[40]. A cause de leur grande stabilité, les nanomatériaux hybrides organo-minéraux sont aujourd'hui utilisés dans de nombreuses applications comme par exemple des verres flexibles ou photochromiques ^[41], des revêtements auto-nettoyants ou hydrophobes ^[42] ou des outils pour la nanomédecine avec des nanoparticules incorporant des agents thérapeutiques ^[43]. Il est important de noter que ces matériaux hybrides ne sont pas uniquement de simples mélanges physiques entre les phases organique et inorganique. Ces deux phases sont au contraire intimement liées au sein du nanocomposite. Il existe deux classes de nanomatériaux hybrides selon la nature de l'interaction existant entre la phase organique et la phase minérale. On parle de nanocomposites de classe I lorsque la cohésion entre les composantes organiques et minérales provient uniquement de liaisons faibles (hydrogènes, Van der Waals ou liaisons ioniques faibles). Pour les nanocomposites de classe II, les deux phases sont reliées entre elles par des liaisons chimiques fortes (covalente ou iono-covalente).

Lors de ma thèse, j'ai travaillé sur l'élaboration de nanocristaux de molécules fluorescentes (composante organique) insérés dans une couche mince sol-gel silicatée (composante inorganique) appartenant à la classe I. Dans ce contexte, l'objectif principal de mon travail de thèse était de concevoir des capteurs chimiques et biologiques adaptés à la détection de molécules en milieu liquide (solutions aqueuses). Pour cette application, ces matériaux hybrides organo-minéraux permettent de combiner les avantages des nanocristaux organiques (bonnes propriétés de fluorescence dans l'état cristallin, photostabilité améliorée par rapport à des molécules dispersées) avec ceux de la matrice sol-

gel inorganique (stabilité thermique et mécanique, facilité de mise en forme, porosité permettant de jouer le rôle d'un filtre sélectif des molécules à détecter) ^[44,45].

Le principe de ces nanocapteurs est basé sur la mesure de variations significatives de la durée de vie de fluorescence des nanocristaux lorsqu'ils sont mis en présence de divers environnements chimiques ^[46,47]. Ce principe est schématisé sur la Figure 3. Les nanocristaux sont dans une première étape fonctionnalisés par des molécules sondes. On observe alors une inhibition de fluorescence due à un transfert de Förster (FRET) entre les nanocristaux fluorescents (donneur d'énergie) et les molécules sondes (accepteur d'énergie). La détection d'une molécule cible induit alors un décalage du spectre d'absorption de la sonde tel qu'il n'y ait plus de transfert d'énergie entre la sonde et le nanocristal. On retrouve alors la fluorescence initiale des nanocristaux.

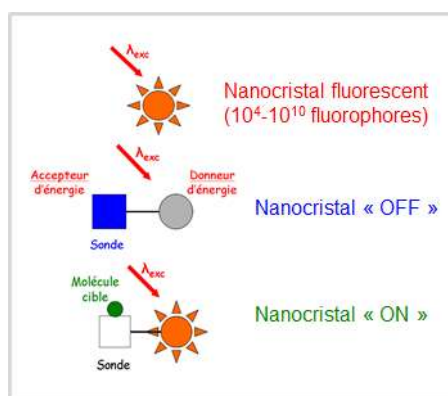


Figure 3. Principe de fonctionnement des nanocapteurs fluorescents.

Ce type de capteur fluorescent, faisant intervenir une matrice silicatée, a été également développé par d'autres groupes pour la détection de polluants ^[48] ou d'espèces réactives ^[49]. Cependant, les nanocomposites élaborés sont en général de classe II, les molécules organiques fluorescentes étant greffées chimiquement sur la matrice minérale ^[50]. En utilisant des nanocristaux plutôt que des molécules isolées, nous espérons d'une part concentrer le signal fluorescent et d'autre part, améliorer la photostabilité des fluorophores. Dans notre cas, la matrice sol-gel a été synthétisée par hydrolyse en milieu acide de précurseurs d'alcoxydes de silicium (Figure 4a). Les fluorophores sont des polyaromatiques (Figure 4b) qui présentent une bonne fluorescence dans l'état cristallin (rubrène, tétracène, pérylènes diimides).

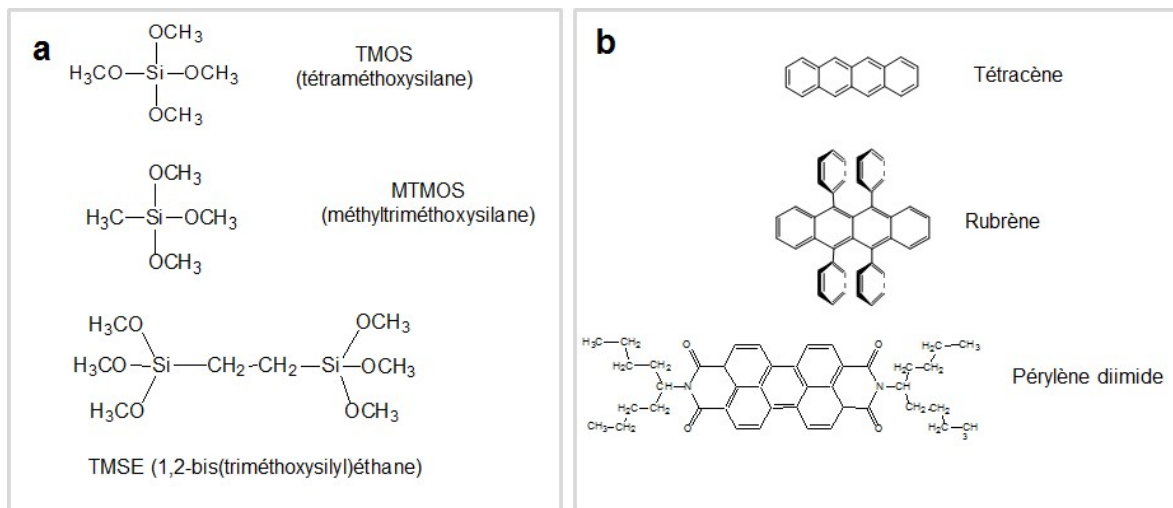


Figure 4. Exemples de « briques de base » utilisées pour l'élaboration de nanocristaux organiques fluorescents en couches minces sol-gel : précurseurs d'alcoxydes de silicium (a) et fluorophores polyaromatiques (b).

La méthode d'élaboration que j'ai utilisée est basée sur le dépôt par « spin-coating » du sol en formation contenant les précurseurs sol-gel et les molécules organiques. L'application d'une forte sursaturation par évaporation rapide du solvant permet d'induire la nanocrystallisation de la phase organique au sein de la matrice sol-gel. L'effet des paramètres suivants a été étudié : taux d'hydrolyse, taux de solvant, taux de fluorophore, pH, durée de la réaction. Nous avons également pu identifier le caractère cristallin des nanoparticules grâce à la diffraction électronique en mode « low-dose » (temps d'exposition inférieur à 0,5 s et échantillon refroidi à l'azote liquide) afin de minimiser l'irradiation des nanocristaux (cristaux organiques dans une matrice amorphe) tout en ayant un faisceau bien focalisé sur l'objet diffractant (Figure 5a) ^[51]. Ainsi nous avons pu obtenir des nanocristaux organiques parfaitement dispersés et insérés dans un réseau silicaté avec un procédé relativement simple à mettre en œuvre et qui donne des résultats reproductibles. Les images de microscopie confocale et MET (Figures 5b et 5c) ^[45] permettent de mettre en évidence la présence de ces nanocristaux bien dispersés dans la matrice sol-gel et de mesurer leur diamètre (de l'ordre de 50 à 600 nm selon les conditions d'élaboration).

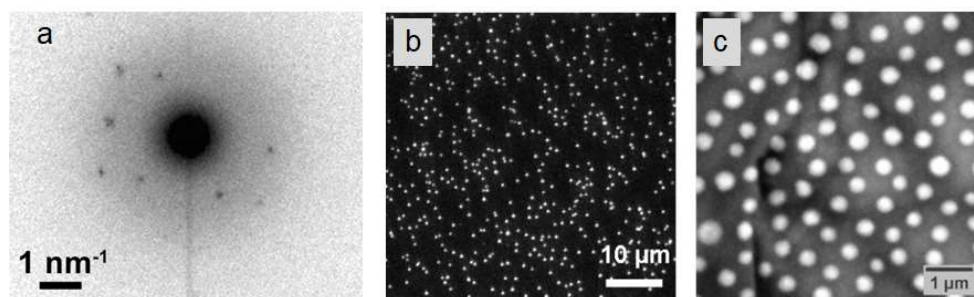


Figure 5. Image par microscopie confocale (a) et par microscopie électronique en transmission (b) de nanocristaux de rubrène inclus dans une couche mince sol-gel. Cliché de diffraction électronique obtenu pour des nanocristaux de tétracène en matrice sol-gel (c).

Afin de mettre en évidence l'effet capteur décrit plus haut, j'ai utilisé la spectroscopie de fluorescence résolue dans le temps, en collaboration avec l'équipe de Robert Pansu (ENS Cachan) pour mesurer les déclin de fluorescence des nanocristaux. Ainsi, pour des nanocristaux de rubrène, on observe initialement un déclin de fluorescence mono-exponentiel (Figure 6, courbe rouge). Lorsque les

nanocristaux sont en présence de Bleu de Méthylène (BM) sous sa forme oxydée (solution bleue), leur déclin de fluorescence est fortement modifié et devient bi-exponentiel (Figure 6, courbe bleue). Enfin, lorsque le BM est réduit par le glucose (solution incolore), le déclin de fluorescence redevient mono-exponentiel (Figure 6, courbe verte).

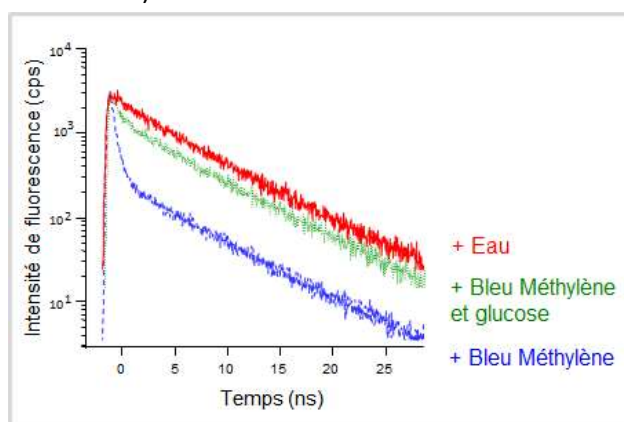


Figure 6. Déclins de fluorescence de nanocristaux de rubrène en matrice sol-gel en présence d'eau (courbe rouge), de Bleu de Méthylène (courbe bleue) et de Bleu de Méthylène en présence de glucose (courbe verte).

Le rôle de la matrice sol-gel sur la sélectivité du capteur a également été étudié ^[47]. En effet, le réseau silicaté joue le rôle d'un filtre en taille sur les molécules détectées. Deux indicateurs colorés en solution aqueuse ont été détectés: le BM et le Bleu de Cibacron (BC), possédant une large bande d'absorption dans le visible. Les volumes de ces molécules sondes sont respectivement $0,28 \text{ nm}^3$ pour le BM et $1,6 \text{ nm}^3$ pour le BC. En considérant la présence d'une couche de solvatation en solution, le volume de la molécule de BM peut être considéré comme inférieur à 1 nm^3 tandis que celui de la molécule de BC est supérieur à 2 nm^3 . Ainsi, la diffusion de ces molécules à travers la matrice sol-gel vers les nanocristaux permet de mesurer indirectement la taille des pores et donc d'évaluer la sélectivité du capteur (Figure 7).

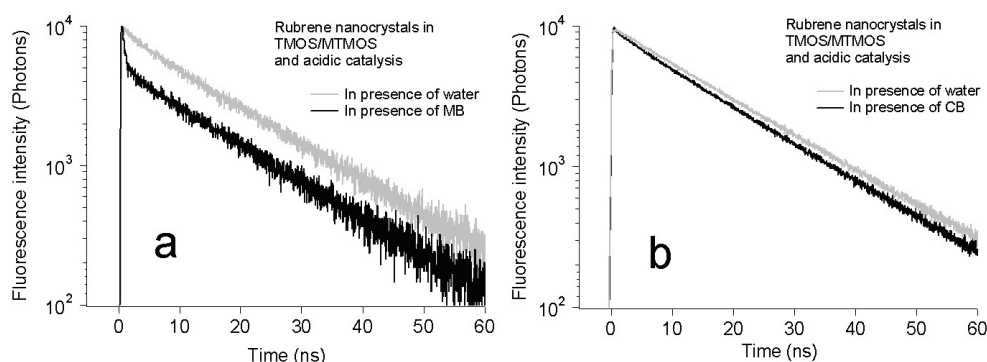


Figure 7. Déclins de fluorescence de nanocristaux de rubrène en matrice TMOS/MTMOS (tetraméthoxysilane/méthyltriméthoxysilane) en présence des 2 molécules sondes (BM en a, BC en b) comparé au déclin obtenu en présence d'eau (milieu neutre).

Nous avons également synthétisé des matrices mésoporeuses (i.e. diamètre de pores compris entre 2 et 20 nm) en utilisant des précurseurs sol-gel contenant des groupes espaceurs organiques. Les mesures indirectes de porosité obtenues par spectroscopie de fluorescence ont été confirmées par des mesures directes d'ellipsométrie sous adsorption-désorption de gaz ^[47]. Par contre, le diamètre des pores obtenu par notre procédé sol-gel ne pouvant excéder 10 nm, le filtre est trop fin pour permettre la diffusion de biomolécules telles que des protéines. Nous avons réussi à développer un

procédé d'attaque chimique de la couche sol-gel en milieu basique afin d'obtenir des nanocristaux émergeant à la surface de la couche sol-gel, en contact direct avec un environnement biologique. Ces couches ont été analysées par microscopie à force atomique (Figure 8a) et la détection de brins d'ADN a été testée (Figure 8b) [52]. Ce procédé a également donné lieu à un dépôt de brevet [53].

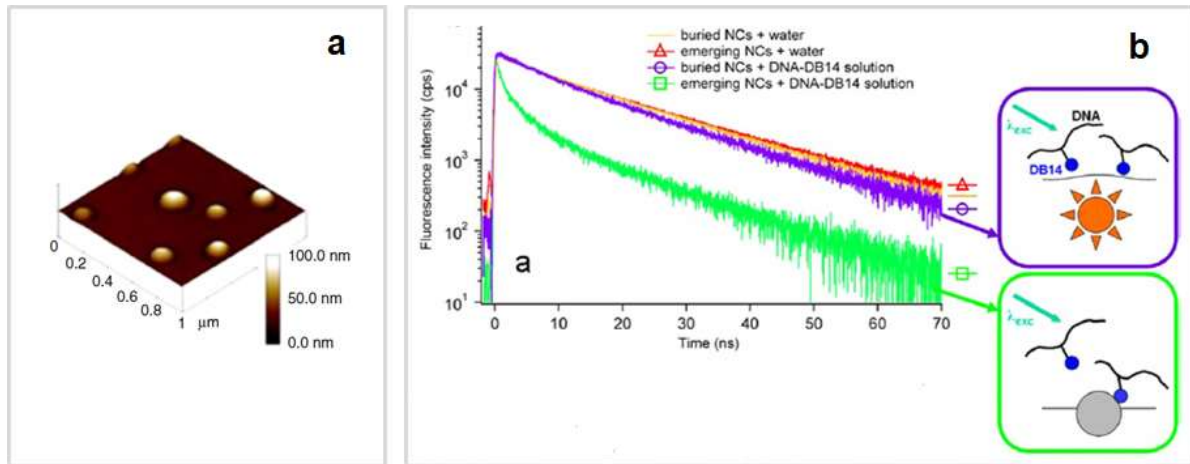


Figure 8. Image par microscopie à force atomique de nanocristaux de rubrène émergeant d'une hauteur de 35 nm au-dessus de la couche sol-gel après attaque chimique (a). Déclins de fluorescence de ces nanocristaux émergents en présence d'oligonucléotides marqués par un indicateur coloré (DB14) comparés aux nanocristaux insérés dans la couche sol-gel, sans attaque chimique (b).

A la suite de ce travail, un test biocapteur a été réalisé avec succès sur les nanocristaux émergents, permettant d'envisager l'utilisation de ces couches minces nanocomposites pour la détection sans marquage [54]. Depuis, l'équipe a également mis au point un procédé de nanocristallisation en matrice sol-gel basé sur le « spray drying », c'est-à-dire la nébulisation de gouttelettes d'aérosol composées d'alcoxydes de silicium et de fluorophores organiques [55]. Les nanoparticules de silice dopées par des fluorophores ainsi obtenues, permettent d'envisager des applications de traceurs pour l'imagerie médicale [56]. D'un point de vue plus fondamental, la caractérisation de tels matériaux reste un challenge. En effet, comme nous l'avons vu plus haut, l'observation de nanocristaux composés uniquement de carbone et d'hydrogène dans une matrice elle-même composée d'éléments légers est complexe à réaliser. De plus, la nanocristallisation des fluorophores entraîne une modification de leurs propriétés optiques, à cause par exemple de la formation d'agrégats.

Les matériaux élaborés dans le cadre de cette thèse ont également été utilisés pour d'autres applications. Par exemple, nous avons développé des couches photochromes à l'aide de nanocristaux de molécules de diaryléthène, changeant de conformation sous l'effet de la lumière [57]. Une collaboration avec l'entreprise ATMEL a aussi été démarrée pour encapsuler des nanocristaux de polymère pyroélectrique P(VDF-TrFE) dans une matrice sol-gel afin de réaliser des capteurs d'empreinte digitale.

Cette première expérience de recherche m'a permis d'acquérir des compétences en chimie sol-gel et en caractérisation de nanoparticules par microscopie électronique et spectroscopie/imagerie de fluorescence. Le choix de mon premier post-doc qui a suivi cette thèse a été motivé par le fait de connaître d'autres méthodes de synthèse et utiliser d'autres matériaux. L'application visée était également totalement différente.

II.0.2. Nanoparticules Fer-Platine pour le stockage magnétique

Période	Post-doctorat (octobre 2006-décembre 2007)
Publication associée	A24
Superviseurs	Dr. P. Reiss et Dr. Y. Samson, CEA Institut Nanosciences et Cryogénie (INAC), Grenoble
Collaborations	Dr. O. Plantevin, Centre de Sciences Nucléaires et de Sciences de la Matière (CSNSM), Orsay

Le premier disque dur magnétique élaboré par IBM en 1956 avait une capacité de 5 Mbit pour une densité de stockage de 2000 bit/inch² (1 inch² = 6,45 cm²). Depuis, la capacité et la densité n'ont cessé de croître pour atteindre plusieurs Tbit et plusieurs centaines de Gbit/inch², respectivement, pour les disques durs aujourd'hui présents sur le marché. Cependant, l'augmentation de ces valeurs nécessite de modifier la technologie existante. En effet, les données sont actuellement stockées sur une couche mince composée de grains magnétiques isolés d'environ 9 nm de diamètre. Un « bit » de données correspond à plusieurs dizaines de grains aimantés dans la même direction. L'objectif visé pour augmenter la densité de stockage serait qu'un bit de données corresponde à un grain magnétique unique. Une telle technologie nécessite d'utiliser des matériaux à très fortes anisotropies magnéto-cristallines afin de préserver la stabilité de l'aimantation en dépit des fluctuations thermiques. En effet, ces dernières sont dominantes pour des particules de très faibles dimensions (limite superparamagnétique). Parmi les matériaux candidats, la phase cristalline ordonnée tétragonale L1₀ de l'alliage fer-platine tient une place de choix du fait de sa très forte anisotropie magnéto-cristalline ($7 \times 10^6 \text{ J m}^{-3}$). Dans cette structure cristalline, des plans d'atomes de Fe sont alternés avec des plans d'atomes de Pt perpendiculairement à l'axe c ; Cette phase peut être obtenue après traitement thermique d'une solution solide équimolaire en Fe et en Pt. Parmi les différentes voies de synthèse possibles de nanoparticules, nous avons choisi d'utiliser la chimie colloïdale car elle permet d'obtenir des particules stables chimiquement et très monodisperses.

La synthèse des nanoparticules FePt est basée sur la réduction simultanée de l'acétylacétonate de platine Pt(acac)₂ par un diol (1,2 - hexadecanediol) et la décomposition du pentacarbonyle de fer Fe(CO)₅ dans un solvant coordinant, le dioctyléther, à haute température ^[58]. Un mélange d'acide oléique (OAc) et d'amine oléique (OAm) est généralement utilisé pour stabiliser les colloïdes de FePt et pour éviter leur coalescence. Toutefois, il a été montré que, dans ce cas, les nanoparticules obtenues présentent une structure hétérogène, avec un cœur riche en Pt et une coquille riche en Fe ^[59]. Une telle structure résulte probablement des différences de cinétique de réaction entre les précurseurs de Fe et de Pt, essentiellement contrôlées par leur interaction avec les ligands stabilisants. Afin d'obtenir des particules de composition plus homogène, nous avons choisi d'utiliser le pentadecanenitrile (PN) dont l'interaction avec le Pt est plus forte que celle de l'OAm. Nous avons mesuré par EDX une composition globale proche de celle obtenue par la diffraction des rayons X donnant la composition du cœur diffractant (entre Fe₅₀Pt₅₀ et Fe₄₀Pt₆₀). Par comparaison, les nanoparticules synthétisées avec l'OAm ont une composition de cœur de l'ordre de Fe₃₀Pt₇₀, pour une composition globale de Fe₅₀Pt₅₀, soit une structure cœur-coquille, le fer se retrouvant sous forme oxydée en surface. Enfin, l'utilisation de la microscopie électronique en transmission filtrée en énergie (EFTEM) nous a permis de visualiser ces deux types de structures pour les nanoparticules (Figure 9) ^[60].

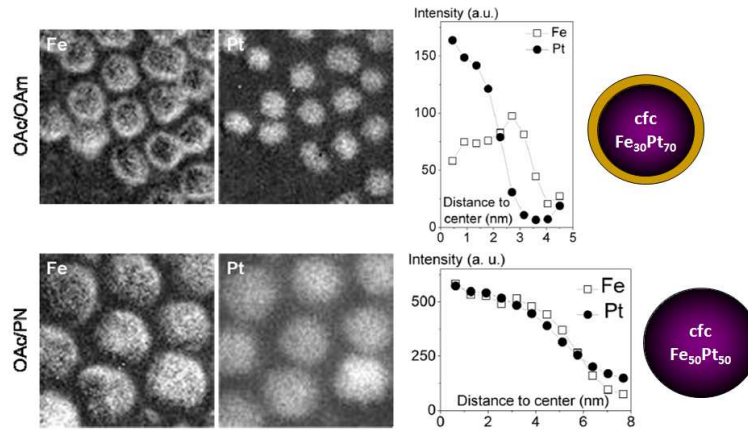


Figure 9. Cartographies EFTEM de nanoparticules FePt synthétisées avec les ligands acide oléique/amine oléique (OAc/OAm) et acide oléique/pentadecanenitrile (OAc/PN) ; profils chimiques moyens correspondants mesurés sur des nanoparticules isolées.

De façon surprenante, l'utilisation du PN au lieu de l'OAm conduit à une distribution bimodale du diamètre des nanoparticules (Figure 10). Nous avons expliqué ce résultat par l'action du PN qui peut jouer le rôle d'un ligand pontant entre les atomes de platine. De plus, sa chaîne carbonée, plus courte que celle de l'OAm, peut conduire à l'agrégation des nanoparticules ^[61,62]. La formation des nanoparticules les plus grosses pourrait donc être due à un processus de croissance par agrégation ^[63] en compétition avec le mécanisme classique de croissance par diffusion des petites nanoparticules.

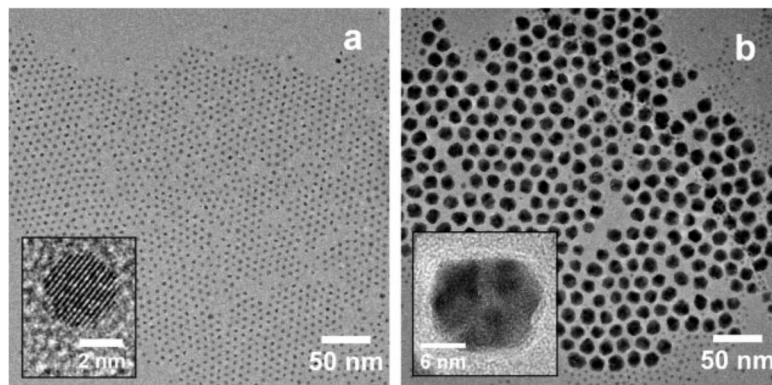


Figure 10. Images MET des deux populations (3,8 nm et 14,4 nm) de nanoparticules FePt obtenues après utilisation des ligands OAc et PN.

Grâce à leur faible dispersion en taille (5-10%), les nanoparticules FePt s'auto-organisent facilement en réseaux bi ou tri-dimensionnels comme le montrent les images MET (Figure 10). Toutefois, afin de pouvoir envisager d'utiliser ces nanoparticules auto-assemblées dans de futurs dispositifs de stockage, il est nécessaire de bien contrôler l'épaisseur des couches et l'adhésion des nanoparticules sur différents types de substrats. Des films épais (épaisseur supérieure à 10 nm), peuvent être déposés par « spin-coating » sur des wafers de silicium, le solvant jouant un rôle crucial sur l'épaisseur obtenue. Ainsi, lorsque les nanoparticules sont dispersées dans le toluène, des films de 25 nm d'épaisseur sont obtenus, tandis que dans l'heptane (solvant plus visqueux et moins volatil), l'épaisseur est de 80 nm avec une très faible rugosité RMS de 1,5 nm (Figure 11a). Des monocouches de nanoparticules FePt ont été obtenues par « dip-coating ». Les substrats de silicium ont d'abord été fonctionnalisés avec l'APTES (3-aminopropyltriméthoxysilane) afin d'obtenir des liaisons -NH₂ en surface, ce qui permet

ensuite aux nanoparticules FePt de mieux se fixer via l'interaction Pt-NH₂. L'image MEB (Figure 11b) montre que, dans ce cas, une monocouche de nanoparticules est obtenue.

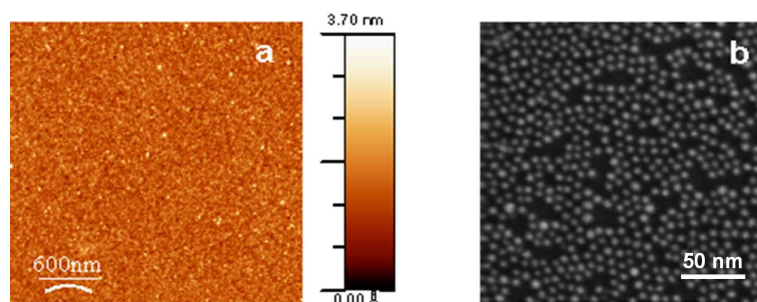


Figure 11. Image par microscopie à force atomique d'une couche de nanoparticules FePt épaisse à très faible rugosité (a) et image MEB d'une monocouche de nanoparticules FePt (b).

Après synthèse, les nanoparticules cristallisent dans un système chimiquement désordonné cubique faces centrées. La transition vers la phase ordonnée L1₀ (phase ferromagnétique à forte anisotropie magnétocristalline) s'effectue par recuit thermique sous vide à haute température (650°C). Les mesures magnétiques par SQUID montrent un cycle d'hystérésis ouvert à température ambiante pour les nanoparticules après recuit, ce qui est le signe d'une aimantation rémanente de l'échantillon, dans la phase cristalline L1₀ (Figures 12a et 12b).

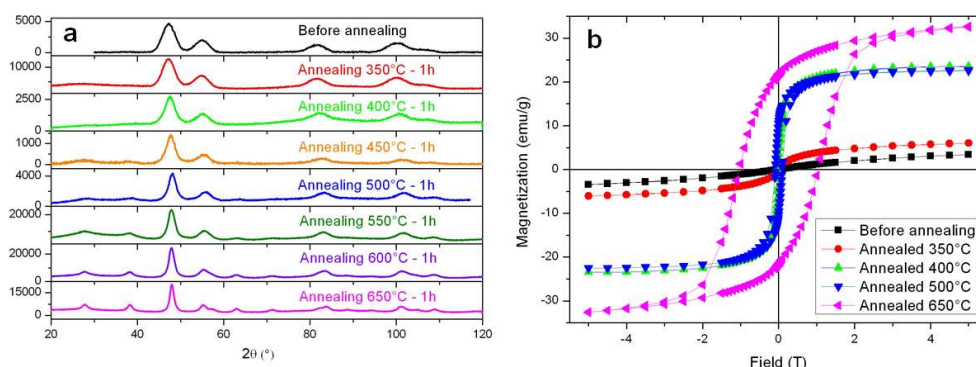


Figure 12. Diffractogrammes de rayons X (a) et mesures d'aimantation réalisées à température ambiante (b) des nanoparticules obtenues directement après synthèse et après recuit pour des températures allant de 350 à 650°C.

Cependant, le traitement thermique conduit à la destruction des ligands organiques et à la coalescence des nanoparticules. Ainsi, nous avons aussi travaillé sur d'autres méthodes pour obtenir la phase cristalline L1₀. L'une de ces méthodes a été développée en collaboration avec le Centre de Sciences Nucléaires et Sciences de la Matière (Orsay). Elle consiste à irradier les nanoparticules par des ions He⁺ pour créer des lacunes qui par diffusion permettent d'obtenir une réorganisation des atomes dans la phase ordonnée L1₀. Les premiers résultats ont montré qu'une dose de 2x10¹⁶ ions/cm² appliquée pendant 20 min permettait de multiplier par 3 le volume magnétique de l'échantillon sans induire de coalescence. Ce premier test a donc montré un ordre chimique partiel qui peut être amélioré en augmentant la dose d'irradiation. Une autre méthode possible est de former une coquille de silice par voie sol-gel autour des nanoparticules FePt^[64]. La silice étant stable jusqu'à 1000°C, la présence de cette coquille permet de réaliser le recuit des nanoparticules sans coalescence. Enfin, la méthode qui montre le plus d'efficacité est de réaliser le recuit des nanoparticules mélangées à des cristaux de NaCl finement broyés, également stables à très haute température. Un autre avantage est de pouvoir

facilement éliminer les cristaux de NaCl par un simple lavage à l'eau. Cette méthode a été utilisée par A. Delattre, doctorante que j'ai co-encadrée pendant les 3 derniers mois de mon post-doctorat. Elle a permis d'obtenir des nanoparticules non agrégées après recuit, dans la phase cristalline désirée (L1₀) et pouvant être fonctionnalisées par plusieurs types de ligands, permettant par exemple leur dispersion dans l'eau ^[65], ce qui présente un avantage considérable pour des applications biomédicales par exemple.

Depuis la fin de mon post-doctorat (2007), d'autres voies ont été envisagées pour améliorer la capacité et la densité des disques durs. Une des possibilités explorée est d'aimanter les bits de façon perpendiculaire par rapport à la surface du média magnétique ou d'aimanter les grains magnétiques par chauffage localisé à l'aide d'un faisceau laser. Cependant, l'utilisation de nanoparticules magnétiques déjà aimantées dans la phase L1₀ reste d'actualité pour la technologie « bit-patterned media ». Ainsi récemment, des nanoparticules FePt préparées à base d'un métallopolyimère ont été utilisées pour produire un média magnétique par lithographie à nanoimpression ^[66]. Selon l'Advanced Storage Technology Consortium, cette technologie devrait permettre d'atteindre des densités de stockage de 10 Tbit/inch² dans les années 2025 ^[67].

Ce premier post-doctorat m'a permis de mettre en pratique une nouvelle méthode de synthèse de nanoparticules (par voie organo-métallique) et de consolider mes acquis de thèse (spin-coating, procédé sol-gel). J'ai également pu me former sur un grand nombre de techniques de caractérisation (diffraction des rayons X, microscopie à force atomique, mesures magnétiques). Pour mon deuxième post-doctorat, j'ai de nouveau changé de champ d'application, en continuant d'utiliser des techniques d'élaboration comme la chimie organo-métallique et le spin-coating.

II.0.3. Nanocomposites hybrides piézoélectriques à base de nanoparticules de niobate de lithium en matrice polymère

Période	Post-doctorat (février-juillet 2008)
Superviseurs	Pr. Y. Fort (Laboratoire de Synthèse Organométallique et Réactivité) et Dr. D. Rouxel (Laboratoire de Physique des Milieux Ionisés et Applications), Université de Nancy
Collaborations	Société PIEZOTECH S.A., Héringue

La piézoélectricité est la propriété naturelle que possèdent certains corps de se polariser électriquement sous l'action d'une contrainte mécanique et réciproquement, de se déformer lorsqu'on leur applique un champ électrique. Cette propriété est très utilisée pour les transducteurs, dans des domaines aussi variés que l'automobile ou la médecine. Il existe 3 grandes familles de matériaux piézoélectriques : les céramiques perovskites, les monocristaux d'oxydes et les polymères. L'objectif était ici d'élaborer un matériau nanocomposite à partir de deux composantes présentant des propriétés piézoélectriques intéressantes : des nanocristaux de niobate de lithium (LiNbO₃) et un copolymère semi-cristallin, le poly(vinylidène-trifluoroéthylène) ou P(VDF-TrFE). L'avantage est de pouvoir combiner la transparence optique et le diamètre ajustable des nanoparticules de LiNbO₃ avec la facilité de mise en forme et la grande polarisation rémanente du polymère. Notons également que les nanoparticules de LiNbO₃ possèdent des propriétés optiques non linéaires que nous développerons plus loin dans ce mémoire.

La synthèse des nanoparticules de LiNbO_3 est réalisée par voie organo-métallique. La première étape consiste en la réduction de pentachlorure de niobium (NbCl_5) par l'hydruure de lithium (LiH) pour former du niobium zérovalent. Après oxydation contrôlée, l'oxyde de niobium formé Nb_2O_5 réagit avec LiOH (formé par hydrolyse de LiH) pour former le niobate de lithium ^[68]. Directement après synthèse, les nanoparticules obtenues sont nanométriques (Figure 13a) et présentent une structure amorphe caractérisée par deux bandes de diffusion assez larges (Figure 13b). Un recuit à 550°C pendant 1 h permet d'obtenir des nanoparticules de forme cubique, dont le diamètre est de l'ordre de 40 à 80 nm (Figure 13c), et cristallisées en phase trigonale $R3_c$ (Figure 13d). Ces nanoparticules forment des dispersions stables dans l'eau et dans l'éthanol.

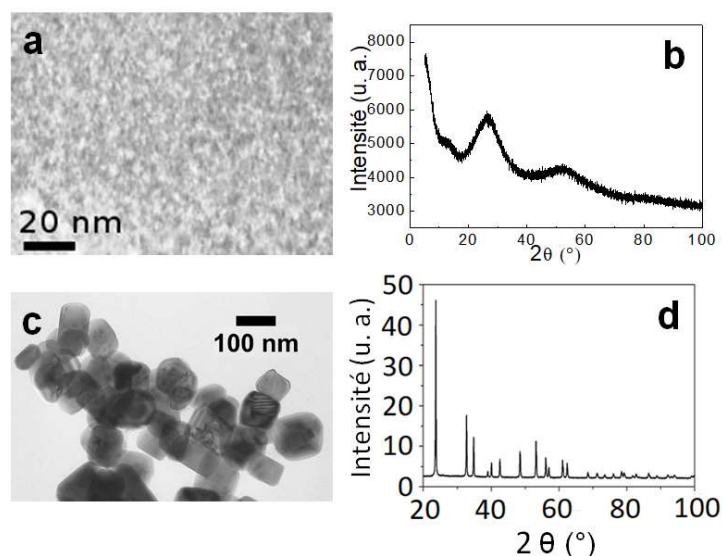


Figure 13. Images par microscopie électronique en transmission et diffractogrammes de rayons X des nanoparticules de LiNbO_3 directement après synthèse (a, b) et après 1 h de recuit à 550°C (c, d).

Le polymère P(VDF-TrFE) nous a été fourni sous forme de granules par la société PIEZOTECH S.A. L'unité monomère $-(\text{CF}_2-\text{CFH})-$ étant fortement apolaire, il est nécessaire de fonctionnaliser les nanoparticules de LiNbO_3 afin de pouvoir éviter une ségrégation en présence de ce polymère. Pour cela, nous avons utilisé un acide phosphonique possédant une chaîne carbonée de 18 carbones, l'acide octadécylphosphonique (ODPA), par analogie avec des travaux antérieurs réalisés sur BaTiO_3 ^[69]. La spectroscopie infrarouge nous a permis de mettre en évidence l'efficacité de la fonctionnalisation de ce ligand sur les nanoparticules LiNbO_3 (Figure 14a). Ainsi après fonctionnalisation, on observe une forte diminution du pic correspondant aux liaisons $\text{C}=\text{O}$ initialement présentes sur les nanoparticules (stretching, 1640 cm^{-1}) et une apparition de pics correspondants aux liaisons $\text{P}=\text{O}$ et $\text{P}-\text{O}$ dans la région $1000-1100\text{ cm}^{-1}$ (stretching). Après cette étape de fonctionnalisation, les nanoparticules de LiNbO_3 peuvent être mélangées au polymère P(VDF-TrFE) en utilisant le tétrahydrofurane comme co-solvant, puis déposées sur des substrats de silicium par spin-coating. Un traitement préalable du silicium à l'hexamethyldisilazane (HDMS) permet d'améliorer la mouillabilité comme présenté sur la Figure 14b. Enfin, différents taux de dopage en nanoparticules de LiNbO_3 ont été testés. Les couches minces nanocomposites résultantes ont été analysées par MET sur des coupes transversales obtenues par ultra-microtomie (Figure 15). Pour des taux de dopage de 0,5% et 5%, les couches minces obtenues sont homogènes avec une épaisseur de $4\text{ }\mu\text{m}$ et $6\text{ }\mu\text{m}$, respectivement. On observe également une dispersion partielle des nanoparticules dans la couche polymère. Pour un taux de dopage plus élevé, il semblerait que le polymère perde sa plasticité, ce qui entraîne la formation d'une couche inhomogène.

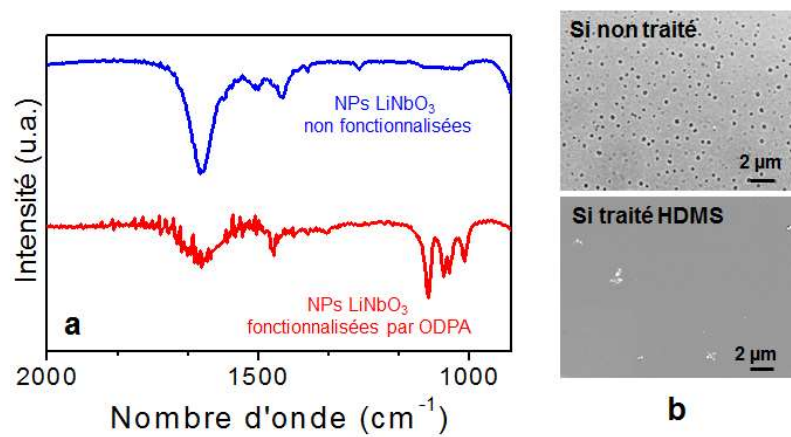


Figure 14. Spectres infrarouge des nanoparticules de LiNbO_3 non fonctionnalisées et après fonctionnalisation par l'ODPA (a), images MEB des substrats de silicium non traité et traité HDMS après dépôt par spin-coating du mélange nanoparticules de LiNbO_3 /polymère P(VDF-TrFE) (b).

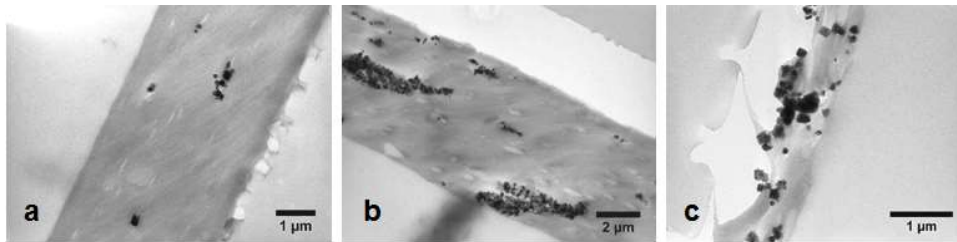


Figure 15. Images MET des coupes transversales des couches minces nanocomposites obtenues après ultramicrotomie pour différents taux de dopage (masse de nanoparticules LiNbO_3 /masse P(VDF-TrFE)) : 0,5% (a), 5% (b) et 20% (c).

Suite à ces travaux, le protocole de mise en forme des couches minces nanocomposites a pu être optimisé et leurs propriétés piézoélectriques ont été mesurées^[70]. L'insertion des nanoparticules dans le nanocomposite ne détériore pas les propriétés mécaniques et piézoélectriques du polymère P(VDF-TrFE). Cependant, les propriétés du nanocomposite sont similaires lorsque des nanoparticules de LiNbO_3 ou des nanoparticules non piézoélectriques sont incorporées. Pour obtenir une meilleure contribution piézoélectrique de ces nanoparticules, il faudrait pouvoir les orienter selon une polarisation spécifique. Néanmoins, comme nous le verrons dans l'axe 2, les nanoparticules de LiNbO_3 sont aussi intéressantes pour leurs propriétés optiques non linéaires. Ce deuxième post-doctorat a été pour moi l'occasion d'élargir mes compétences en synthèse et fonctionnalisation de nanoparticules.

Conclusion

En intégrant l'équipe Chimie et Nanobiotechnologies de l'INL, mon objectif était d'utiliser des nanoparticules pour des applications biomédicales. J'ai donc essayé de combiner l'ensemble de mes savoir-faire acquis en thèse et en post-doctorat pour construire mes différents projets de recherche. En particulier :

- la chimie sol-gel m'a permis d'élaborer les nanoparticules cœur-coquille que je présenterai dans l'axe 1;

- la synthèse et la fonctionnalisation de nanoparticules de LiNbO_3 sont des compétences que j'ai mis à profit pour élaborer des nanoparticules cœur-coquille actives en optique non linéaire et plasmoniques, comme nous le présenterons dans l'**axe 2**;
- la synthèse de nanoparticules magnétiques m'a permis d'aller ensuite vers leur fonctionnalisation en vue de les utiliser pour le diagnostic, comme je le détaillerai dans l'**axe 3**.

Les parties suivantes (II.1, II.2 et II.3) concernent donc mes activités de recherche actuelles à ce sujet.

II.1. Axe 1 : Nanoparticules à propriétés de fluorescence exaltées

L'imagerie de fluorescence est un outil-clé en biologie, de par sa simplicité de mise en œuvre, la résolution latérale qu'elle offre, et l'utilisation de rayonnement non ionisant. En revanche, elle nécessite très souvent un marquage des cellules ou des tissus biologiques à observer avec des molécules fluorescentes lorsque le signal émis par les molécules biologiques n'est pas suffisamment intense pour être observé. Les fluorophores organiques (ou « dyes ») sont les marqueurs les plus utilisés. Cependant, ils ont de nombreux inconvénients puisqu'ils ont en général une bande d'émission large, une grande sensibilité au photoblanchiment et pour certains, un faible rendement quantique de fluorescence. De plus, la fluorescence naturelle des tissus biologiques ainsi que leur absorption limite la profondeur d'analyse. Il existe donc un réel besoin pour élaborer de nouvelles sondes fluorescentes plus efficaces.

Le premier axe de mes activités de recherche concerne l'élaboration de nanoparticules hybrides basées sur un effet de fluorescence exaltée. Ceci est rendu possible par l'utilisation de systèmes cœur-coquilles faisant intervenir un cœur métallique et une coquille fluorescente. Comme nous allons le voir, la résonance plasmonique générée par le cœur métallique permet d'exalter le signal émis par différents types de fluorophores (organiques, inorganiques, molécules, nanoparticules). Cependant, cet effet repose sur une séparation de quelques nanomètres entre le métal et le fluorophore. Ainsi une grande partie de mon travail s'est attachée à élaborer des espaceurs de silice entre le cœur et la coquille précédemment cités. L'objectif était de pouvoir obtenir un signal de fluorescence plus intense que celui que présenterait le fluorophore isolé, tout en utilisant les avantages optiques (transparence dans le visible) et chimiques (stabilité, faible toxicité, facilité de fonctionnalisation) de la silice. L'imagerie de fluorescence étant la technique d'imagerie cellulaire la plus couramment utilisée^[71], ces nanosondes pourraient représenter une alternative intéressante aux fluorophores existants.

II.1.1 Théorie du couplage plasmon-fluorescence

La résonance plasmonique de surface est un phénomène qui apparaît à l'interface entre un métal et un diélectrique. Lorsque cette interface est illuminée par un rayonnement électromagnétique, les électrons libres de surface du métal se mettent à osciller. Pour une certaine fréquence d'excitation appelée fréquence de résonance plasmonique, le changement périodique de la densité électronique entraîne l'apparition d'un champ électrique très intense à l'interface. Les plasmons de surface localisés (ou LSPR pour « Localized Surface Plasmon Resonance ») apparaissent dans des nanoparticules métalliques dont la taille est plus petite que la longueur d'onde de la lumière incidente (typiquement pour des nanoparticules de quelques dizaines de nanomètres de diamètre). L'oscillation en phase des électrons de surface des nanoparticules entraîne l'apparition d'un moment dipolaire. Au niveau des propriétés optiques, cela se traduit par une extinction de la lumière transmise pour une longueur d'onde spécifique qui dépend de la nature du métal, du diamètre et de la forme géométrique de la nanoparticule métallique, du milieu environnant la nanoparticule. Une conséquence du phénomène de LSPR est l'apparition d'un champ proche électrique intense à la surface des nanoparticules^[72].

Ce champ proche électrique peut être utilisé pour exalter les propriétés optiques d'émetteurs situés à proximité. Le phénomène de SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering) permet l'exaltation du signal Raman de molécules situées à proximité d'une nanostructure métallique^[73]. L'exaltation des

propriétés de fluorescence par des nanoparticules métalliques est également possible. Ce phénomène est appelé MEF (Metal-Enhanced Fluorescence) ou SEF (Surface-Enhanced Fluorescence). Plusieurs théories sont encore actuellement explorées pour expliquer l'exaltation observée. Selon Lakowicz, la présence d'un métal à proximité d'un émetteur fluorescent entraîne une modification de son diagramme de Jablonski (Figure 16).

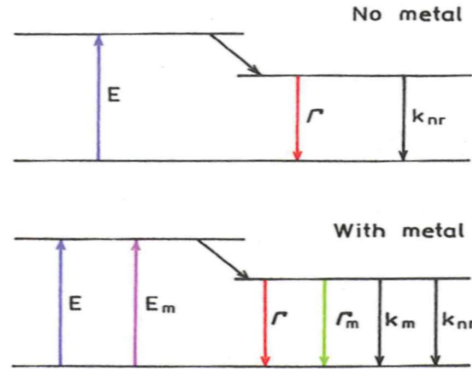


Figure 16. Diagramme de Jablonski simplifié décrivant le phénomène de couplage plasmon-fluorescence selon Lakowicz. E et E_m représentent les champs électriques incidents respectivement sans métal et avec métal. Γ et Γ_m représentent les vitesses de désexcitations radiatives sans métal et avec métal. k_{nr} et k_m représentent les vitesses de désexcitations non radiatives sans métal et avec métal (figure extraite de [74]).

Sans métal, lors de l'excitation par un photon, on observe une transition des électrons situés sur les niveaux fondamentaux vers des niveaux d'énergie supérieure. Pour la désexcitation, il faut tenir compte des phénomènes radiatifs et des phénomènes non radiatifs. Le rendement quantique de fluorescence q et la durée de vie de fluorescence τ s'écrivent :

$$q = \frac{\Gamma}{\Gamma + k_{nr}} \quad \text{et} \quad \tau = \frac{1}{\Gamma + k_{nr}} \quad (\text{Equations 1})$$

En présence d'un métal, une composante E_m est ajoutée pour l'excitation, qui est due au champ proche électrique généré par les plasmons localisés. Concernant la désexcitation, une composante Γ_m est ajoutée pour les processus radiatifs et une composante k_m est ajoutée pour les processus non radiatifs. On peut alors écrire le rendement quantique q_m et la durée de vie de fluorescence τ_m :

$$q_m = \frac{\Gamma + \Gamma_m}{\Gamma + \Gamma_m + k_m + k_{nr}} \quad \text{et} \quad \tau = \frac{1}{\Gamma + \Gamma_m + k_m + k_{nr}} \quad (\text{Equations 2})$$

Ainsi la présence du métal influence aussi bien le processus radiatif que le processus non radiatif. Cependant, dans certaines conditions, le processus non radiatif lié à k_m peut être négligé. En effet, la composante k_m est lié à l'inhibition (ou « quenching ») de la fluorescence par le métal. Ce phénomène se produit par transfert d'énergie (ou FRET) entre l'émetteur de fluorescence qui agit comme donneur d'énergie et la nanoparticule métallique qui agit comme accepteur d'énergie. Il existe une distance caractéristique appelée rayon de Förster, pour laquelle cet effet se produit. Ce rayon est généralement compris entre 1,5 et 6 nm [75]. Ainsi si la distance métal-fluorophore est supérieure au rayon de Förster, l'inhibition de la fluorescence par le métal est négligeable et par conséquent la composante k_m devient négligeable. Dans ce cas, en présence d'un métal, le poids des processus radiatifs devient supérieur au

pois des processus non radiatifs, ce qui se traduit en reprenant les équations 2, par une augmentation du rendement quantique et une diminution de la durée de vie.

L'effet MEF peut également être expliqué par un couplage entre le champ proche électrique intense à la surface du métal et le moment dipolaire de l'émetteur de fluorescence. C'est la théorie qu'a développé Novotny [76]. Dans ce cas, le taux d'excitation γ_{exc} en présence du métal dépend de ce couplage selon la relation :

$$\gamma_{exc} \propto |\vec{E} \cdot \vec{p}|^2 \quad (\text{Equation 3})$$

\vec{E} correspond au champ proche intense à la surface du métal et \vec{p} correspond au moment dipolaire du fluorophore. L'exaltation du taux d'émission peut s'écrire :

$$\frac{\gamma_{em}}{\gamma_{em}^0} = \frac{\gamma_{exc}}{\gamma_{exc}^0} \frac{q}{q^0} \quad (\text{Equation 4})$$

γ_{em} et γ_{em}^0 correspondent respectivement aux taux d'émission en présence et en absence du métal ; γ_{exc} et γ_{exc}^0 correspondent respectivement aux taux d'excitation en présence et en absence du métal ; q et q^0 correspondent respectivement aux rendements quantiques du fluorophore en présence et en absence du métal. Novotny *et al* ont modélisé le couplage d'une nanoparticule d'or de 60 nm de diamètre et d'un fluorophore en fonction de leur distance de séparation z (Figure 17).

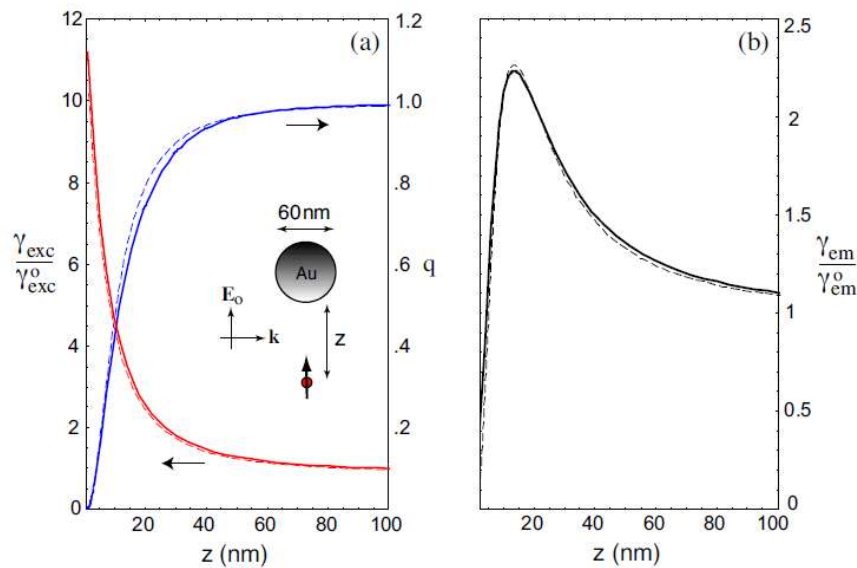


Figure 17. Exaltation de la fluorescence à proximité d'une nanoparticule d'or de 60 nm de diamètre : (a) exaltation du rendement quantique et du taux d'excitation, (b) exaltation du taux d'émission (figure extraite de [76]).

La Figure 17a montre que l'exaltation du taux d'excitation est maximale lorsque le fluorophore est proche de la nanoparticule d'or. En effet, à la surface du métal, pour $z = 0$, le champ proche est maximal donc le couplage avec le moment dipolaire du fluorophore est maximal (équation 4). En ce qui concerne le rendement quantique du fluorophore, celui-ci tend vers 1 lorsque le fluorophore est loin du métal. Au contraire, à courte distance, le fluorophore subit l'effet du métal qui inhibe sa fluorescence par transfert de Förster. Son rendement quantique tend donc vers 0. Il existe donc un

compromis sur la distance métal-fluorophore qui permet d'obtenir le maximum de l'exaltation du taux d'émission. Cette valeur se situe autour de 10 nm (Figure 17b).

Ainsi, quel que soit le modèle théorique utilisé pour décrire le couplage plasmon-fluorescence, un élément-clé est identifié : une séparation de quelques nanomètres entre la nanoparticule métallique et l'émetteur fluorescent. Dans des nanoparticules contenant un cœur métallique et une coquille fluorescente, ce matériau espaceur peut être de différentes natures. On trouve ainsi dans la littérature des nanoparticules cœur-coquilles pour lesquelles le matériau espaceur est un polymère ^[77], une bicouche polyélectrolytique ^[78], ou bien composé de brins d'ADN ^[79] ou de protéines ^[80]. Grâce à sa stabilité chimique et thermique, sa bonne transparence optique dans le visible et les nombreuses possibilités offertes pour sa fonctionnalisation, la silice est un très bon candidat pour ce matériau espaceur ^[14,81-84]. C'est donc cette solution que nous avons choisi.

II.1.2. Elaboration de nanoparticules cœur-coquille Métal@Silice

La synthèse de nanoparticules Métal@Silice est basée sur des réactions sol-gel localisées d'alcoxydes de silicium à la surface des colloïdes métalliques. La chimie sol-gel de la silice implique deux réactions successives : l'hydrolyse et la condensation ^[85]. Lors de l'hydrolyse, les fonctions alcoxy réagissent avec l'eau pour former des fonctions silanols. Les silanols obtenus réagissent soit avec un autre silanol, soit avec un alcoxyde de silicium qui n'a pas encore été hydrolysé pendant l'étape de condensation. Ensuite, par élimination d'un alcool ou d'une molécule d'eau, un réseau silicaté (gel) se forme.

La structure finale du gel dépend des vitesses relatives des réactions d'hydrolyse et de condensation. Si l'hydrolyse est plus rapide que la condensation, un réseau silicaté linéaire, faiblement interconnecté, est obtenu. Si la condensation est plus rapide que l'hydrolyse, un réseau silicaté fortement interconnecté est formé. La cinétique peut être contrôlée par le pH. En-dessous du point de charge nulle de silice (pH \sim 3), l'hydrolyse est plus rapide que la condensation ; au-dessus de ce point, la condensation est plus rapide que l'hydrolyse ^[45]. Ainsi quand le pH augmente, le réseau silicaté devient de plus en plus interconnecté. Si le pH est supérieur à 7 (réaction sol-gel en catalyse basique), la condensation est prédominante si bien qu'au lieu d'un gel, ce sont des particules de silice colloïdale qui se forment.

Ces particules de silice colloïdales ont été étudiées par Stöber ^[86]. La réaction implique un alcoxyde de silicium en tant que précurseur sol-gel, généralement du tétraéthoxysilane (TEOS), utilisé en milieu alcoolique de façon à le dissoudre et à le rendre miscible au catalyseur basique (généralement une solution d'ammoniaque) et à l'eau nécessaire pour démarrer la réaction sol-gel. La réaction est réalisée à température ambiante. Selon les paramètres d'élaboration (quantité de TEOS, nature du solvant, température, ...), le diamètre des colloïdes de silice peut varier de quelques nanomètres ^[87] à quelques microns ^[88].

La méthode Stöber peut être appliquée directement à la synthèse de coquilles de silice sur des cœurs de colloïdes métalliques ^[89]. Cependant, cette méthode directe conduit en général à des résultats non reproductibles. En effet, le point critique est le transfert des colloïdes métalliques de leur dispersion en solution aqueuse (dans laquelle ils sont stabilisés par du citrate de sodium) vers une dispersion en milieu éthanol. Lors de cette étape, le citrate de sodium est éliminé de la surface du métal et les

nanoparticules métalliques peuvent s'agréger de façon irréversible. L'agrégation est d'autant plus importante que les colloïdes métalliques sont de petit diamètre, puisque c'est dans cette situation qu'on a le rapport surface sur volume le plus élevé. Ainsi, il est en général nécessaire de modifier chimiquement la surface du métal avant de procéder à la croissance de la coquille de silice. Parmi les nombreuses méthodes possibles, deux sont particulièrement utilisées. La méthode de Liz-Marzan *et al* [9] est basée sur le remplacement du citrate par un aminosilane pour rendre le métal « vitréophile », c'est-à-dire apte à recevoir des germes de silice. La deuxième étape consiste en l'ajout de silicate de sodium de façon à faire croître une première coquille très fine de silice (typiquement d'épaisseur 1-3 nm). Ainsi, les particules peuvent être transférées dans l'éthanol avec un risque d'agrégation minimum. Enfin, le protocole « classique » de Stöber est poursuivi, permettant d'ajuster l'épaisseur de silice grâce à la quantité de TEOS. Cette méthode permet d'obtenir un contrôle parfait de l'épaisseur de silice pour des nanoparticules Au@SiO₂. Par contre, elle manque de reproductibilité pour les nanoparticules Ag@SiO₂ [90]. En ce qui concerne les travaux de Van Blaaderen *et al* [91], la surface des nanoparticules métalliques est d'abord modifiée par du poly(vinylpyrrolidone) (PVP), un polymère amphiphile et non chargé qui s'adsorbe bien sur de nombreuses surfaces. Les nanoparticules peuvent ensuite être transférées dans l'éthanol sans risque d'agrégation. On peut alors démarrer le protocole de Stöber en ajustant l'épaisseur de silice grâce à la quantité de TEOS. L'homogénéité de la coquille de silice dépend fortement de la longueur de chaîne du PVP choisi. Pour un PVP trop court, le risque est que la surface des nanoparticules ne soit pas entièrement recouverte de PVP, ce qui peut conduire à l'agrégation de plusieurs nanoparticules dans une même coquille de silice. Pour un PVP trop long, les nanoparticules trop recouvertes de PVP ne permettent pas d'avoir un recouvrement total de la coquille de silice. Du fait de la versatilité du PVP, cette méthode est généralisable à de nombreux types de matériaux et pour plusieurs tailles de nanoparticules.

Ces deux méthodes ont été utilisées et ajustées lors de la thèse de Ning Sui, que j'ai co-encadrée avec Eliane Souteyrand. Nous avons ainsi pu élaborer des nanoparticules Métal@Silice à structure cœur-coquille pour différents cœurs métalliques (or et argent) et avec des épaisseurs de silice ajustables de 2 nm à 80 nm (Figures 18 et 19).

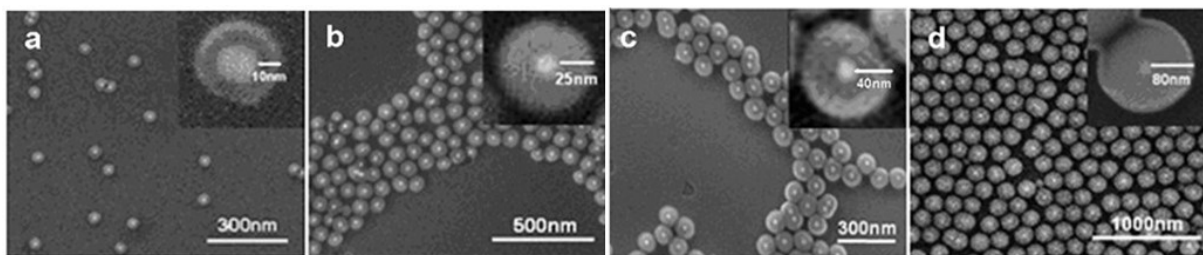


Figure 18. (a-d) Images MEB de nanoparticules Au@SiO₂ préparées avec la méthode de Liz-Marzan pour différents volumes de TEOS (a) 0,75 µL, (b) 2,5 µL, (c) 7 µL et (d) 20 µL pour 5 mL de dispersion de nanoparticules d'or à 7x10¹¹ nanoparticules par mL (diamètre Au : 20 nm).

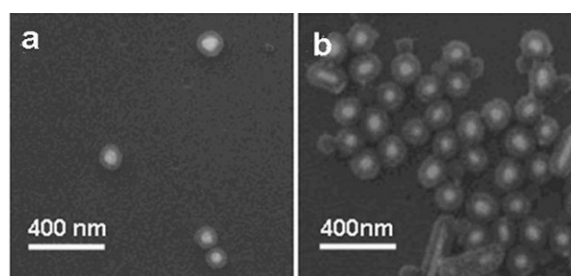


Figure 19. Images MEB de nanoparticules Ag@SiO₂ préparées avec la méthode de Van Blaaderen pour différents volumes de TEOS (a) 0,1 μL (épaisseur de SiO₂ : 20 nm) et (b) 0,2 μL (épaisseur de SiO₂ : 40 nm) pour 2 mL de dispersion de nanoparticules d'argent à 2,6x10¹⁰ nanoparticules par mL (diamètre Ag : 60 nm).

Après avoir testé ces différentes méthodes sur plusieurs types de nanoparticules de différents diamètres, nous avons pu dresser un bilan (Tableau 1) permettant de sélectionner la méthode appropriée selon le type d'échantillon.

Tableau 1. Bilan pour le choix de la méthode à utiliser pour obtenir des nanoparticules Métal@SiO₂.

Méthode	Recommandée pour...	Avantages/Inconvénients
Directe	Nanoparticules métalliques de diamètre élevé (> 60 nm) Épaisseur importante de silice (> 50 nm)	☺ Une seule étape ☹ Mauvais contrôle de l'épaisseur déposée
Liz-Marzan	Nanoparticules d'or de tout diamètre Toutes épaisseurs de silice	☺ Contrôle très précis de l'épaisseur déposée ☹ Long (3 jours) et multi-étapes ☹ Réservé aux nanoparticules d'or
Van Blaaderen	Tout type de nanoparticules, de tout diamètre Toutes épaisseurs de silice	☺ Deux étapes ☹ Importance de la longueur de chaîne du PVP

II.1.3. Greffage et encapsulation d'émetteurs fluorescents

Publications associées	A7, A13, A15, A16, A18
Etudiants associés	Ning Sui (thèse 2009-2012) Marie-Virginie Salvia (ATER 2012-2013)
Collaborations	Dr. V. Lysenko, Dr. J. M. Bluet, Y. Zakharko, INL, équipe Spectroscopie et Nanomatériaux Dr. S. Alekseev, Université Taras Schevchenko, Kiev (Ukraine) Dr. P. Torchio, K. N'Konou, IM2NP (Institut Matériaux Microélectronique Nanosciences de Provence), Marseille

Comme nous l'avons vu dans la section II.1.1, la présence d'émetteurs fluorescents, à une distance de l'ordre de quelques nm d'une nanoparticule métallique, doit permettre d'exalter le signal de fluorescence. Pour contrôler la distance métal-fluorophore, une coquille de silice autour de la nanoparticule métallique est particulièrement adaptée puisque comme nous l'avons vu précédemment, son épaisseur peut-être précisément ajustée à l'échelle du nanomètre. Elle constitue de plus une barrière inerte et rigide vis-à-vis du milieu environnant. Enfin, la silice étant facilement fonctionnalisable, elle peut être utilisée comme plate-forme d'ancrage de biomolécules. De nombreuses nanostructures hybrides fonctionnant sur ce principe ont été élaborées pour des applications diverses. Les fluorophores peuvent ainsi soit être ajoutés à la surface de la silice par interaction électrostatique ^[81] ou covalente ^[13], ou bien être encapsulé dans la coquille en modifiant le fluorophore par un silane ^[92,93] ou en utilisant de la silice mésoporeuse ^[82]. Les applications visées concernent la détection exaltée de protéines sur puces fluorescentes ^[83] ou de brins d'ADN en milieu biologique ^[94], la réalisation de sondes locales de pH ultrasensibles ^[95] ou le marquage de cellules cancéreuses ^[96].

II.1.3.1. Nanoparticules de carbure de silicium (SiC)

Ce premier travail est issu d'une collaboration avec l'équipe Spectroscopie et Nanomatériaux de l'INL (Vladimir Lysenko, Jean-Marie Bluet, Yuriy Zakharko qui a soutenu sa thèse en 2012). Cette équipe synthétise notamment des nanoparticules de carbure de silicium (SiC) présentant des propriétés fluorescentes. Ces nanoparticules de petit diamètre (~ 2 nm) sont produites par une méthode d'anodisation électrochimique et ont été utilisées avec succès pour le marquage cellulaire ^[97,98]. Cependant ces travaux ont également mis en évidence une toxicité importante pour les fortes concentrations de nanoparticules. Notre objectif était donc d'associer ces nanoparticules aux structures cœur-coquille Métal@Silice afin d'exalter leurs propriétés de fluorescence à faible concentration. Pour cela, nous avons greffé les nanoparticules de SiC sur la surface des nanoparticules Métal@Silice via une modification de la silice par un aminosilane (Figure 20). Différents aminosilanes (APTMS, APTES, APDMS) ont été testés selon leur réactivité (fonctions méthoxy- plus réactives que fonctions éthoxy-, silanes trifonctionnels plus réactifs que silanes monofonctionnels). Un dosage des fonctions amines de surface au Bleu de Coomassie (CBB) a permis de montrer que le nombre de molécules d'aminosilanes par nm² était supérieur à 1 pour l'APTMS et l'APTES, tandis qu'il était seulement de 0,84 pour l'APDMS. Nous avons donc sélectionné l'APTMS pour greffer les nanoparticules de SiC.

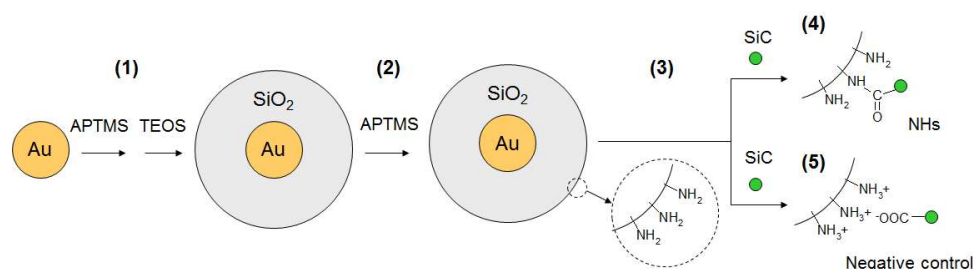


Figure 20. Synthèse multi-étape de nanoparticules hybrides Au@SiO₂@SiC: (1) synthèse de la coquille de silice selon la méthode de Liz-Marzan décrite précédemment, (2) modification de la coquille de silice par l'APTMS de façon à obtenir une surface de silice terminée -NH₂, (3) greffage des nanoparticules de SiC via (4) la formation d'une liaison amide covalente ou (5) une simple interaction électrostatique.

La présence de fonctions amines à la surface de la silice permet ensuite le greffage de nanoparticules de SiC. Ceci est rendu possible grâce aux fonctions -COOH présentes à la surface des nanoparticules de SiC ^[99]. On peut alors utiliser la chimie NHS-ester pour former une liaison amide covalente en utilisant le NHS et le DIC avec un rapport molaire 1 NHS : 2,5 DIC. Sur la Figure 21, on peut constater que la formation d'une liaison covalente permet d'éviter la présence de nanoparticules de SiC libres (visibles sur la Figure 21a, pour un greffage obtenu par simple interaction électrostatique).

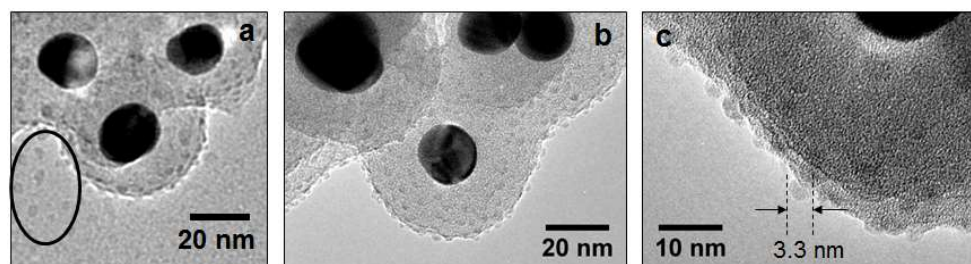


Figure 21. Images MET de nanoparticules Au@SiO₂@SiC préparées par interaction électrostatique (a) et par formation d'une liaison amide covalente (b et c).

Enfin, nous avons étudié les propriétés de fluorescence de ces nanoparticules. Plusieurs échantillons de référence ont été testés afin de mesurer le facteur d'exaltation : nanoparticules de SiC libres, nanoparticules de SiC greffées de façon covalente sur des nanoparticules de silice (SiO₂@SiC), nanoparticules hybrides Au@SiO₂@SiC élaborées par interaction électrostatique. L'intensité de fluorescence obtenue pour les nanoparticules de SiC et SiO₂@SiC étant identique pour la même concentration en nanoparticules de SiC, nous en avons déduit que la silice n'induisait pas d'exaltation de la fluorescence ^[100]. Par la suite, nous avons donc utilisé comme référence des nanoparticules de SiC libres. Concernant les nanoparticules Au@SiO₂@SiC élaborées par interaction électrostatique, leur facteur d'exaltation est seulement de 1,3 par rapport à la référence, ce qui est probablement dû à l'instabilité de l'immobilisation des nanoparticules de SiC par cette méthode (Figure 21a). Les nanoparticules Au@SiO₂@SiC élaborées par interaction covalente présentent des facteurs d'exaltation beaucoup plus importants, qui sont influencés par différents paramètres, comme nous l'avons constaté ^[101] : l'épaisseur de la coquille de silice, le diamètre du cœur d'or, ainsi que la longueur d'onde d'excitation. Concernant l'épaisseur de la coquille de silice, nous avons obtenu des résultats similaires à ceux des travaux de Novotny, c'est-à-dire qu'une épaisseur de silice de 10 nm permet d'obtenir les meilleurs facteurs d'exaltation (de l'ordre de 10²). Le diamètre du cœur d'or a par contre peu

d'influence sur les facteurs d'exaltation. En effet, quel que soit le diamètre du cœur d'or, l'intensité du champ proche électrique devient négligeable à quelques nm de la surface du métal ^[102]. Ainsi nous avons pu constater que des nanoparticules dont la coquille de silice avait une épaisseur de 30 nm présentaient un facteur d'exaltation proche de 1. Enfin, la longueur d'onde d'excitation a une influence importante sur l'exaltation de la fluorescence. En effet, nous avons constaté qu'elle devait être la plus proche possible de la bande plasmon du cœur métallique. Ainsi pour des nanoparticules d'or dont la bande plasmon se situe à $\lambda = 525$ nm, le facteur d'exaltation varie de 0,1 à 10 lorsque la longueur d'onde d'excitation passe de 343 nm à 488 nm (Figure 22).

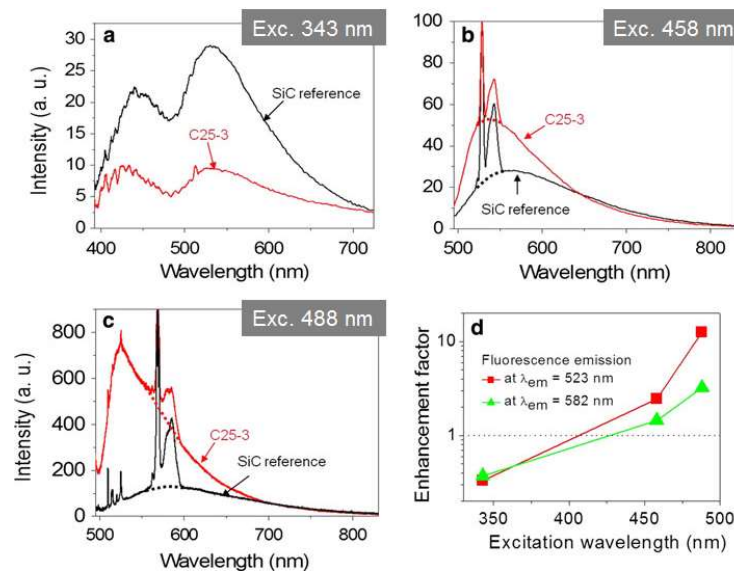


Figure 22. Spectres d'émission de fluorescence pour les nanoparticules hybrides Au@SiO₂@SiC élaborées par interaction covalente (échantillon C25-3) comparés aux nanoparticules de SiC (SiC reference) pour différentes longueurs d'onde d'excitation : 343 nm (a), 458 nm (b) et 488 nm (c). Facteurs d'exaltation calculés à 523 nm (maximum d'émission des nanoparticules hybrides) et à 582 nm (maximum d'émission des nanoparticules de SiC).

II.1.3.2. Fluorophores organiques

Nous avons ensuite cherché à étendre les possibilités d'exaltation offertes par les nanoparticules Métal@Silice à d'autres fluorophores organiques couramment utilisés pour le diagnostic et l'imagerie cellulaire : la cyanine 3 (Cy3) et la fluorescéine isothiocyanate (FITC). Le Cy3 a un rendement quantique de fluorescence faible (4%) dans le tampon PBS ^[103], qui est couramment utilisé en biologie tandis que le FITC peut avoir son rendement quantique initial (85%) qui chute à 10% due à un recouvrement spectral non négligeable entre sa bande d'absorption et sa bande d'émission qui induit un effet de « self-quenching » ^[104] (ou auto-inhibition de la fluorescence) par FRET. Dans ce cas, compte tenu de la large bande d'absorption des nanoparticules d'argent entre 400 et 600 nm, nous avons choisi de greffer ces fluorophores sur des nanoparticules Ag@SiO₂ de façon à pouvoir exalter à la fois leur absorption et leur émission de lumière.

Dans le cas du greffage du Cy3, la surface des nanoparticules Ag@SiO₂ a d'abord été modifiée par l'APTMS de façon à obtenir des fonctions amines comme présenté dans la section II.1.3.1 pour Au@SiO₂. Puis de la streptavidine modifiée NHS-ester et marquée au Cy3 a été greffée de façon covalente. Dans ce cas, pour des cœurs d'argent de 75 nm de diamètre, recouverts par une coquille de

silice de 20 nm d'épaisseur, un facteur d'exaltation de 2,5 a été obtenu par analyse de la fluorescence en solution et après dépôt des dispersions de nanoparticules sur lame de verre ^[105].

Concernant la FITC, la méthode choisie a été d'encapsuler le fluorophore dans la coquille de silice afin de réduire les effets de photoblanchiment et de « self-quenching » ^[93]. Pour cela, après avoir élaboré les nanoparticules Ag@SiO_2 , une deuxième coquille de silice incorporant la FITC a été ajoutée en modifiant chimiquement la fonction isothiocyanate de la FITC par l'APTMS suivi d'un ajout de TEOS. Ainsi les fonctions alcoxysilanes de l'APTMS se co-codensent avec celles du TEOS lors de la formation de la coquille de silice, ce qui permet l'encapsulation de la FITC. Un contrôle négatif a été préparé en dissolvant le cœur d'argent par NaCl 0,25 M. On observe effectivement une disparition de la bande plasmon de l'argent après dissolution du cœur ^[106]. Les propriétés de fluorescence des nanoparticules $\text{Ag@SiO}_2\text{@FITC}$ ont été comparées à celles des nanoparticules dont le cœur a été dissous. Nous avons pu montrer l'effet d'exaltation apporté par le cœur d'argent en fonction de la distance de séparation par rapport à la FITC, contrôlée par l'épaisseur de la première coquille de silice (Figure 23).

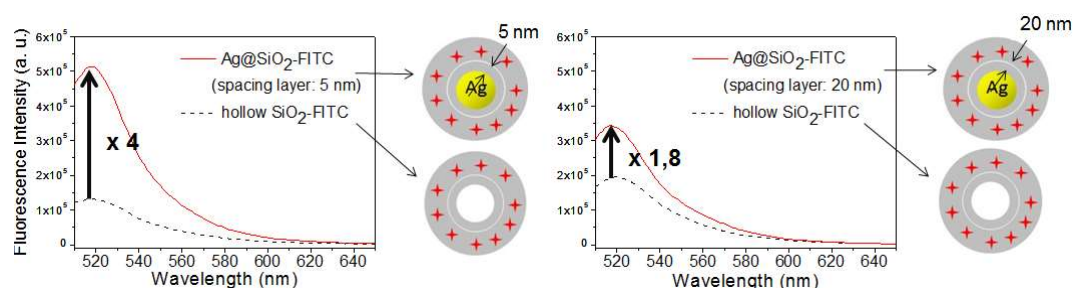


Figure 23. Spectres de fluorescence des nanoparticules $\text{Ag@SiO}_2\text{@FITC}$ comparés à ceux des échantillons de référence pour deux épaisseurs de silice : 5 nm (gauche) et 20 nm (droite).

Comme attendu, c'est une distance de séparation de 5 nm qui permet d'obtenir le meilleur facteur d'exaltation. Enfin, nous avons décidé d'ajouter à ces nanoparticules une fonctionnalité supplémentaire en ajoutant des nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer. Ces nanoparticules ont été préparées par une méthode de co-précipitation de FeCl_2 et FeCl_3 en milieu basique ^[107]. Après avoir fonctionnalisé les nanoparticules $\text{Ag@SiO}_2\text{@FITC}$ par l'APTMS et les nanoparticules d'oxyde de fer par du citrate de sodium, nous avons tiré profit des interactions électrostatiques fournies par ces deux composants de charges opposées afin d'immobiliser les nanoparticules magnétiques à la surface des nanoparticules $\text{Ag@SiO}_2\text{@FITC}$ ainsi que le montre la Figure 24a. Enfin, la stabilité de cette méthode d'immobilisation est confirmée par les Figures 24b et 24c qui montrent que les nanoparticules attirées par l'aimant sont également celles qui sont fluorescentes.

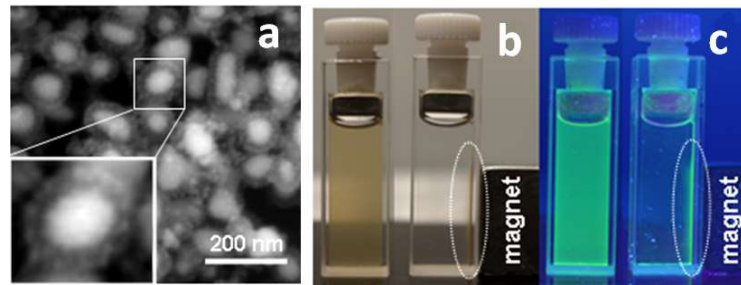


Figure 24. (a) Image MEB des nanoparticules Ag@SiO₂@FITC avec des nanoparticules d'oxyde de fer immobilisées sur leur surface. Photographies de la dispersion de nanoparticules hybrides sans et avec un aimant sur le bord de la cuve (b) sous lumière blanche and (c) sous éclairage UV.

II.1.4. Conclusion sur l'axe 1

Grâce aux compétences acquises, ces nanoparticules Métal@Silice ont pu être exploitées pour d'autres champs d'applications. Ainsi, en collaboration avec l'IM2NP à Marseille, les nanoparticules Ag@SiO₂ ont été incluses dans des cellules solaires organiques^[108]. L'effet de la coquille de silice sur le courant photoélectrique par rapport à des cellules incluant des nanoparticules Ag sans coquille a été étudié. Avec une coquille de silice de 5 nm d'épaisseur, la densité de courant de court-circuit est augmentée de 12%.

Dans le cadre des applications biomédicales, comme nous l'avons vu, les nanoparticules présentées dans ce premier axe montrent l'intérêt de produire un couplage métal-émetteur fluorescent moyennant le contrôle de leur distance de séparation assuré ici par une coquille de silice. Leur utilisation dans le domaine biomédical peut alors être envisagée par exemple pour l'imagerie cellulaire ou la réalisation de capteurs fluorescents ultra-sensibles. Cependant, pour les utiliser en tant qu'outil de diagnostic, notamment sur tissu entier ou *in vivo*, il est intéressant d'obtenir une image résolue en 3 dimensions. La détection par fluorescence dans le visible devient alors limitée par l'auto-fluorescence et l'absorption de la lumière par les tissus.

Comme nous allons le voir par la suite, l'optique non linéaire permet de s'affranchir de ces limitations. Mes activités de recherche se sont donc ensuite orientées dans cette direction, avec la volonté d'obtenir une nouvelle modalité d'imagerie mais aussi de pouvoir adjoindre aux nanoparticules une fonctionnalité thérapeutique.

II.2. Axe 2 : Nanoparticules à propriétés optiques non linéaires pour le ciblage cellulaire et la photothérapie

L'imagerie optique non linéaire représente une alternative intéressante à l'imagerie de fluorescence. Les microscopes optiques non linéaires utilisant des sources d'excitation à deux voire à trois photons, sont de plus en plus courants à l'heure actuelle dans les laboratoires, que ce soient dans ceux d'optique ou de biologie. Parmi les différents signaux détectables, le signal de génération de seconde harmonique (SHG) est particulièrement intéressant puisqu'il permet une excitation dans le proche infrarouge, région dans laquelle l'absorption et la diffusion des tissus biologiques sont minimales, ainsi qu'un signal intense pouvant être ajusté dans tout le domaine visible. Des nanoparticules présentant un signal de SHG ont donc un fort potentiel pour l'imagerie cellulaire. Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à la fonctionnalisation de nanoparticules de SiC actives en optique non linéaire pour le ciblage de cellules cancéreuses. Par ailleurs, nous avons souhaité apporter à ces nanoparticules des propriétés plasmoniques afin d'obtenir un effet phototherapeutique grâce à une forte absorption dans le domaine du proche infrarouge.

II.2.1. Quelques éléments d'optique non linéaire à deux photons

Lorsqu'un matériau est soumis à un champ électrique \vec{E} , sa réponse se traduit sous la forme d'une polarisation notée \vec{P} . Cette polarisation peut s'écrire de la façon suivante :

$$\vec{P} = \varepsilon_0 \chi^{(1)} \vec{E} + \varepsilon_0 \chi^{(2)} (\vec{E})^2 + \varepsilon_0 \chi^{(3)} (\vec{E})^3 + \dots + \varepsilon_0 \chi^{(n)} (\vec{E})^n \quad (\text{Equation 5})$$

On note ε_0 la permittivité diélectrique du vide et $\chi^{(n)}$ le tenseur de susceptibilité électrique d'ordre n , qui pour $n \geq 2$ est une matrice composée des coefficients optiques non linéaires du matériau. Ces coefficients sont non négligeables dans le cas où le matériau a une structure cristalline non centrosymétrique. D'autre part, pour que les composantes $(\vec{E})^n$ avec $n \geq 2$ soient non négligeables, il est nécessaire d'exciter le matériau avec un champ électrique suffisamment grand (typiquement supérieur à 10^5 V/m).

Dans le cas particulier des effets optiques non linéaires d'ordre 2, les interactions non linéaires biphotoniques sont de deux natures possibles (Figure 25): a) une molécule ou une particule peut absorber simultanément 2 photons pour passer de son état électronique fondamental à un état excité. Une partie de l'énergie absorbée contribue aux vibrations moléculaires. La durée de vie de l'état excité est de l'ordre de la nanoseconde. La désexcitation entraîne l'émission d'un photon, c'est le phénomène de fluorescence biphotonique ou TPEF (two-photon excited fluorescence); b) une molécule peut également diffuser instantanément deux photons incidents et les convertir en un seul photon. Il n'y a pas de perte d'énergie au cours du processus : l'énergie du photon émis est exactement égale au double de l'énergie des photons incidents. C'est le phénomène de SHG.

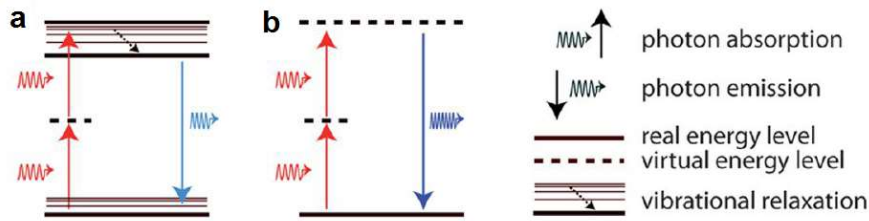


Figure 25. Processus de fluorescence biphotonique (TPEF) et de génération de seconde harmonique (SHG) ^[109].

Dans le cas d'une utilisation en imagerie biomédicale, le signal de SHG présente plusieurs avantages non négligeables par rapport à la TPEF. En effet, la SHG n'induit pas de photoblanchiment des émetteurs puisqu'elle est uniquement basée sur un effet de diffusion de la lumière. De plus, l'excitation peut être réalisée sur une large gamme de longueurs d'onde alors que l'excitation de la TPEF doit être réalisée à une longueur d'onde spécifique puisqu'elle est basée sur un effet d'absorption-émission de lumière. Ainsi, il est possible d'utiliser une longueur d'onde d'excitation dans le proche infrarouge, pour laquelle l'absorption des protéines et de l'eau est minimale, et la diffusion reste faible.

L'imagerie multiphotonique est particulièrement adaptée pour des applications de diagnostic du cancer ^[110-112]. En effet, elle présente de nombreux avantages comparée à la microscopie de fluorescence comme le sectionnement 3D intrinsèque sans avoir besoin d'utiliser un diaphragme confocal, une meilleure profondeur de pénétration due à une plus faible diffusion aux grandes longueurs d'onde, et une meilleure photostabilité grâce à une absorption réduite hors du plan focal ^[113].

Il semble alors intéressant de fabriquer de nouvelles sondes actives en SHG afin de marquer les cellules cancéreuses et de pouvoir les observer par imagerie multiphotonique. Ainsi les nanoparticules composées de matériaux non centrosymétriques apparaissent appropriées puisque leur section efficace d'absorption non linéaire est supérieure de 1 à 2 ordres de grandeurs par rapport à celles des molécules actives en optique non linéaire ^[114]. Le Tableau 2 résume les différents types de nanoparticules utilisées jusqu'à maintenant dans ce but.

Tableau 2. Comparaison issue de la littérature des nanoparticules émettrices de SHG utilisées pour la bio-imagerie et la thérapie.

Nanoparticules émettant la SHG	Coefficients non linéaires du second ordre des cristaux massifs (pm/V)	Cytotoxicité des nanoparticules	Utilisation des nanoparticules pour l'imagerie cellulaire en SHG et la thérapie
LiNbO₃	17,3-25,7 ^[110,115]	Faible ^[110,116]	Imagerie de cellules souches ^[116]
BaTiO₃	12,8-14,1 ^[110,117]	Faible ^[110,118]	Ciblage de cellules cancéreuses ^[111] Imagerie de cellules cancéreuses ^[118] Photothérapie ^[118]
KNbO₃	15,3-22,3 ^[110,115]	Faible ^[110]	Imagerie de cellules saines ^[119]
ZnO	1,4-2,8 ^[110,120]	Forte ^[110,121]	Ciblage de cellules cancéreuses ^[122] Photothérapie ^[123]
SiC-3C	26,0-34,2 ^[124,125]	Faible ^[126]	Ciblage de cellules cancéreuses ^[126]

On peut constater que mis à part les nanoparticules de ZnO, la plupart des nanoparticules présentent une cytotoxicité faible. Les applications visées sont aussi bien l'imagerie (ciblée ou non ciblée) que la photothérapie. Cette dernière sera détaillée dans la section II.2.3.

II.2.2. Nanoparticules de SiC actives en SHG pour le ciblage de cellules cancéreuses

Publication associée	A9
Etudiants associés	Maxime Bokseveld (thèse 2013-2016) Ali Jaffal (stage M1 2015)
Collaborations	Dr. L. Bonacina, Dr. V. Kylin, Group of Applied Physics - Biophotonics, Université de Genève (Suisse) Dr. A. Géloën, Laboratoire de recherche en Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition (CARMEN), INSERM Lyon Dr. G. Ceccone, European Commission Joint Research Center, Ispra, Italie Dr. V. Lysenko, INL, équipe Spectroscopie et Nanomatériaux Dr. S. Alekseev, Université Taras Schevchenko, Kiev (Ukraine)

Parmi les matériaux cités dans le Tableau 2, les nanoparticules de SiC présentent de nombreux avantages pour l'imagerie *in vivo*. En premier lieu, elles ont un signal de SHG intense [127,128] ainsi qu'une faible toxicité cellulaire [97,129,130]. Cette faible toxicité doit cependant être modérée par des résultats décrivant une réponse pro-inflammatoire et un stress oxydant induit par ces nanoparticules [129,130]. Cependant, ce comportement semble être limité à des nanoparticules dont le diamètre se situe autour de 15 nm [130]. Deuxièmement, la surface du SiC peut être facilement modifiée en utilisant la chimie des silanes [131,132] ou la chimie radicalaire [133–135].

II.2.2.1. Fonctionnalisation des nanoparticules de SiC

Cette chimie de surface peut être mise à profit pour greffer des ligands de ciblage de cellules cancéreuses. Parmi tous les ligands de ciblage, l'acide folique est particulièrement intéressant. En effet, les récepteurs de l'acide folique sont surexprimés par une large gamme de cellules cancéreuses [136], conférant à l'acide folique des propriétés de ciblage versatiles. De plus, comme les récepteurs à l'acide folique sont très peu présents dans les tissus sains, ce ligand permet d'obtenir une grande spécificité. Enfin, l'acide folique est chimiquement stable et offre plusieurs possibilités de couplage covalent pour la fonctionnalisation des nanoparticules.

Nous avons sélectionné des nanoparticules de SiC de 150 nm de diamètre (Figures 26A et 26B) présentant une structure cristalline non centrosymétrique (polymorphe 3C, groupe d'espace F43m). Leur grand diamètre (associé à une grande section efficace d'absorption à deux photons) leur confère des propriétés de SHG intenses comme le montre la Figure 26C.

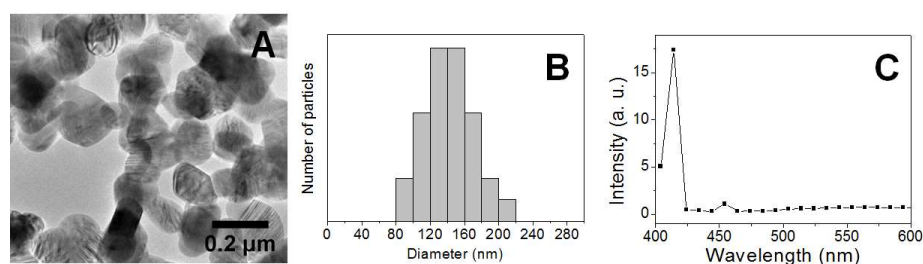


Figure 26. Image TEM des nanoparticules de SiC (A), histogramme de taille correspondant (B) et spectre d'émission SHG sous excitation à 820 nm.

La méthode de fonctionnalisation que nous avons utilisé consiste à modifier chimiquement les nanoparticules par un aminosilane puis à greffer une molécule d'acide folique modifiée par un polyéthylenglycol (PEG). Le PEG joue un rôle d'espaceur en vue d'augmenter l'affinité entre l'acide folique et les récepteurs des cellules cancéreuses, grâce à sa longueur et sa flexibilité [137]. Le protocole de fonctionnalisation est schématisé sur la Figure 27. Les nanoparticules de SiC ont été d'abord chimiquement modifiées par l'APTES puis une fonction diisothiocyanate a été greffée. Le ligand PEG-folate a été synthétisé en couplant l'acide folique à un PEG-diamine via un ester activé par DCC/NHS. Ce ligand a été greffé par l'intermédiaire de sa fonction amine terminale via une fonction thiourée sur les fonctions isothiocyanates portées par les nanoparticules.

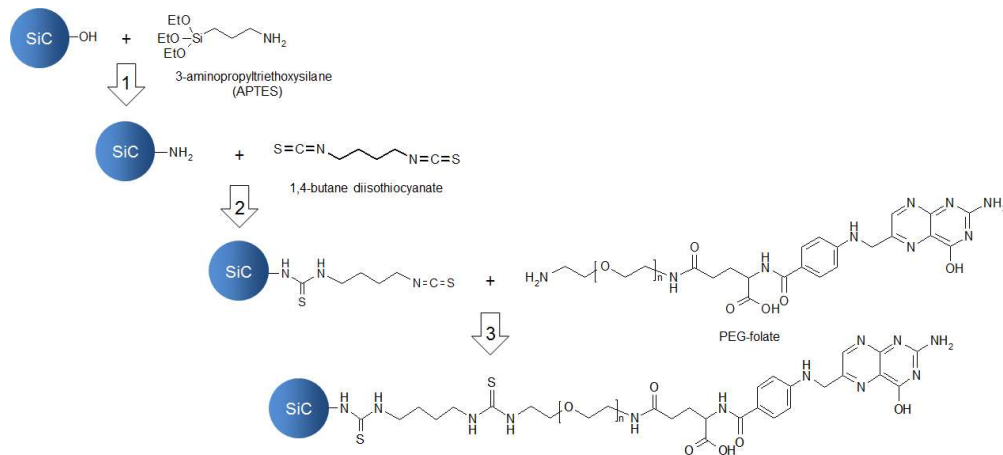


Figure 27. Protocole de fonctionnalisation des nanoparticules de SiC par le ligand PEG-folate. Lors de l'étape 1, les nanoparticules de SiC activées (création de Si-OH par un traitement thermique et une attaque chimique dans KOH concentré) sont silanisées par l'APTES. Lors de l'étape 2 un diisothiocyanate est greffé sur les nanoparticules aminées qui sert d'agent de liaison pour le PEG folate qui est greffé via une liaison thiourée lors de l'étape 3.

Les différentes étapes de fonctionnalisation ont été caractérisées par plusieurs techniques fournissant des informations complémentaires à différentes échelles (potentiel zeta, dosage colorimétrique, spectroscopie infrarouge, XPS et ToF-SIMS). Les analyses XPS et ToF-SIMS ont été réalisées en collaboration avec Giacomo Ceccone du Centre de Recherche de la Commission Européenne situé à Ispra, en Italie. Ces caractérisations ont permis d'obtenir les résultats suivants (Figure 28).

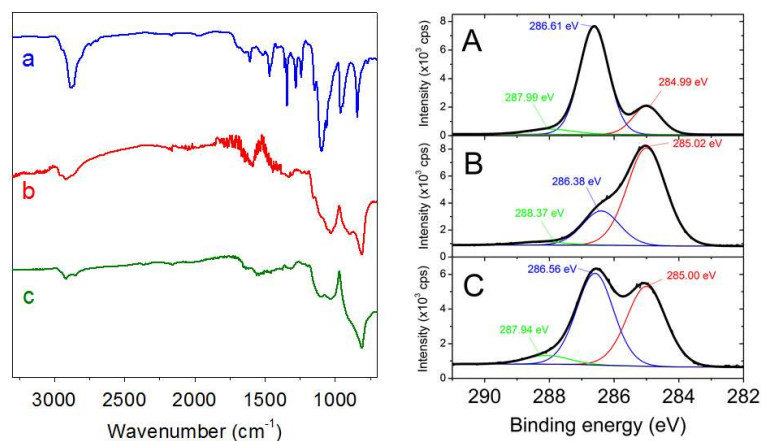


Figure 28. A gauche: spectres infrarouges du PEG-folate (a), des nanoparticules de SiC modifiées par le PEG-folate (b) et des nanoparticules de SiC modifiées par l'APTES (c). A droite : spectres fins XPS autour du pic C1s du carbone du PEG-folate (A), des nanoparticules de SiC modifiées par l'APTES (B) et des nanoparticules de SiC modifiées par le PEG-folate (C).

D'une part, la silanisation des nanoparticules de SiC nécessite un pré-traitement avec une solution concentrée de KOH pour révéler les fonctions silanols de surface puis doit être réalisée en 2 étapes avec un aminosilane pour passer d'un potentiel zeta négatif (-40 mV) un potentiel zeta positif (+20 mV) montrant la présence de fonctions amines à la surface des nanoparticules de SiC. Ces résultats ont été confirmés par spectroscopie infrarouge (présence d'une large bande Si-O-Si à 1000-1200 cm^{-1} et des pics -CH dans la région 2800-2900 cm^{-1}), par spectroscopie XPS (décalage net du pic Si2p vers les hautes énergies de liaisons après silanisation et apparition du pic N1s) et par ToF-SIMS avec la présence de fragments SiNH_2^+ , $\text{C}_3\text{H}_7\text{N}^+$ et $\text{SiC}_3\text{H}_9\text{N}^+$ après silanisation. D'autre part, le greffage du PEG-folate sur ces fonctions amines a été confirmé par spectroscopie infrarouge (présence du pic C=O de l'acide folique à 1610 cm^{-1} et du pic C-O des liaisons éthers du PEG à 1107 cm^{-1}), par spectroscopie XPS (présence sur le pic C1s des contributions C-C et C-O avec une augmentation de la contribution C-O après greffage du PEG-folate comme le montre la Figure 26C) et par ToF-SIMS avec l'apparition de fragments $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}^+$, $\text{C}_2\text{H}_4\text{NO}^+$ provenant du PEG, $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_5\text{O}^-$, $\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_5\text{O}^-$ provenant de l'acide folique et $\text{CSN}_2^+/\text{C}_2\text{H}_2\text{NS}^+$ provenant de la liaison thiourée).

II.2.2.2. Imagerie multiphotonique ciblée de cellules cancéreuses

Les nanoparticules de SiC modifiées PEG-folate ont ensuite été incubées en présence de cellules. Ces expériences ont été réalisées en collaboration avec Alain Géloën du laboratoire de recherche en Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition (CARMEN) de l'INSERM Lyon. Le modèle de cellules cancéreuses choisi est la lignée cellulaire HuH7 (hépatocarcinomes humains) qui est connue pour interagir fortement avec l'acide folique [138]. Plusieurs contrôles négatifs ont été réalisés afin de s'assurer du marquage spécifique des nanoparticules sur les cellules cancéreuses : incubation en présence de cellules saines, incubation en présence de cellules cancéreuses dans un milieu enrichi en acide folique et incubation de nanoparticules sans folate en présence de cellules cancéreuses. Le fluorophore Nile Red a également été utilisé pour rendre l'ensemble des cellules visibles. Les échantillons ont ensuite été analysés en imagerie multiphotonique (excitation à deux photons à l'aide d'un laser pulsé femtoseconde) dans le cadre d'une collaboration avec Luigi Bonacina du laboratoire GAP-Biophotonics de l'Université de Genève. Les images obtenues sont présentées sur les Figures 29A et 29B.

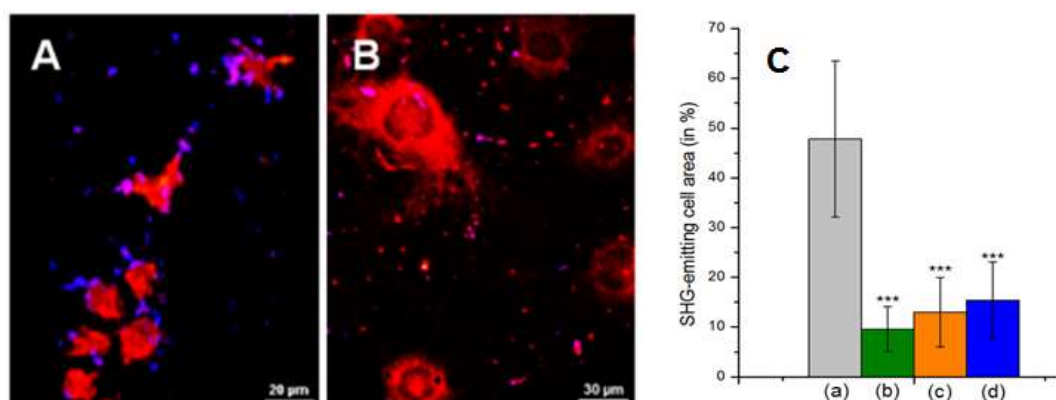


Figure 29. Imagerie multiphotonique (excitation 790 nm) de cellules cancéreuses HuH7 (A) et de cellules saines 3T3-L1 (B) après incubation avec les nanoparticules de SiC modifiées PEG-folate. Evaluation de la surface cellulaire émettant de la SHG pour les différents tests réalisés (C) : cellules HuH7 + nanoparticules de SiC modifiées PEG-folate (test a), cellules saines (fibroblastes murins 3T3-L1) + nanoparticules de SiC modifiées PEG-folate (test b), test en compétition identique au test a avec un excès d'acide folique libre dans le milieu de culture (test c), cellules HuH7 + nanoparticules de SiC modifiées PEG (test d).

Sous excitation à 790 nm, le Nile Red émet un signal de TPEF à 607 nm (en rouge sur l'image de la Figure 29A) et les nanoparticules de SiC émettent un signal de SHG à 395 nm (en bleu sur l'image de la Figure 29A). Le pourcentage moyen de cellules marquées par les nanoparticules de SiC modifiées PEG-folate est d'environ 48% tandis que les cellules 3T3-L1 présentent un taux de marquage significativement plus faible autour de 10% ($p < 0,0001$ déterminé par un test de Student). Les deux contrôles négatifs additionnels présentent des taux de marquage de 13 et 15% ce qui est également très faible. Ces résultats montrent l'efficacité de ces nanoparticules de SiC modifiées PEG-folate pour le ciblage de cellules cancéreuses. Par ailleurs, aucune toxicité n'a été observée sur la prolifération de cellules saines en présence des nanoparticules de SiC.

II.2.3. Nanoparticules hybrides plasmoniques actives en SHG pour l'imagerie et la photothérapie

Publications associées	A1, A3, A5, A10
Etudiants associés	Maxime Bokseveld (thèse 2013-2016) Mathias Urbain (thèse 2015-...) Rachael Taitt (thèse 2017-...) Eloïse Millet (stage M2 2017) Nicolas Martinez-Rodriguez (stage M2 2018)
Collaborations	Dr. Y. Mugnier, Pr. R. Le Dantec, Laboratoire Systèmes et Matériaux pour la Mécatronique (SYMME), Annecy Dr. L. Bonacina, Dr. V. Kylin, Group of Applied Physics - Biophotonics, Université de Genève (Suisse) Dr. A. Géloën, Laboratoire de recherche en Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition (CARMEN), INSERM Lyon Pr. P. F. Brevet, Institut Lumière-Matière, Lyon

Les nanostructures métalliques, et plus particulièrement celles d'or, possèdent la propriété de convertir un rayonnement en chaleur. Cet effet provient de la désexcitation non radiative des plasmons, processus qui est résumé sur la Figure 30.

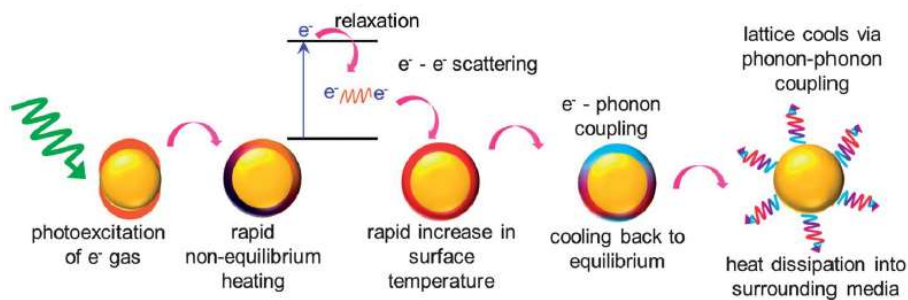


Figure 30. Principe de la conversion de la lumière en chaleur par photothermie dans les nanostructures plasmoniques (figure extraite de ^[139]).

Après photoexcitation de la nanostructure métallique, un rapide échauffement hors équilibre est observé. La nanostructure subit ensuite une relaxation non radiative due aux collisions électrons-électrons, ce qui entraîne une augmentation rapide de la température à la surface du métal. Le retour à l'équilibre se fait lors du refroidissement par échange d'énergie entre les électrons et les phonons du

réseau cristallin. Enfin, le couplage phonon-phonon entraîne la dissipation de la chaleur dans le milieu environnant. Cet effet peut être utilisé pour l'apoptose de cellules tumorales en créant un stress thermique et éventuellement mécanique par l'apparition de bulles ^[140].

Les nanostructures d'or sont parmi les plus intéressantes pour déclencher cet effet photothermique car leur synthèse permet d'ajuster finement leur taille et leur forme, donc par conséquent leurs propriétés optiques pour l'absorption de la lumière. Ainsi il est possible de déplacer leur bande plasmon dans le domaine du proche infrarouge (650-1300 nm), qui comme nous l'avons décrit dans la section II.2.1, permet de minimiser l'absorption et la diffusion de la lumière par les tissus biologiques. Deux types de nanostructures d'or potentiellement intéressantes pour la photothermie ont été étudiés : des nanobâtonnets et des nanocoquilles. Dans les deux cas, elles ont été combinées à des nanoparticules présentant des propriétés de SHG, afin d'obtenir des nanoparticules multifonctionnelles pour l'imagerie cellulaire et la photothérapie.

II.2.3.1. Nanoparticules de SiC décorées par des nanobâtonnets d'or

Les nanobâtonnets d'or sont particulièrement recherchés pour des applications en photothérapie. En effet, leur rapport d'aspect (rapport longueur sur diamètre) permet d'ajuster finement la position de leur bande plasmon. Il a également été modélisé que leur coefficient d'absorption dans le proche infrarouge est plus élevé que celui des nanocoquilles d'or ^[141]. Dans cette étude, les nanobâtonnets d'or ont été synthétisés par la méthode standard à partir de germes d'or nanométriques préparés à partir de NaBH_4 (réducteur très fort), puis d'une solution contenant du CTAB, des sels d'argent AgNO_3 et de l'acide ascorbique (réducteur faible) pour la phase de croissance ^[142]. Les rôles du CTAB et des ions argent sont liés. Il semble qu'ils forment un complexe $[\text{AgBr}_2^- \text{CTA}^+]$ qui a une très forte affinité pour les surfaces d'or (110) qui constituent les faces allongées des bâtonnets, et qui par conséquent, favorise la croissance monodimensionnelle. Enfin lorsque la quantité d'ions argent augmente, le rapport d'aspect des nanobâtonnets augmente, ce qui décale la bande plasmon vers le rouge. Dans ce projet, nous avons souhaité obtenir des nanobâtonnets dont la bande plasmon se situe autour de 800 nm, afin que l'absorption du laser proche infrarouge (808 nm) utilisé pour l'expérience de photothérapie soit maximale. Ces nanobâtonnets sont donc initialement recouverts de tensioactif CTAB, ce qui leur confère une charge de surface positive (potentiel zeta : +55 mV). Nous avons également réalisé une sélection en taille par une méthode simple de centrifugation qui nous a permis de réduire de façon efficace le pourcentage de nanosphères d'or de 30% juste après synthèse à moins de 10% après le procédé de tri ^[143].

Les nanoparticules hybrides SiC décorées par des nanobâtonnets d'or (SiC@Au) ont été élaborées par simple interaction coulombienne entre les nanoparticules de SiC chargées négativement (potentiel zeta : -40 mV, voir section III.2.2.1) et les nanobâtonnets d'or chargés positivement. Cette méthode est couramment utilisée pour coupler des nanobâtonnets avec d'autres nanoparticules telles que des nanoparticules d'oxyde de fer ^[144,145] ou de terres rares ^[146,147]. Les images MET de la Figure 31 montrent les nanoparticules de SiC avant et après décoration par les nanobâtonnets.

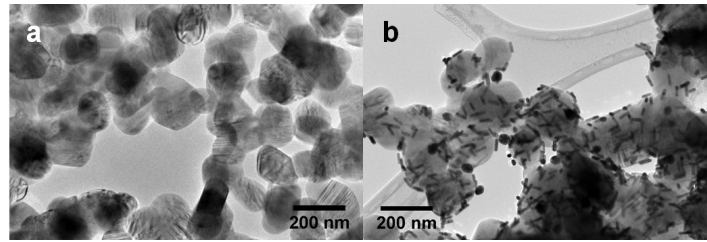


Figure 31. Image MET des nanoparticules de SiC (a) et des nanoparticules hybrides SiC@Au (b).

Les nanobâtonnets d'or sont bien visibles sur les nanoparticules de SiC par différence de contraste chimique. Aucun nanobâtonnet libre n'a été observé, ce qui met en évidence la stabilité de la liaison coulombienne. Cette stabilité a également été confirmée en observant les nanoparticules après incubation avec des cellules saines 3T3-L1 (Figure 32).

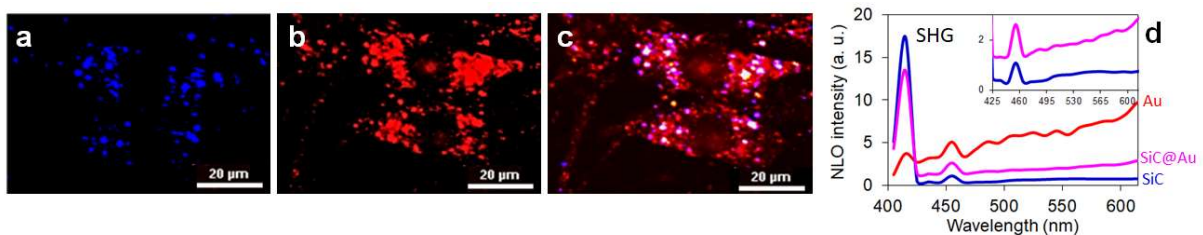


Figure 32. Cellules saines 3T3-L1 marquées par les nanoparticules hybrides SiC@Au observées par microscopie multiphoton (excitation : 790 nm) : détection à 395 nm (a), à 607 nm (b) et à toutes les longueurs d'onde cumulées (c). Réponse optique non linéaire des nanoparticules de SiC (courbe bleue), des nanobâtonnets d'or (courbe rouge) et des nanoparticules hybrides SiC@Au (courbe violette) sous excitation à 820 nm (d).

Le signal détecté à 395 nm (Figure 32a) correspond à la réponse en SHG des nanoparticules hybrides tandis que le signal détecté à 607 nm (Figure 32b) correspond à la luminescence excitée à deux photons (TPL) de ces mêmes nanoparticules. L'acquisition de la réponse spectrale montre que le signal de SHG provient exclusivement des nanoparticules de SiC et le signal de TPL des nanobâtonnets d'or (Figure 32d). La colocalisation des 2 signaux montre donc bien que les nanoparticules hybrides sont composées de SiC et d'or. L'effet photothermique de ces nanoparticules a été testé en déposant des gouttes de suspensions de nanoparticules sur une lame de verre microstructurée qui ont été irradiées par un laser continu à 808 nm via une fibre optique permettant d'obtenir une puissance par unité de surface de 40 mW cm^{-2} (Figure 33).

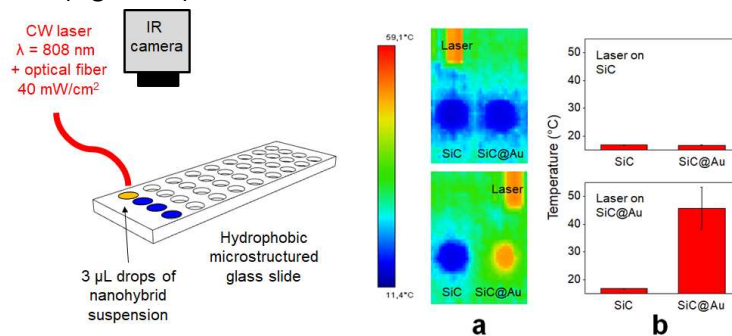


Figure 33. Schéma du dispositif utilisé pour l'irradiation (gauche). A droite, images thermiques (a) et températures correspondantes pour (b) des gouttes de suspensions de nanoparticules irradiées par un laser continu à 808 nm : nanoparticules SiC (goutte de gauche) et nanohybrides SiC@Au (goutte de droite). La goutte en train d'être irradiée peut être identifiée par la position de la fibre optique sur chaque image thermique.

Une caméra infrarouge placée au-dessus a été utilisée pour acquérir des cartographies thermiques. Instantanément après l'irradiation, une élévation de température importante (de 30°C environ) est observée uniquement pour les nanoparticules SiC@Au. La toxicité de ces nanoparticules a été évaluée d'abord sur cellules saines puis sur cellules cancéreuses afin de mener des expériences de photothérapie. Ces tests ont été réalisés sur le système xCELLigence, dont dispose Alain Géloën du laboratoire CARMEN, permettant par mesure d'impédance en temps réel de suivre la prolifération cellulaire. L'appareil fournit un indice cellulaire (« cell index ») qui correspond à l'occupation surfacique des cellules et qui prend en compte le nombre de cellules, leur taille et leur force d'adhésion à la surface. Nous avons normalisé ces indices cellulaires pour la valeur correspondant à l'introduction des nanoparticules afin de faciliter la comparaison dans les différentes conditions (Figure 34).

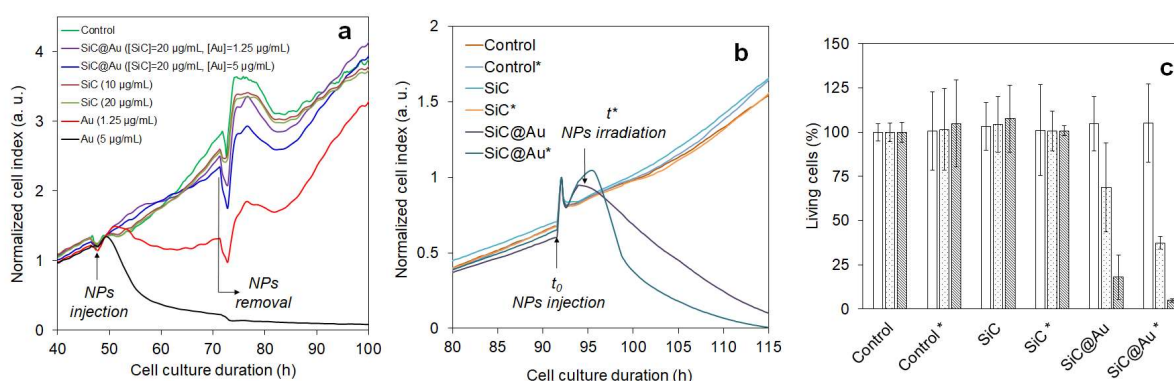


Figure 34. Evolution de l'indice cellulaire normalisé en fonction de la durée de la culture cellulaire pour des cellules saines 3T3-L1 (a) et des cellules cancéreuses HuH7 (b) incubées avec des nanoparticules de SiC, des nanobâtonnets d'or et des nanoparticules hybrides SiC@Au. Les pourcentages de cellules vivantes (c) ont été déduits à partir des indices cellulaires mesurés sur cellules cancéreuses. Les échantillons irradiés par un laser continu à 808 nm (puissance par unité de surface : 40 mW/cm²) sont notés par une *. Les échantillons de contrôle sont des cellules seules. Sur la Figure 34c, le pourcentage de cellules vivantes a été mesuré 1h après l'introduction des nanoparticules (barres blanches), 6h (barres avec des points) et 16h (barres hachurées) après l'irradiation des échantillons.

Les nanoparticules de SiC n'influent pas sur la prolifération cellulaire que ce soit en présence de cellules saines (Figure 34a) ou en présence de cellules cancéreuses (Figure 34b). Par contre, les nanobâtonnets d'or induisent un effet cytotatique et même cytotoxique sur cellules saines pour des concentrations croissantes (Figure 34a). D'après la littérature, la toxicité ne semble pas provenir des nanobâtonnets en eux-mêmes mais plutôt de leur charge de surface positive due au CTAB qui entraîne une meilleure pénétration cellulaire [148]. En ce qui concerne les nanoparticules hybrides SiC@Au, bien qu'elles ne semblent pas présenter d'effet toxique pour les cellules saines (Figure 34a), elles conduisent à une mort cellulaire importante sur cellules cancéreuses (Figure 34c) : seulement 18% de cellules sont restées vivantes à la fin de la mesure. Ce comportement différent en présence de deux types cellulaires a déjà été observé [149–152] : en effet, il a été démontré que l'exposition d'une même population de nanoparticules à différents types cellulaires influe sur la capacité des cellules à produire de l'ATP et des ROS, et aussi sur leur potentiel d'internalisation. Pour des études *in vivo*, il est aussi bien connu que les nanoparticules sont plus efficacement accumulées dans les tissus tumoraux que dans les tissus sains par effet EPR [153]. Ces effets conjugués peuvent potentiellement faciliter le détachement des nanobâtonnets et leur pénétration dans les cellules cancéreuses, conduisant à la toxicité des nanoparticules hybrides. En présence d'irradiation la toxicité observée est plus importante (seulement 5% de cellules vivantes en fin de culture), ce qui laisse penser qu'il y a également une composante

photothermique qui agit. Le problème que nous venons d'évoquer (instabilité des nanoparticules hybrides en présence des cellules cancéreuses), peut être résolu en élaborant une coquille d'or stable sur les nanoparticules actives en SHG.

II.2.3.2. Nanoparticules de LiNbO_3 recouvertes d'une nanocoquille d'or

Ce sujet de recherche a démarré dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de Ronan Le Dantec et de Yannick Mugnier au laboratoire SYMME d'Annecy, financée par le projet Interreg NANOFIMT. L'équipe d'Annecy synthétise des nanoparticules de LiNbO_3 actives en SHG par une méthode solvothermale à partir d'éthoxydes de niobium et de lithium dans un mélange éthanol/1,4-butanediol à 250°C et à haute pression. Par cette méthode, qui fait l'objet de la thèse de Mathias Urbain, il est possible de produire des nanoparticules de diamètre contrôlé, avec une charge de surface fortement négative (potentiel zeta d'environ -40 mV) permettant une bonne stabilité en milieu aqueux.

La croissance d'une nanocoquille d'or a été bien étudiée sur des nanoparticules de silice ^[154–156] et dans une moindre mesure sur des nanoparticules d'oxyde de fer ^[157,158]. Malgré une variation dans le type de réactifs utilisés, la plupart des travaux se basent sur un protocole similaire en deux étapes (Figure 35): i) l'ajout de germes d'or nanométriques à la surface du cœur (« seeding »), ii) la croissance d'une coquille homogène à partir de ces germes en ajoutant des sels d'or en présence d'un réducteur en milieu basique (« plating »).

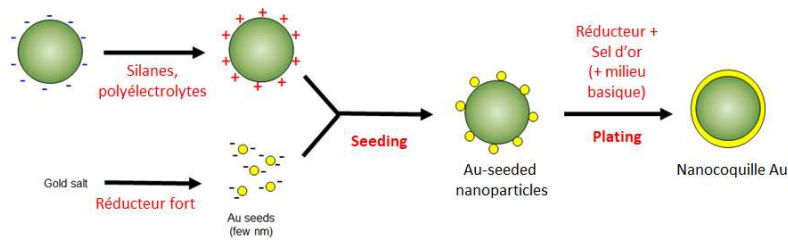


Figure 35. Illustration de la méthode d'élaboration de nanocoquilles d'or.

La première étape consiste donc en l'assemblage des cœurs et des germes d'or par interaction coulombienne. Concernant les germes d'or, ils sont formés par la réduction de sels d'or. Un réducteur fort tel que NaBH_4 ^[159] ou THPC ^[160] permet d'obtenir des germes nanométriques (Figure 36a). Les germes produits ont généralement une charge de surface négative, principalement due aux agents réducteurs utilisés. Dans la plupart des cas, les cœurs sont des oxydes, dont la charge de surface est négative lorsqu'ils sont dispersés dans l'eau. Une inversion de la charge de surface est donc nécessaire afin d'attirer les germes d'or à la surface. Les molécules utilisées sont de deux types : aminosilanes ou polyélectrolytes. Bien que l'inversion de charge de surface soit efficace dans les deux cas, nous avons préféré utiliser des polyélectrolytes tels que le BPEI, ne nécessitant pas de pré-traitement de la surface des cœurs d'oxyde et plus simple à mettre en œuvre tout en restant en milieu aqueux. Après ajout du BPEI et réalisation de 3 étapes de lavages dans l'eau pour éliminer l'excès de polymère, la charge de surface des nanoparticules de LiNbO_3 passe de -40 mV à $+40$ mV. Après mise en contact avec les germes d'or, on observe nettement leur présence à la surface des cœurs de LiNbO_3 (Figure 36d) ainsi qu'une nouvelle inversion de la charge de surface (-35 mV) due à la présence des germes chargés négativement.

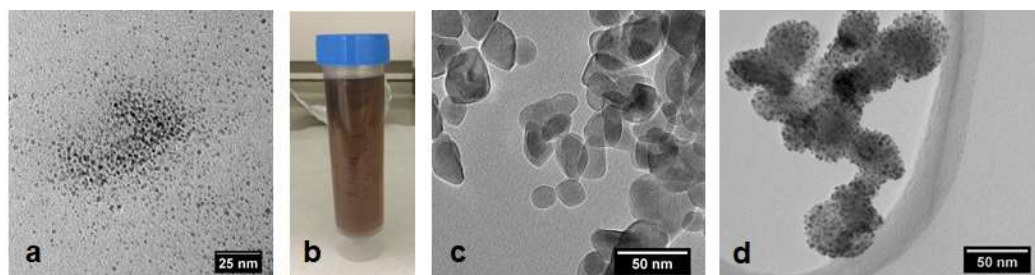


Figure 36. Image MET de germes d'or de diamètre moyen 2 nm synthétisés en réduisant des sels d'or par THPC (a), photographie de la dispersion de germes d'or (b), image MET des nanoparticules initiales de LiNbO_3 (c) et image MET des nanoparticules de LiNbO_3 après dépôt du BPEI et des germes d'or (d).

La deuxième étape consiste à utiliser ces germes d'or déposés à la surface des cœurs pour réaliser la croissance d'une couche homogène d'or. Des sels d'or sont rajoutés en présence d'un réducteur en milieu basique. Le réducteur utilisé est généralement plus faible que celui utilisé pour la synthèse des germes, l'objectif étant d'éviter la formation de nouveaux colloïdes d'or. Le pH basique (10-11) favorise la formation d'espèces $\text{Au}(\text{OH})_4^-$. Le potentiel rédox faible du couple $\text{Au}(\text{OH})_4^-/\text{Au}^0$ permet aussi de défavoriser la formation de nouveaux colloïdes [161]. Là aussi, de nombreuses variantes sont présentes dans la littérature notamment concernant le réducteur utilisé : formaldéhyde, monoxyde de carbone, hydroxylamine hydrochloride ou acide ascorbique. Ces différents réducteurs ont été testés. La voie la plus prometteuse est inspirée par les travaux de Lee *et al* [158], pour laquelle la croissance d'une coquille d'or d'épaisseur contrôlée est réalisée par une méthode « layer-by-layer ». Entre chaque étape de croissance, une couche de BPEI est rajoutée afin de pouvoir favoriser l'attraction de nouvelles espèces d'or $\text{Au}(\text{OH})_4^-$ à la surface. En appliquant cette méthode à notre système, nous avons pu obtenir des nanoparticules $\text{LiNbO}_3@Au$ à structure cœur-coquille absorbant dans le proche infrarouge après 3 étapes de croissance (Figure 37).

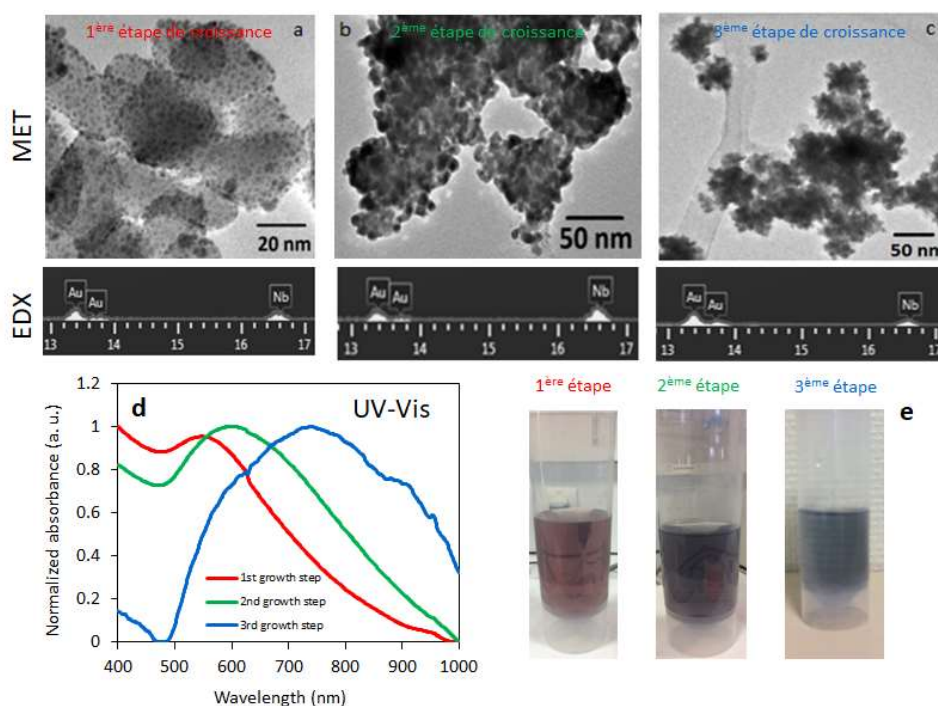


Figure 37. Images MET et spectres EDX des nanoparticules cœur-coquille $\text{LiNbO}_3@Au$ réalisés après 1 étape (a), 2 étapes (b) et 3 étapes (c) de croissance « layer-by-layer », spectres d'absorption UV-Visible (d) et photographies (e) des dispersions de nanoparticules correspondantes.

Les images MET (Figure 37a, 37b et 37c) montrent qu'au fil des étapes de croissance, on observe une densification de la couche d'or, associée à une co-localisation des espèces Au et Nb selon les spectres et les cartographies EDX (Figure 38). Un cœur plus riche en niobium et en oxygène est obtenu, ce qui prouve bien la présence d'une structure cœur-coquille.

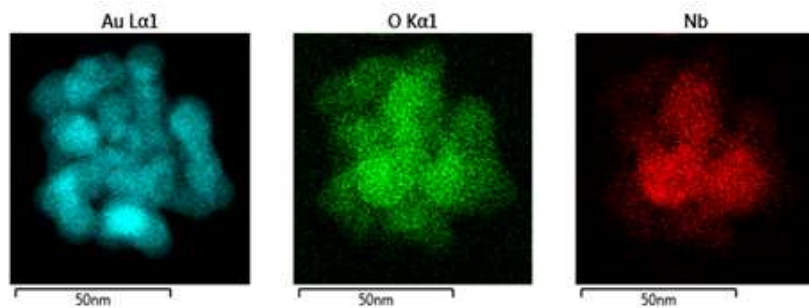


Figure 38. Cartographies chimiques des éléments or, oxygène et niobium réalisées par spectroscopie EDX sur une nanoparticule unique.

Les bandes plasmons des nanoparticules se décalent vers le rouge (Figure 37d), ce qui correspond à la formation d'une couche de plus en plus complète. On observe également un net changement de couleur de la dispersion (Figure 37e). Cette synthèse reste néanmoins à optimiser. D'une part, la coquille obtenue est rugueuse et les nanoparticules sont relativement agrégées, ce qui conduit à un élargissement important de la bande plasmon après 3 étapes de croissance (Figure 37d, courbe verte). Pour cela, des premiers essais visant à rendre la surface plus lisse par chauffage à reflux, en autoclave ou à l'aide d'un laser pulsé sont en cours de réalisation. D'autre part, l'effet photothermique obtenu pour l'instant est assez modeste ($\Delta T = 10^\circ\text{C}$), ce qui reste faible comparé à l'élévation de température requise de 40°C pour provoquer la dégradation des cellules cancéreuses^[162]. Des nanoparticules ayant une résonance plasmon plus fine à la longueur d'onde du laser excitateur ou l'utilisation d'un laser pulsé sont des pistes à explorer pour parvenir à une élévation de température suffisante.

En revanche, une étude préliminaire de la toxicité des nanoparticules $\text{LiNbO}_3\text{@Au}$ sur cellules saines montre que la totalité des cellules restent vivantes après incubation, ce qui justifie le choix de la nanocoquille par rapport aux nanobâtonnets immobilisés en surface.

II.2.4. Conclusion sur l'axe 2

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à l'utilisation de nanoparticules actives en optique non linéaire pour l'imagerie cellulaire. Une fonctionnalisation adaptée de ces nanoparticules permet de cibler efficacement les cellules cancéreuses et ainsi que de les observer avec un bon contraste. L'ajout de nanostructures d'or (nanobâtonnets et nanocoquilles) à leur surface est actuellement développé pour leur apporter des propriétés phototherapeutiques. L'obtention d'une coquille d'or homogène et d'épaisseur contrôlée sur des cœurs actifs en optique non linéaire est également un point-clé dans le cadre d'applications en opto-électronique telles qu'elles sont envisagées dans le projet ANR RACINE démarré en 2018. Dans ce cas, il s'agira d'élaborer des nanoparticules actives en optiques non linéaires manipulables individuellement par des pinces optiques. Ce projet fondamental, a pour objectif final de montrer qu'il est possible de réaliser un dispositif « tout optique ».

II.3. Axe 3 : Nanoparticules magnétiques pour le diagnostic biomédical

Les nanoparticules magnétiques sont maintenant utilisées dans de nombreux domaines comme le stockage de l'information ou le biomédical. Dans le domaine biomédical, c'est principalement l'oxyde de fer qui est utilisé, de par sa biocompatibilité et ses propriétés magnétiques spécifiques. En effet, à l'échelle nanométrique, l'oxyde de fer présente la particularité d'être superparamagnétique, ce qui signifie que son aimantation varie en fonction du champ magnétique appliqué. Ceci est à l'origine de nombreuses applications en Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), en thérapie par hyperthermie ou pour la délivrance ciblée de médicaments, et en bio-séparation ^[163]. C'est cette dernière application qui nous intéresse ici. Dans les deux thématiques que nous présentons dans cet axe, il s'agit d'utiliser les nanoparticules magnétiques pour capturer et analyser des cibles biologiques. Pour cela, une fonctionnalisation chimique et biologique adaptée de la surface des nanoparticules est nécessaire. Nous avons utilisé comme matériau de départ des nanoparticules magnétiques de 300 nm de diamètre fournies par la société Ademtech. Ces nanoparticules sont constituées d'un cœur d'oxyde de fer et d'une coquille de polystyrène modifiée par des fonctions acides carboxyliques. La densité en fonctions -COOH calculée à partir des données du fournisseur est de 4×10^6 fonctions -COOH par nanoparticule, ce qui permet de les fonctionnaliser en concentrant une grande quantité de biorécepteurs (ADN, protéines) à leur surface.

II.3.1. Glyconanoparticules magnétiques pour la capture de lectines impliquées dans l'adhésion de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*

Publication associée	A12
Etudiante associée	Santana Su (stage 2014)
Collaborations	Dr. O. Vidal, Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle (UGSF), Lille Dr. F. Morvan, Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Montpellier

Pseudomonas aeruginosa, également connue sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie aérobie qui est responsable de 10% de l'ensemble des infections nosocomiales en France après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ^[164]. Cette bactérie s'attaque particulièrement aux patients immunodéprimés ou atteints de la mucoviscidose. Dans le cas de la mucoviscidose, à cause d'une trop grande viscosité du mucus, les bactéries s'accumulent sur la paroi bronchique, entraînant la formation d'un biofilm extrêmement résistant aux antibiotiques ^[165]. L'adhésion de la bactérie aux cellules de la paroi bronchique se fait notamment via une interaction sucre-protéine. La membrane cellulaire comporte des carbohydrates (sucres) et *Pseudomonas aeruginosa* possède à sa surface des protéines spécifiques, appelées lectines, capables d'interagir spécifiquement avec certains motifs saccharidiques. Une possible alternative à la thérapie antibiotique est donc d'éviter l'adhésion de la bactérie sur la paroi cellulaire en minimisant les interactions carbohydrate-lectine.

Cette thématique sur les glyconanoparticules magnétiques a été menée pour les besoins du projet ANR Glycomime (2013-2016). Ce projet vise à utiliser en tant qu'agent thérapeutique des molécules synthétiques, ayant plus d'affinité pour les lectines que les carbohydrates naturellement présents à la

surface des cellules. Ces molécules, appelées glycomimétiques, possèdent une architecture et des groupements bien spécifiques permettant de réaliser une interaction multivalente avec les différents sites de reconnaissance des lectines. Ainsi ils devraient se positionner préférentiellement sur les bactéries en jouant le rôle de « leurre moléculaire ». Dans le cadre de ce projet, un grand nombre de molécules glycomimétiques ont été synthétisées à l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM) de Montpellier ^[166,167]. L'affinité de ces glycomimétiques avec les lectines de *Pseudomonas aeruginosa* a été analysée sur puce fluorescente ^[168] à l'INL. Enfin, les molécules présentant les propriétés les plus intéressantes ont été testées en milieu bactérien à l'Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle (UGSF) de Lille ^[169]. Une des tâches de ce projet était de fonctionnaliser des nanoparticules magnétiques avec les molécules glycomimétiques de façon à pouvoir capturer ces lectines et éventuellement la bactérie entière dans un milieu biologique.

Les glyconanoparticules ont été mentionnées dans la littérature pour la première fois en 2001 comme système modèle pour étudier les interactions protéines/carbohydrates au niveau de la membrane cellulaire ^[170]. Après ces premiers travaux sur des nanoparticules d'or, la synthèse de glyconanoparticules a été étendue aux nanoparticules semi-conductrices et aux nanoparticules magnétiques. Les applications visées sont multiples : ciblage de récepteurs pour l'imagerie cellulaire à l'aide de glyconanoparticules fluorescentes ^[171], capture et détection de bactéries à l'aide de glyconanoparticules magnétiques ^[172] ou diagnostic *in vitro* avec des glyconanoparticules d'argent et d'or ^[173]. Des méthodes de fonctionnalisation non-covalentes et covalentes ont été utilisées pour immobiliser les carbohydrates sur les nanoparticules. Les méthodes non-covalentes sont généralement plus simples à mettre en œuvre. En revanche, l'adsorption des carbohydrates sur les nanoparticules est aléatoire et peut être modifiée lors des interactions biomoléculaires ^[174]. Les liaisons covalentes sont donc généralement préférées. La méthode de fonctionnalisation que nous avons mise en œuvre est basée sur des travaux antérieurs réalisés dans l'équipe.

II.3.1.1. Immobilisation des molécules glycomimétiques sur les nanoparticules magnétiques

Depuis 2007 sont élaborées à l'INL des puces fluorescentes ou « glycoarrays » pour l'analyse des interactions carbohydrate-lectine ^[175]. Ces microsystemes ont été conçus à partir du savoir-faire sur les puces à ADN déjà établi dans l'équipe par Eliane Souteyrand ^[176]. Ainsi, les glycomimétiques sont immobilisés sur la puce via l'hybridation de brins d'ADN, à partir des architectures moléculaires complexes synthétisées à l'IBMM (Figure 39).

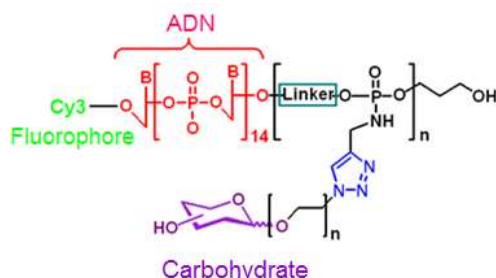


Figure 39. Architecture moléculaire des glycomimétiques synthétisés par l'IBMM (figure extraite de ^[175]).

Ces molécules sont ainsi composées d'un carbohydrate utilisé pour la reconnaissance de la lectine, d'un ou plusieurs « linkers » ayant pour rôle de rigidifier ou de rendre plus mobiles les chaînes

moléculaires et d'un simple brin oligonucléotide contenant 18 à 25 bases azotées sur lequel est greffé un fluorophore (Cy3). L'immobilisation de ces glycomimétiques est donc basée sur l'hybridation de l'oligonucléotide avec sa séquence complémentaire préalablement immobilisée sur la puce (typiquement une lame de verre) via une liaison amide. Cette méthode d'immobilisation, baptisée DDI (pour DNA-Directed Immobilization), a été démontrée comme étant plus efficace qu'une simple immobilisation covalente ^[177]. La rigidité de la double hélice d'ADN pourrait expliquer que le glycomimétique soit plus accessible et immobilisé de façon orientée, ce qui favoriserait une meilleure reconnaissance des lectines. Ces méthodes mises au point sur des surfaces planes ont été transférées sur les nanoparticules magnétiques. Le protocole d'immobilisation utilisé est résumé sur la Figure 40.

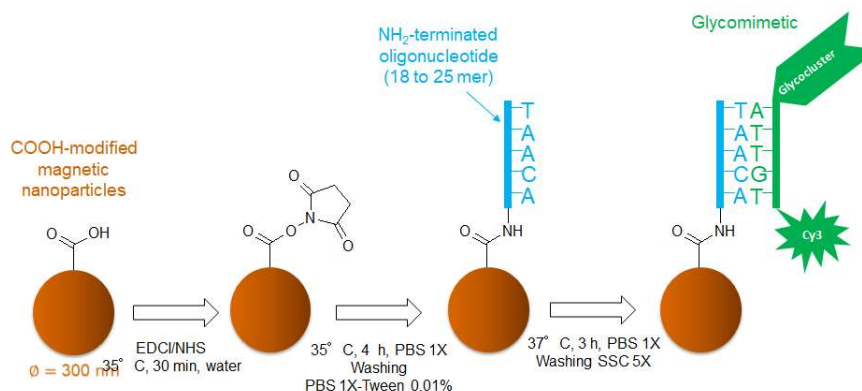


Figure 40. Protocole de fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques par les molécules glycomimétiques.

La première étape consiste à activer les fonctions $-COOH$ présentes à la surface des nanoparticules par EDCI/NHS de façon à créer des fonctions ester activé. Ces nanoparticules activées sont ensuite mises en présence d'oligonucléotides terminés $-NH_2$ de façon à créer une liaison amide covalente. Enfin, les glycomimétiques sont immobilisés via l'hybridation de la séquence oligonucléotide complémentaire. Par rapport à la méthode déjà utilisée sur lame de verre, le principal défi a été d'éliminer les molécules non immobilisées sur les nanoparticules. Pour cela, les propriétés magnétiques des nanoparticules représentent un atout non négligeable puisqu'un aimant permet de réaliser les étapes de purification. La séparation magnétique est par ailleurs plus « douce » que la centrifugation qui conduit souvent à une agrégation irréversible des nanoparticules. Néanmoins, les tampons de dispersion des nanoparticules ont dû être optimisés afin de garder les nanoparticules bien dispersées après chaque étape de fonctionnalisation. Les ultrasons n'étant pas recommandés par le fournisseur et à éviter compte tenu de la présence d'ADN, seule une redispersion manuelle ou à l'aide d'un vortex à faible vitesse étaient possibles.

La présence des oligonucléotides à la surface des nanoparticules peut être identifiée de deux façons. L'ADN absorbe à 260 nm, cependant le NHS également, donc il est difficile d'utiliser cette bande d'absorption. La présence d'un fluorophore tel que le Cy3 permet non seulement de détecter un signal spécifique en absorbance ($\lambda_{abs} = 550 \text{ nm}$) mais aussi en fluorescence ($\lambda_{em} = 565 \text{ nm}$), ce qui autorise une analyse quantitative du nombre d'oligonucléotides immobilisés à la surface des nanoparticules (en supposant un taux de marquage de l'ADN par le Cy3 de 100%).

Dans un premier temps, afin de quantifier la quantité d'oligonucléotides simples brins immobilisés à la surface des nanoparticules (étape 3 de la Figure 40), une séquence oligonucléotide spécifique marquée Cy3 a été greffée. La quantification a été réalisée par soustraction de l'absorbance des

surnageants à l'absorbance initiale de la solution d'oligonucléotide après chaque étape de purification. Les résultats obtenus montrent que le taux de fonctions -COOH des nanoparticules sur lesquelles un oligonucléotide a été greffé atteint un maximum de 25% pour un ratio molaire oligonucléotide/ -COOH de 0,35. Par ailleurs, nous avons constaté que la longueur et la composition de la séquence oligonucléotide avaient un impact important sur l'agrégation des nanoparticules après l'étape de greffage. Ainsi pour une séquence de 18 bases, les nanoparticules restent bien dispersées tandis qu'elles s'agrègent pour une séquence de 25 bases. Enfin, le tampon de dispersion des nanoparticules joue également un rôle non négligeable. Le tampon PBS à différents pH (7,4 ; 8 et 8,5) a été testé. Les résultats montrent que l'immobilisation des oligonucléotides est favorisée pour un pH de 7,4. L'ajout d'un surfactant (Tween) dans le tampon PBS permet de plus d'éviter l'agrégation des nanoparticules lors de leur redispersion. La quantité de glycomimétiques hybridés a également pu être déterminée grâce à des mesures d'absorption et de fluorescence du Cy3. Dans ce cas, la séquence oligonucléotide greffée lors de l'étape 3 n'était pas marquée. Pour une quantité de glycomimétique introduite égale à la quantité d'oligonucléotide immobilisée lors de l'étape de greffage, seulement 25% des glycomimétiques parviennent à être immobilisés par hybridation, ce qui correspond à environ 10^5 molécules glycomimétiques hybridées sur chaque nanoparticule.

II.3.1.2. Détection et extraction de lectines par les glyconanoparticules magnétiques

La lectine (PA-IL) a été choisie en tant que cible de détection pour les glyconanoparticules magnétiques. Elle possède 4 sites reconnaissant les dérivés du sucre galactose^[178]. En conséquence, des glycomimétiques contenant une terminaison galactose ont été immobilisés sur les nanoparticules. Un glycomimétique terminé mannose a été choisi en tant que contrôle négatif (Figure 41).

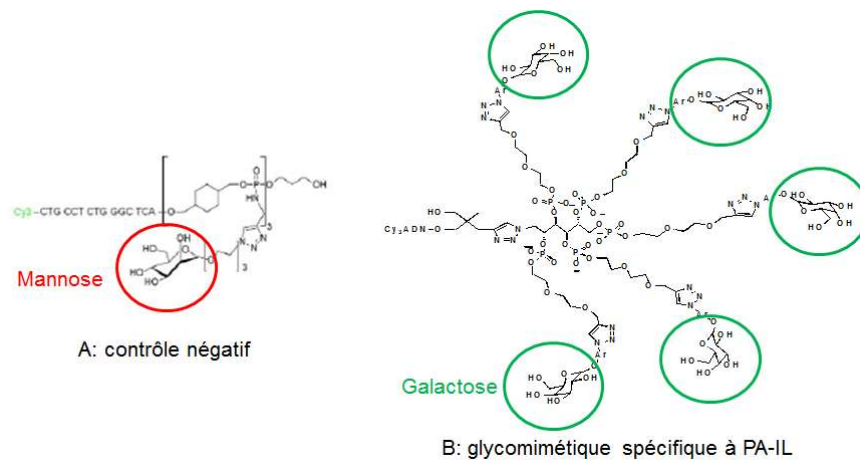


Figure 41. Exemples de glycomimétiques sélectionnés en tant que contrôle négatif (A) et pour la détection de la lectine PA-IL (B).

On notera également que le nombre de groupements galactoses sur le glycomimétique spécifique à PA-IL est important et que ces galactoses sont situés à l'extrémité de longs bras mobiles. Cette structure à géométrie « d'antenne » a pour objectif, comme nous l'avons présenté en introduction de cette partie, de réaliser une interaction multivalente (ou « effet cluster ») avec les sites de reconnaissance de la lectine de manière à obtenir une interaction bien plus forte que l'interaction avec des sucres naturels.

La lectine PA-IL marquée par le fluorophore Cy5 ($\lambda_{\text{abs}} = 645 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 660 \text{ nm}$) a été incubée en présence des glyconanoparticules magnétiques dans du PBS à 37°C en présence de CaCl_2 et de BSA 4%. Le rôle

de CaCl_2 est d'apporter des ions Ca^{2+} nécessaires pour stabiliser la liaison de coordination lors de la reconnaissance carbohydre-lectine. La BSA permet de minimiser l'adsorption non spécifique. Enfin les glyconanoparticules ont été lavées 3 fois par précipitation magnétique dans le tampon PBS-Tween pour éliminer l'excès de lectines. La détection de la lectine a été analysée par un scanner permettant de détecter les signaux de fluorescence du Cy3 et du Cy5 (Figure 42a) après dépôt et séchage des dispersions de glyconanoparticules magnétiques sur lame de verre. Ces résultats montrent qu'il est possible de détecter la lectine PA-IL de façon spécifique avec les glyconanoparticules magnétiques dans un milieu purifié. Finalement, les glyconanoparticules magnétiques ont été utilisées directement dans des extraits de lysats bactériens. Ces expériences ont été réalisées par Olivier Vidal et Lucie Ducrocq à l'UGSF de Lille (Figures 42b et 42c).

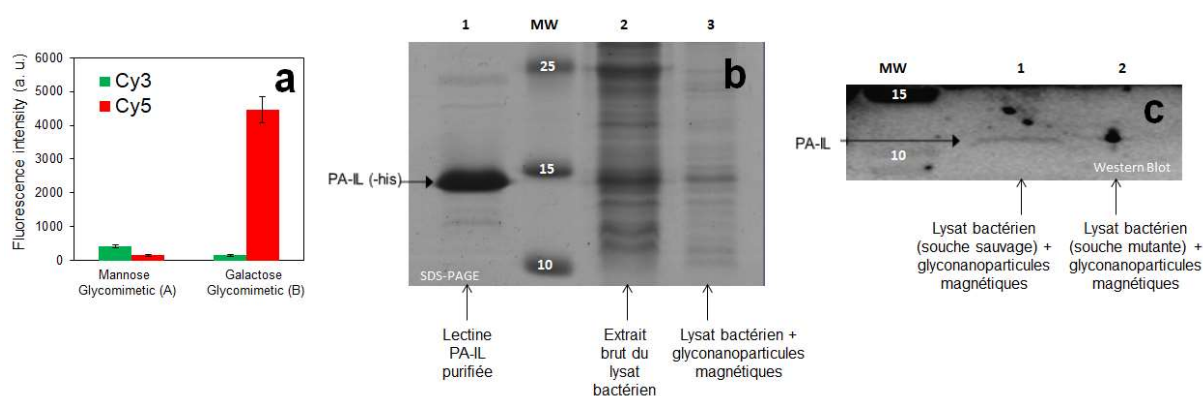


Figure 42. a) Détection de la fluorescence des glyconanoparticules magnétiques après détection de la lectine PA-IL en milieu purifié pour les longueurs d'onde d'émission du Cy3 (correspondant aux glycomimétiques A et B immobilisés, voir Figure 41) et du Cy5 (correspondant aux lectines détectées); b) Résultat d'un gel d'électrophorèse SDS-PAGE montrant l'extraction de PA-IL par les glyconanoparticules magnétiques à partir d'un lysat de la bactérie *Escherichia coli* surproduisant PA-IL; c) Résultat d'un test Western Blot montrant l'extraction de PA-IL par les glyconanoparticules magnétiques à partir d'un lysat de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* exprimant PA-IL en faible quantité.

Dans un premier temps, la lectine PA-IL a été produite en clonant le gène *lecA* (correspondant à la protéine PA-IL) de *Pseudomonas aeruginosa* sur un vecteur d'expression enzymatique introduit chez la bactérie *Escherichia coli* pour surproduire PA-IL (Figure 42b). La colonne 1 montre le résultat obtenu pour la lectine PA-IL purifiée obtenue par cette méthode. La masse molaire mesurée correspond à la masse molaire de la lectine PA-IL fusionnée à l'étiquette poly-histidine (His-tag) utilisée pour la purification. La colonne 2 correspond à l'extrait brut du lysat bactérien exprimant PA-IL pour lequel on voit la même bande apparaître. Enfin, sur la colonne 3, les glyconanoparticules magnétiques fonctionnalisés par le glycomimétique B de la Figure 41, ont été mélangées à l'extrait brut du lysat bactérien puis un aimant a été utilisé pour précipiter les nanoparticules, qui ont été lavées et concentrées à l'aide d'un tube à centrifuger incluant un seuil de coupure à 3 kDa. Enfin, les lectines ont été séparées des glyconanoparticules par chauffage dans un tampon dénaturant. L'analyse de la solution résultante (colonne 3 de la Figure 42b) montre que les glyconanoparticules magnétiques ont principalement réussi à isoler la lectine PA-IL parmi les autres protéines présentes dans l'extrait brut du lysat bactérien.

Dans un deuxième temps, les glyconanoparticules magnétiques ont été utilisées pour extraire directement PA-IL à partir d'un lysat de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (souche sauvage, colonne

1, Figure 42c). Dans ce cas, la proportion de PA-IL par rapport aux autres protéines présentes dans le milieu est extrêmement faible. Un lysat d'une souche mutante ne présentant pas PA-IL a été utilisé en tant que contrôle négatif (colonne 2 de la Figure 42c). Le mélange et l'isolation des nanoparticules et des protéines ont été réalisés selon le même protocole que celui décrit ci-dessus. Dans ce cas, un test Western Blot a été utilisé en utilisant un anticorps spécifiquement dirigé contre PA-IL, compte tenu de la très faible quantité de lectine présente dans les lysats. La présence de PA-IL est visible sur la colonne 1 tandis que la colonne 2 ne montre pas de protéine extraite pour cette masse molaire.

Ces expériences sont la preuve de concept que les glyconanoparticules magnétiques sont capables d'isoler une protéine, même minoritaire, dans un lysat bactérien. Elles pourraient donc être utilisées pour isoler n'importe quelle lectine, du moment que c'est une lectine soluble.

II.3.2. Nanoparticules magnétiques fonctionnalisées par des molécules électroactives pour la détection de plaquettes sanguines

Publications associées	A4, A8
Etudiant associé	Feixiong Chen (thèse 2014-2017)
Collaborations	Dr. M. Frenea-Robin, Dr. N. Haddour, Laboratoire Ampère, Ecully Dr. Y. Mérieux, Etablissement Français du Sang (EFS) Rhône-Alpes, Lyon Dr. N. Dempsey, Institut Néel, Grenoble

Il existe actuellement un besoin grandissant pour des tests cliniques fournissant un diagnostic rapide et fiable tout en restant simples à utiliser. Ce besoin se fait d'autant plus ressentir dans les services des hôpitaux où la rapidité du diagnostic est cruciale, comme par exemple les urgences, les unités de soins intensifs ou les salles d'opération. Dans ce contexte, des tests de type « point-of-care » (POC) se développent de plus en plus. Ces tests peuvent être réalisés directement « au pied du patient » sans transfert des prélèvements vers des laboratoires d'analyse centralisés. Ainsi, la durée nécessaire pour établir le diagnostic et le temps mis pour prendre les décisions thérapeutiques sont considérablement réduits. Actuellement, les POC sont utilisés pour détecter des biomarqueurs présents à forte concentration (quelques μM à quelques mM) dans les fluides biologiques (sang, urine, salive, etc). Cependant, la concentration de biomarqueurs à détecter est en général extrêmement faible (typiquement quelques ppb) et par ailleurs, il n'existe pas de méthode fiable permettant un multiplexage, c'est-à-dire l'analyse de plusieurs biomarqueurs simultanément.

Ces critères sont particulièrement importants dans le cas de la thrombopénie néonatale par allo-immunisation fœto-maternelle. Ce dysfonctionnement se produit lorsque la mère génère des anticorps contre les antigènes plaquettaires de son fœtus. La conséquence est la diminution du nombre de plaquettes du fœtus entraînant des troubles de la coagulation. Le taux de mortalité à la naissance est autour de 10%, et pour 25% des nouveau-nés, de nombreuses complications en résultent, notamment des hémorragies intracrâniennes qui ont pour conséquence des séquelles neurologiques ^[179]. Le traitement consiste en une transfusion de plaquettes. Cependant, une bonne connaissance des antigènes plaquettaires (antigènes HPA) du receveur et du donneur est indispensable pour éviter tout rejet. En particulier, l'identification des deux antigènes plaquettaires HPA-1a et HPA-5b permet un diagnostic fiable puisque 95% des thrombopénies rencontrées sont causées par des anticorps dirigés contre au moins un de ces deux antigènes. Les méthodes actuelles

sont basées sur un génotypage plaquettaire permettant de mettre en évidence les antigènes présents à la surface des plaquettes. Cependant, elles ne sont pas automatisées et nécessitent une expertise suffisante pour interpréter correctement les résultats ^[180].

C'est cette problématique qui m'intéresse depuis 2014 dans le cadre d'un projet en collaboration avec le laboratoire Ampère et l'Établissement Français du Sang (EFS) de Lyon. Notre objectif est de mettre au point un nouvel outil de diagnostic type POC facile à utiliser qui permettra une identification plaquettaire rapide, sur un prélèvement de sang de très faible volume, typiquement inférieur à 100 μL (en raison du volume sanguin total très faible chez le nourrisson). Pour cela, nous proposons d'utiliser une double séparation par magnétophorèse et diélectrophorèse grâce à l'emploi de nanoparticules magnétiques ou diélectriques doublement fonctionnalisées par des molécules détectables par un transducteur électrochimique (molécules électroactives) et par les anticorps dirigés contre les antigènes plaquettaires. Ceci permettrait ainsi de 1) séparer les plaquettes des autres composants sanguins grâce aux nanoparticules magnétiques et 2) séparer les plaquettes selon leur phénotype en utilisant des nanoparticules diélectriques aux propriétés distinctes (taille, composition). Les nanoparticules magnétiques seront fonctionnalisées par un anticorps dirigé contre un antigène présent sur toutes les plaquettes (par exemple Anti-CD32) tandis que les nanoparticules diélectriques seront fonctionnalisées par les anticorps Anti-HPA-1a et Anti-HPA-5b dirigés spécifiquement contre les antigènes HPA-1a et HPA-5b. La molécule électroactive servira de sonde pour la détection électrochimique et la quantification des antigènes. Cette méthode de transduction a été sélectionnée car elle possède une très bonne sensibilité et permet de minimiser le bruit de fond par rapport aux techniques de détection par fluorescence par exemple ^[181]. Elle permet également une détection multiplexée de plusieurs antigènes différents en utilisant différentes molécules électroactives possédant des propriétés distinctes. L'ensemble sera introduit dans un dispositif micro-fluidique muni de modules de séparation par magnétophorèse et par diélectrophorèse qui permettra d'isoler les structures « sandwiches » nanoparticules/plaquettes des autres composants du sang et des nanoparticules n'ayant rien capturé. La réalisation de ce dispositif sera effectuée au laboratoire Ampère. Pour l'instant, nous nous sommes limités à l'élaboration de nanoparticules magnétiques doublement fonctionnalisées dont la structure est résumée sur la Figure 43.

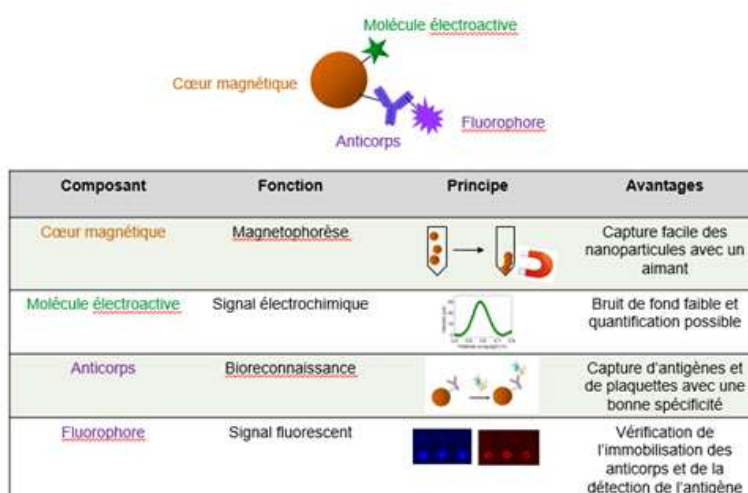


Figure 43. Structure des nanoparticules magnétiques doublement fonctionnalisées par des molécules électroactives et des anticorps spécifiques dirigés contre les antigènes plaquettaires, et rôle de chaque composant.

II.3.2.1. Double fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les nanoparticules magnétiques que nous utilisons sont initialement terminées par des groupements -COOH . Afin de pouvoir greffer simultanément les molécules électroactives et les anticorps, une première étape de fonctionnalisation est réalisée en vue d'obtenir également des groupements -NH_2 en surface (étape 1 de la Figure 44).

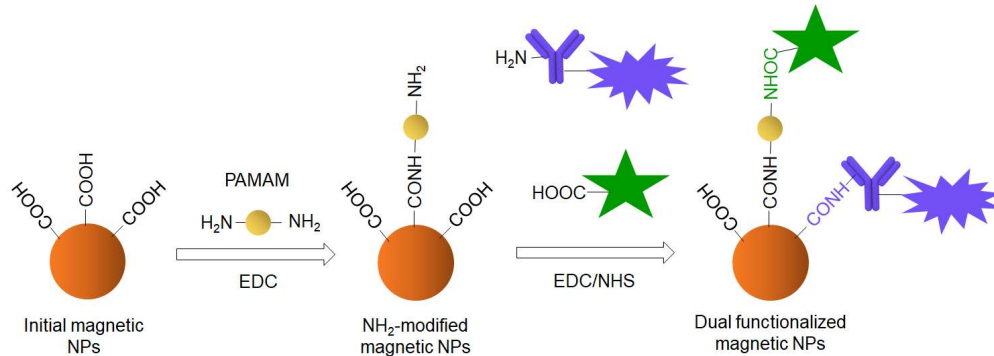


Figure 44. Protocole de double fonctionnalisation des nanoparticules par des molécules électroactives et des anticorps, via l'utilisation d'un ligand aminé dendrimère.

Pour cela, des ligands polyaminés de type diamine (EDA) ou dendrimères (PAMAM) ont été greffés sur les fonctions -COOH via la chimie des carbodiimides. Les ligands PAMAM, issus de générations croissantes, permettent d'augmenter significativement la densité de groupements -NH_2 en surface comme le montrent les mesures de potentiel zêta et le dosage colorimétrique au CBB des fonctions amines (Figure 45).

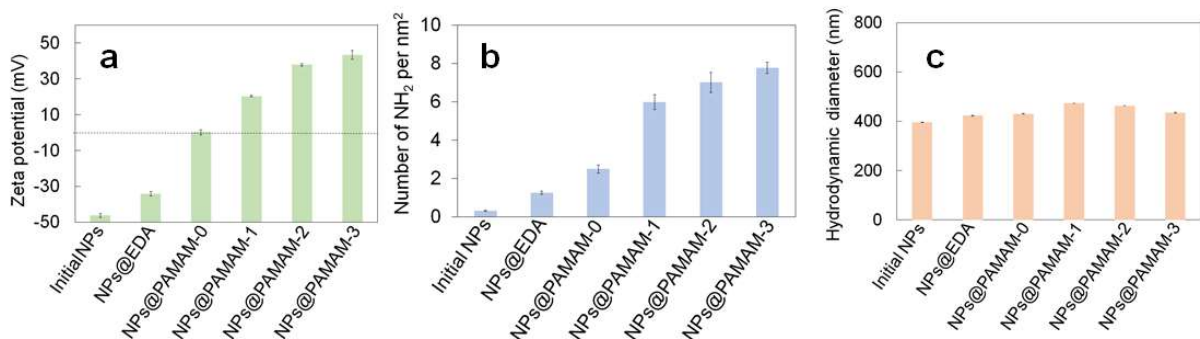


Figure 45. Influence de la génération de dendrimère PAMAM utilisée pour la fonctionnalisation des nanoparticules magnétiques : a) potentiel zêta, b) densité de fonctions amines (dosage colorimétrique au CBB), c) diamètre hydrodynamique des nanoparticules après greffage du PAMAM. EDA : éthylènediamine (cœur du dendrimère).

Par ailleurs, lors de cette étape de fonctionnalisation, aucune augmentation significative du diamètre hydrodynamique des nanoparticules n'a été observée (Figure 45c), le diamètre des dendrimères étant relativement faible (3,6 nm pour la génération 3), ce qui permet d'affirmer que les nanoparticules ne subissent pas d'agrégation. Les fonctions amines ainsi obtenues peuvent ensuite être utilisées pour greffer des molécules électroactives. Dans un premier temps, le ferrocène carboxylique acid (Fc) a été sélectionné comme sonde rédox modèle. La chimie des carbodiimides a également été utilisée pour greffer cette molécule sur les fonctions amines (étape 2 de la Figure 44). Les nanoparticules ainsi obtenues présentent un pic d'oxydation caractéristique de la présence de Fc à la surface (Figure 46a), uniquement lorsque le Fc a été préalablement activé. Ce résultat a été également confirmé par

spectroscopie infrarouge. De plus, le signal électrochimique obtenu pour les nanoparticules fonctionnalisées par les dendrimères PAMAM est nettement supérieur à celui obtenu lorsque l'EDA est utilisé. Néanmoins l'augmentation de la génération de PAMAM n'entraîne pas de hausse significative du signal électrochimique. Ceci peut être interprété par un espacement important des dendrimères et donc par conséquent des molécules de Fc, à la surface des nanoparticules, d'autant plus que la génération augmente. Cet espacement, supérieur à plusieurs dizaines de nanomètres, défavoriserait fortement le transfert d'électrons sur l'ensemble des molécules de Fc immobilisées [182].

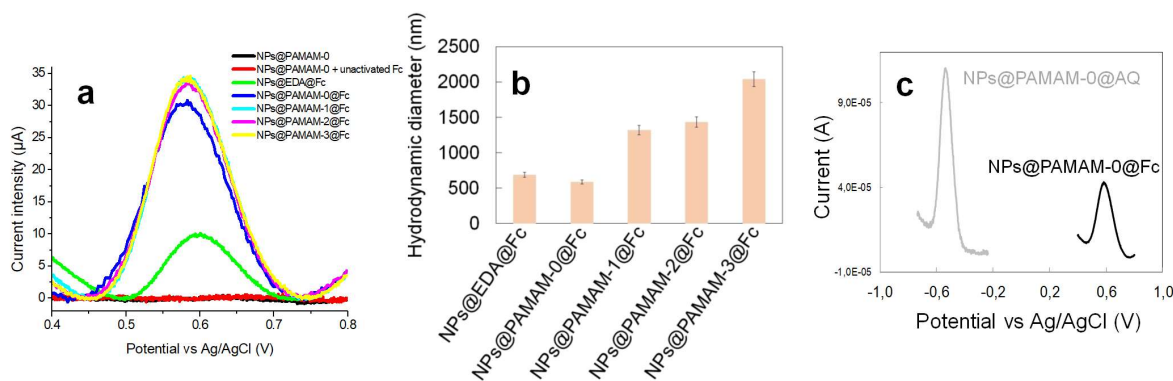


Figure 46. a) Signal électrochimique des nanoparticules aminées chimiquement modifiées par le Fc. Les pics d'oxydation ont été obtenus par voltampérométrie SWV (Square-Wave Voltammetry) pour un balayage de 0,4 à 0,8 V à une vitesse de 0,1 V/s. b) Diamètre hydrodynamique de ces nanoparticules mesuré à pH = 7.4 par diffusion dynamique de la lumière. c) Pics d'oxydation comparés pour des nanoparticules fonctionnalisées avec le ferrocene carboxylic acid (Fc) et l'antraquinone-2-carboxylic acid (AQ).

De plus, comme le montre la Figure 46b, les nanoparticules modifiées par le Fc présentent une agrégation importante à partir de la génération 1 de PAMAM. Ainsi, le dendrimère PAMAM-0 a été sélectionné par la suite. Enfin, une autre molécule électroactive, l'antraquinone-2-carboxylic acid (AQ) a également été greffée sur les nanoparticules modifiées par le ligand PAMAM-0 (Figure 46c). Le pic d'oxydation obtenu se situe dans ce cas à un potentiel de -0,51 V, ce qui est clairement différent du potentiel obtenu pour les nanoparticules modifiées Fc (+0,56 V). Cette nette distinction permet d'envisager ces nanoparticules électroactives pour la détection multiplexée de plusieurs antigènes plaquettaires. A partir de ces premiers résultats, la double fonctionnalisation des nanoparticules modifiées par le dendrimère PAMAM-0 a été réalisée en une seule étape, comme indiqué sur la Figure 44. L'anticorps Anti-CD32, permettant de capturer spécifiquement les plaquettes par rapport aux autres composants du sang a été utilisé. Afin de pouvoir repérer la présence de l'anticorps sur les nanoparticules, celui-ci a été marqué par le fluorophore FITC. Les mesures électrochimiques et de fluorescence montrent la présence de ces deux signaux uniquement sur les nanoparticules doublement fonctionnalisées et pas sur les contrôles négatifs correspondants (Figures 47a et 47b).

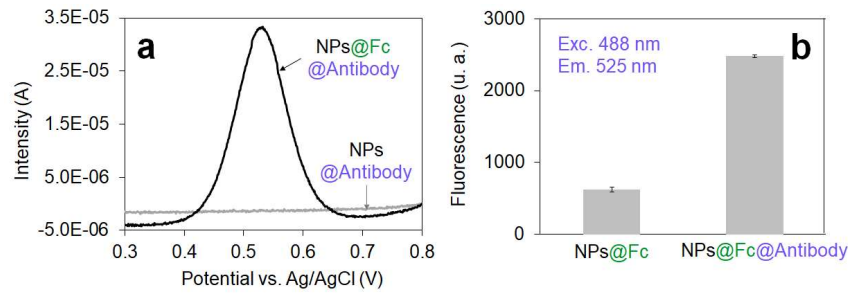


Figure 47. a) Signal électrochimique des nanoparticules doublement fonctionnalisées et uniquement fonctionnalisées par l'anticorps Anti-CD32 obtenu par voltampérométrie SWV, b) signal de fluorescence des nanoparticules doublement fonctionnalisées et uniquement fonctionnalisées par Fc obtenu à l'aide d'un scanner de fluorescence sous excitation à 488 nm et pour une détection à 525 nm (correspondant à l'absorption et l'émission de fluorescence de FITC utilisé pour marquer l'anticorps Anti-CD32).

II.3.2.2. Etude des propriétés électrochimiques des nanoparticules sous champ magnétique

Comme nous l'avons évoqué auparavant, le cœur magnétique des nanoparticules devrait permettre de faciliter la capture et l'isolation des plaquettes. Etant donné le mode de détection choisi (électrochimique), qui est très dépendant de la distance des molécules électroactives par rapport à la surface du transducteur, il est également souhaitable que l'électrode de travail du capteur électrochimique soit couplé à un aimant, de façon à favoriser la détection des nanoparticules. Pour cela, un dispositif préliminaire a été mis au point à partir de microélectrodes imprimées sur une puce en plastique (Figure 48).

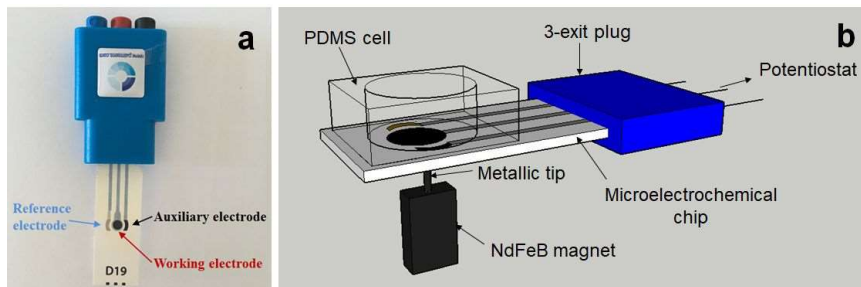


Figure 48. Photographie de la micropuce électrochimique (a) et montage expérimental pour les mesures électrochimiques sous attraction magnétique (b).

Un champ magnétique est créé par un aimant NdFeB et concentré sur l'électrode de travail grâce à une pointe métallique située à 200 μm de l'électrode. Elle permet de générer un champ magnétique de 0,36 T avec un gradient de 600 T m^{-1} au niveau de l'électrode ^[183]. Ce type de microsystème pourrait potentiellement être inclus dans un dispositif microfluidique miniaturisé. Les mesures électrochimiques à l'aide de ce montage montrent que l'intensité du pic d'oxydation peut être amplifiée d'un facteur 2 après attraction magnétique (Figure 49). Ceci peut être expliqué par une augmentation de la densité de molécules électroactives à la surface de l'électrode après attraction magnétique. Cependant, en concentrant les nanoparticules, on aurait pu s'attendre à une amplification plus importante du signal. Il est probable que l'organisation en filaments de nanoparticules agrégées sous l'effet du champ magnétique soit responsable de cet effet ^[184]. Selon la concentration des nanoparticules, l'orientation et l'intensité du champ magnétique, l'organisation en filaments peut être fortement modifiée et conduire à une oxydation facilitée ou au contraire rendue

plus difficile des sondes rédox. Cet effet devra être plus étudié de façon plus approfondie dans le futur, notamment en réalisant des mesures sous microscope.

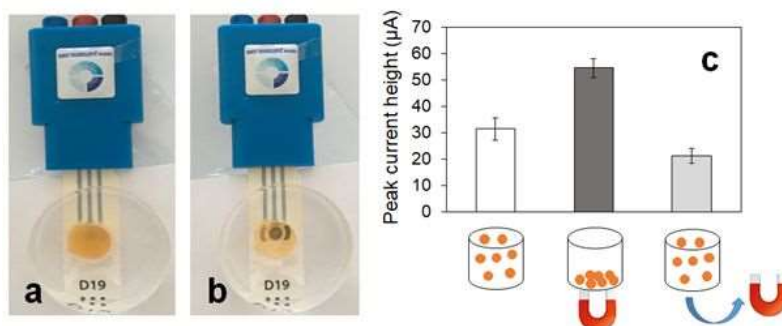


Figure 49. Photographie de la micropuce électrochimique avant (a) et après (b) attraction des nanoparticules NPs@PAMAM@Fc sur l'électrode de travail. Intensité du pic d'oxydation extraite des courbes SWV (c) pour les NPs@PAMAM@Fc dispersées dans la cellule électrochimique (en blanc), après attraction magnétique des nanoparticules sur l'électrode de travail (en gris foncé) et après retrait de l'aimant (en gris clair).

On peut noter également que l'attraction magnétique conduit à une diminution du seuil de détection du signal électrochimique ainsi qu'à une modification du mécanisme de la réaction rédox ^[183].

II.3.2.3. Capture et détection d'antigènes plaquettaires

L'étude de la bioactivité des nanoparticules doublement fonctionnalisées a été réalisée en deux temps. Tout d'abord, il s'agissait de vérifier que l'anticorps Anti-CD32 n'avait pas perdu sa fonction de reconnaissance des antigènes après immobilisation sur les nanoparticules, et que cette reconnaissance était spécifique. Pour cela, les nanoparticules ont été également doublement fonctionnalisées par l'anticorps Anti-CD45 (non spécifique des antigènes plaquettaires) et mises en présence de l'antigène CD32 purifié et marqué au fluorophore AlexaF647 pour pouvoir le détecter. La double détection des signaux de fluorescence de l'anticorps Anti-CD32 marqué et de l'antigène CD32 marqué montre bien que la bioactivité de l'anticorps est conservée sur les nanoparticules (Figure 50a). De plus l'adsorption non spécifique de l'antigène sur les nanoparticules uniquement fonctionnalisées par Fc est négligeable comme le montrent les faibles niveaux de fluorescence obtenus.

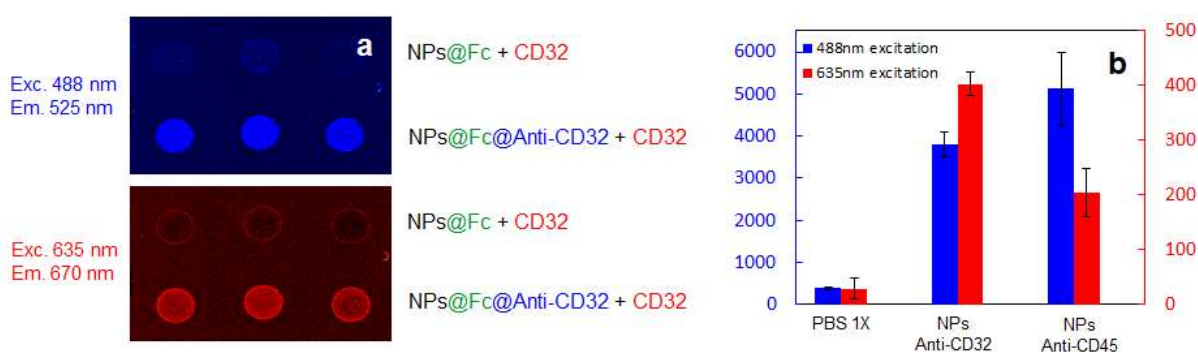


Figure 50. a) Images observées au scanner de fluorescence des nanoparticules doublement fonctionnalisées avec l'anticorps Anti-CD32 comparées aux nanoparticules uniquement fonctionnalisées par Fc en présence de l'antigène CD32. b) Intensités de fluorescence obtenues pour la détection de l'antigène CD32 en présence de nanoparticules fonctionnalisées par l'anticorps Anti-CD32 et l'anticorps Anti-CD45. La détection est réalisée selon 2 canaux : excitation 488 nm et détection à 525 nm correspondant au FITC marquant l'anticorps, excitation à 635 nm et détection à 670 nm correspondant à AlexaF647 marquant l'antigène.

Enfin, dans le cas de nanoparticules fonctionnalisées par l'anticorps Anti-CD45, le niveau d'adsorption non spécifique est plus important (Figure 50b) mais reste nettement inférieur à la biorecognition par l'anticorps spécifique. Dans un deuxième temps, la capture des plaquettes a été réalisée à l'aide d'un réseau de microaimants élaboré à l'Institut Néel (Grenoble). L'imagerie magnéto-optique révèle la présence de bandes d'aimantation opposées de 100 μm de large (Figure 51a). Le gradient de champ est maximal à l'interface entre les bandes ^[185]. Les plaquettes et les nanoparticules doublement fonctionnalisées ont été mises en présence des microaimants. Afin de pouvoir les observer par microscopie de fluorescence, les plaquettes ont été préalablement marquées par le fluorophore PE. Sans les nanoparticules, les plaquettes sont distribuées aléatoirement sur les microaimants (Figure 51c). En présence des nanoparticules, les plaquettes se concentrent sur les interfaces, ce qui prouve bien qu'elles ont été capturées par les nanoparticules doublement fonctionnalisées (Figure 51d). Ce résultat démontre la capacité des nanoparticules à isoler les plaquettes par magnétophorèse grâce aux microaimants.

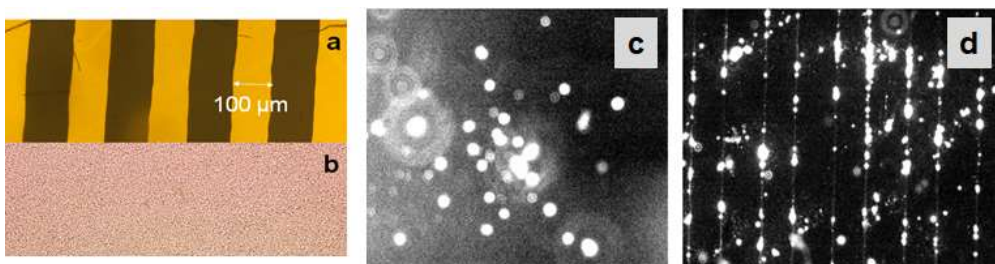


Figure 51. a) et b) Images au microscope optique (grandissement x20) du réseau de microaimants en présence d'un film magnéto-optique révélant les zones d'aimantation opposées sous lumière polarisée (a) et sous lumière normale (b). c) et d) Images au microscope de fluorescence (excitation : 525 nm) en présence des microaimants des plaquettes seules marquées à la PE (c) et des nanoparticules doublement fonctionnalisées en présence des plaquettes marquées à la PE (d).

II.3.3. Conclusion sur l'axe 3

Dans cette partie, nous avons montré deux exemples d'utilisation de nanoparticules magnétiques pour la capture de cibles biologiques et le diagnostic. A l'aide d'une chimie de surface adaptée, il est possible de multifonctionnaliser ces nanoparticules à l'aide de différentes sondes biologiques (oligonucléotides, anticorps, carbohydrates) et de différentes sondes de détection (fluorescentes, électroactives). Un des avantages au cours du processus de fonctionnalisation est que l'excès de sondes peut facilement être éliminé par précipitation magnétique, ce qui est un mode de lavage beaucoup plus « doux » que la centrifugation. Par conséquent, la structure des nanoparticules (taille, dispersion, surface) est mieux préservée.

III. Conclusion et perspectives

Après une thèse et deux post-doctorats très orientés sur la synthèse de nanomatériaux, mes travaux de recherche ont évolué vers la fonctionnalisation de surface de nanoparticules commerciales ou synthétisées à l'INL ou dans le cadre de collaborations. Cette évolution est d'une part liée à mon recrutement dans une équipe de recherche spécialiste de la chimie de surface. D'autre part, agir sur les propriétés de surface des nanoparticules est fondamental pour pouvoir leur apporter de nouvelles propriétés et aller vers des applications. Comme nous l'avons vu dans ce mémoire, la fonctionnalisation de la surface des nanoparticules peut prendre divers aspects : coquille composée d'un matériau différent du cœur, îlots, couche organique, polymère ou biomolécules. Cette coquille peut apporter de nouvelles propriétés intrinsèques (plasmonique, magnétique), servir de matrice pour des dopants tels que des fluorophores ou de plate-forme d'ancrage pour des sondes biologiques telles que de l'ADN ou des anticorps. Ce travail de fonctionnalisation nécessite bien entendu de s'appuyer sur des techniques de caractérisation avancées telles que la microscopie électronique, les spectroscopies d'analyse de surface, ainsi que sur de nombreuses collaborations pour pouvoir étudier les propriétés spécifiques de ces nanoparticules (optique non linéaire, électrochimie) et envisager des applications multiples (culture cellulaire, bactérienne, extraction de plaquettes).

Le caractère hybride et multifonctionnel des nanoparticules est un concept qui a fait ses preuves puisqu'à l'heure actuelle, on trouve de nombreux exemples sur le marché utilisés dans le domaine médical. Parmi elles, on peut citer le système AuroLase[®] commercialisé par la société Nanospectra (www.nanospectra.com/) composé de nanoparticules de silice recouvertes d'une coquille d'or qui permet de réaliser l'ablation activée par la lumière de tissus cancéreux, ou les MagPlex[®] de Luminex (www.luminexcorp.com), billes magnétiques dopées avec plusieurs fluorophores distincts, qui permettent de capturer des cibles dans un milieu complexe et de les détecter sur puce.

Ces avancées fructueuses sont donc extrêmement motivantes pour continuer la recherche dans ce domaine. Au cours des prochaines années, je compte poursuivre le travail pluridisciplinaire présenté dans ce mémoire en me concentrant sur les projets suivants, qui promettent de nombreuses perspectives et applications intéressantes, en allant du court terme au plus long terme.

Projets 1 : Autour des nanoparticules cœur-coquille actives en optique non linéaire

Dans ce mémoire, nous avons présenté deux types de nanoparticules cœur-coquille : des nanoparticules métal/silice permettant d'exalter la fluorescence d'émetteurs situés à proximité et des nanoparticules actives en optique non linéaire avec une coquille d'or pour pouvoir réaliser l'imagerie et le traitement par photothermie de cellules cancéreuses. Les nanoparticules métal/silice ont déjà fait l'objet de nombreuses études dans la littérature où elles trouvent principalement un intérêt dans le domaine des capteurs chimiques^[95] et biologiques^[94], avec la possibilité par exemple de détecter une molécule cible en jouant sur l'exaltation de la fluorescence (MEF) et l'inhibition (FRET) en fonction de la distance par rapport au cœur métallique. Dans le domaine de l'imagerie médicale, les nanoparticules fluorescentes ont désormais un usage limité sauf si elles sont capables de produire un signal intense et décalé vers le rouge, ce qui permet de les observer malgré l'auto-fluorescence des tissus biologiques. De plus, le signal de fluorescence produit par différentes sondes n'est très souvent pas assez spécifique, ce qui ne permet pas de détection multiplexée. Il apparaît donc intéressant de coupler les propriétés de fluorescence à d'autres propriétés physiques pour pouvoir réaliser une détection multimodale.

A court terme, les nanoparticules actives en optique non linéaire dont il est question dans ce mémoire pourraient ainsi être couplées à des fluorophores afin d'obtenir une double détection par microscopie multiphotonique pour les propriétés de SHG et par microscopie de fluorescence, qui est plus couramment utilisée pour l'analyse médicale. Un tel couplage permettrait une meilleure localisation des nanoparticules et l'observation d'images complémentaires afin de pouvoir affiner le diagnostic [186]. Récemment, nous avons commencé à développer des nanoparticules actives en optique non linéaire avec des fluorophores organiques greffés en surface. Ainsi les nanoparticules de LiNbO_3 présentées dans la section II.2.3.2. ont été modifiées chimiquement par un aminosilane (APTES) pour pouvoir greffer un fluorophore terminé NHS-ester (AlexaF594). Les résultats (Figures 52a, 52b et 52c) montrent une bonne colocalisation des signaux de fluorescence (dû à AlexaF594) et de SHG (dû à LiNbO_3). La concentration en AlexaF594 influe sur le pourcentage de colocalisation : 90% des signaux de fluorescence et de SHG sont colocalisés pour la concentration la plus faible, tandis que pour des concentrations 10 et 100 fois plus importante, ce pourcentage chute à 46% et 21%, respectivement. Ceci est probablement dû à la présence de molécules « libres » en excès d'AlexaF594. De plus, nous avons montré qu'une concentration faible en fluorophore permettait de maximiser le signal de fluorescence émis (Figures 52d et 52e), une concentration trop importante conduisant probablement à la formation d'agrégats H [187], comme le montre l'épaule observée à 550 nm sur le spectre d'absorption (Figure 52f).

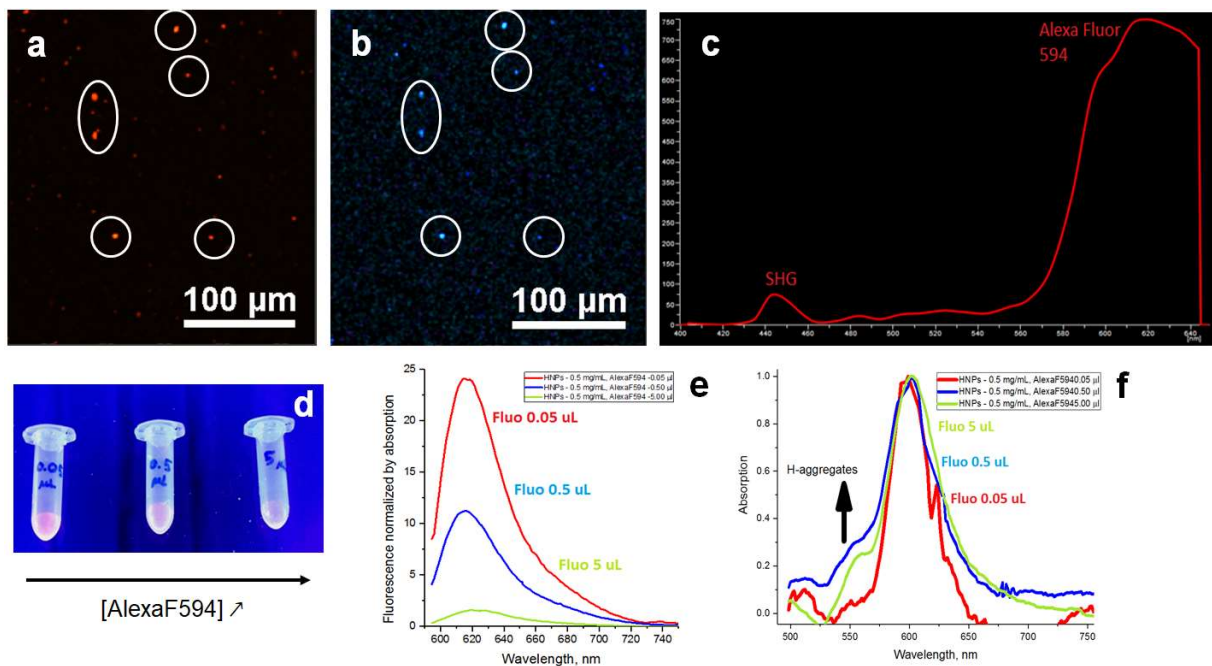


Figure 52. Imagerie multiphotonique des nanoparticules LiNbO_3 modifiées par AlexaF594 dispersées dans un gel d'agarose sous excitation à 880 nm : fluorescence à 2 photons de l'AlexaF594 détectée à 617 nm (a), SHG du LiNbO_3 détectée à 440 nm (b) et spectre d'émission correspondant (c). Echantillons préparés avec 3 concentrations différentes d'AlexaF594 éclairés sous lampe UV (d), spectres d'émission de fluorescence (non normalisés) correspondants (e) et spectre d'absorption (normalisés) correspondants (f).

Ces nanoparticules LiNbO_3 @fluorophore offrent également des perspectives pour des études plus fondamentales. Il serait ainsi intéressant de voir si l'émission du fluorophore peut être excitée via l'émission de SHG. Des expériences complémentaires pour étudier le mécanisme d'émission, telles que la mesure de la durée de vie de fluorescence, seront nécessaires pour répondre à cette question. Enfin, nos collaborateurs d'Annecy qui synthétisent les nanoparticules LiNbO_3 ont récemment réussi à les

doper avec des ions terres rares Er^{3+} , ce qui permet également de coupler des propriétés de photoluminescence aux propriétés optiques non linéaires. D'autres éléments terres rares pourront aussi être utilisés afin de moduler les propriétés de photoluminescence.

Concernant les nanoparticules cœur-coquille, l'obtention de nanoparticules actives en optique non linéaire recouvertes d'une coquille métallique sera poursuivie sur les prochaines années. Leur synthèse était une des tâches du projet Interreg NANOFIMT (2015-2018) et fait également l'objet du projet ANR RACINE, démarré en avril 2018. Bien que les applications visées dans les deux projets soient différentes (théranostique pour NANOFIMT et optoélectronique pour RACINE), le travail d'élaboration des nanoparticules avec une coquille d'or contrôlée demeure identique et sera mené dans le cadre de la thèse de Rachael Taitt, démarrée en octobre 2017. En particulier, pour le projet RACINE, l'objectif sera d'utiliser ces nanoparticules en tant que composants actifs dans des dispositifs « tout optique ». A l'aide de pinces optiques, la position et le déplacement de ces nanoparticules pourra être contrôlé. Ce projet en collaboration avec l'équipe de Pierre-François Brevet, de l'Institut Lumière Matière de Lyon, permet également d'avoir accès à de nombreuses techniques avancées de caractérisation optique non linéaire et à une expertise en modélisation de telles structures. Le paramètre critique qui devra être finement contrôlé est l'épaisseur de la coquille métallique afin de pouvoir obtenir des propriétés plasmoniques ajustables sur des nanoparticules uniques. Une collaboration a également démarré avec Jaona Randrianalisoa, de l'Université de Reims, qui a mis au point une méthode permettant de modéliser le comportement collectif de coquilles plasmoniques ^[188].

Les nanoparticules $\text{LiNbO}_3@Au$ ont été pour l'instant envisagées dans le cadre de l'imagerie et de la thérapie du cancer. Néanmoins, à plus long terme, leur utilisation pourrait être étendue à d'autres applications, comme la lutte antibactérienne. Sachant que l'antibiorésistance cause le décès de 700 000 personnes par an dans le monde et que ce nombre devrait atteindre 10 millions en 2050 ^[189], il y a urgence pour trouver de nouvelles stratégies thérapeutiques bactéricides. Dans cet objectif, j'ai soumis à l'ANR et à la Région fin 2018 un projet (NEPTUNE) portant sur l'utilisation de ces nanoparticules pour la thérapie photo-activée de bactéries rencontrées dans les infections respiratoires. En effet, l'épithélium respiratoire humain constitue la première ligne de défense de l'organisme contre les pathogènes inhalés. Pour cela, je compte travailler en étroite collaboration avec l'entreprise Epithelix (www.epithelix.com/) située à Archamps (Haute-Savoie), qui développe des épithéliums reconstitués *in vitro* à partir de cellules primaires humaines issues des voies aériennes ^[190] infectés par les bactéries rencontrées le plus couramment dans les infections respiratoires (*Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*). La thérapie photothermique pouvant entraîner des dommages collatéraux sur les tissus sains, les nanoparticules seront fonctionnalisées chimiquement pour cibler spécifiquement les bactéries d'intérêt. La sélectivité des nanoparticules pour les bactéries plutôt que pour les tissus sains sera assurée par des interactions électrostatiques. Etant donné que le microenvironnement dans lequel l'infection bactérienne se produit est généralement acide, des molécules sensibles au pH, telles que le chitosan, seront déposées sur la surface des nanoparticules. Chaque type bactérien sera ciblé spécifiquement grâce à l'immobilisation de surface de molécules comme l'ubiquidine ^[191] ou la phosphatidylsérine ^[192]. La microscopie multiphotonique sera utilisée pour imager les bactéries décorées par les nanoparticules. Comme indiqué plus haut, avec la possibilité de doper LiNbO_3 avec divers ions terres rares photoluminescents, il devrait être possible de réaliser la détection multiplexée de différents types de bactéries.

Les propriétés photothermiques de la coquille d'or devront être également analysées en détail. Une étude préliminaire réalisée à l'aide d'une caméra infrarouge montre que les nanoparticules $\text{LiNbO}_3\text{@Au}$ répondent instantanément à l'irradiation par un laser continu à 808 nm par une élévation de température bien visible sur les cartographies thermiques (Figure 53). De plus, elles semblent être au moins aussi efficaces que les nanobâtonnets d'or qui sont des nanostructures plasmoniques de référence dans ce domaine ^[139].

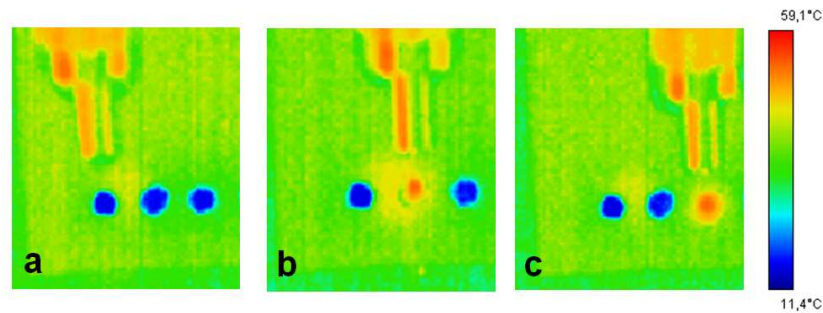


Figure 53. Cartographie thermique de 3 gouttes de 2 μL déposées sur une lame de verre microstructurée sous irradiation à 808 nm (laser continu) : irradiation d'une goutte d'eau (a), irradiation d'une dispersion de nanobâtonnets d'or dont la bande plasmon se situe à 800 nm (b) et irradiation d'une dispersion de nanoparticules $\text{LiNbO}_3\text{@Au}$ avec une bande plasmon dans le proche infrarouge (c).

Pour étudier l'élévation de température locale, les nanoparticules LiNbO_3 dopées terres rares peuvent s'avérer intéressantes. Nous proposons d'utiliser les signaux de photoluminescence à 520 nm et 560 nm des ions Er^{3+} qui sont sensibles à la température ^[193]. Ainsi les nanoparticules joueront également le rôle de nanothermomètres permettant de mesurer l'effet photothermique. D'autres pistes peuvent également être envisagées, comme par exemple le greffage sur les nanoparticules de complexes fluorophores-protéines pouvant jouer le rôle de nanothermomètres avec une sensibilité inférieure à $10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ ^[194].

Projets 2 : Autour des nanoparticules magnétiques multi-fonctionnalisées

Les travaux présentés dans l'Axe 3 de ce mémoire ont montré qu'à partir de nanoparticules magnétiques issues du commerce, il était possible d'obtenir différentes fonctions physiques, chimiques et biologiques sur les nanoparticules à partir d'une fonctionnalisation adaptée. Notamment, les glyconanoparticules magnétiques permettent de capturer et d'isoler des bactéries dans un milieu complexe. Pour rejoindre les perspectives évoquées ci-dessus, il pourrait être envisagé à court terme de coupler ces nanoparticules à des nanostructures d'or (coquille, nanobâtonnets) afin d'ajouter un effet photothermique à la capture ciblée. Ceci pourrait permettre par exemple de décontaminer sélectivement un milieu en capturant et en éliminant un certain type bactérien en particulier.

Concernant les nanoparticules magnétiques fonctionnalisées par des molécules électroactives (section II.3.2), comme nous l'avons évoqué, elles seront destinées à être incluses dans un système microfluidique contenant des modules de séparation par magnétophorèse et par diélectrophorèse. Ce microsystème permettra d'aller capturer les plaquettes directement dans le sang des patients et de séparer les nanostructures « sandwiches » plaquettes/nanoparticules des autres constituants du sang et des nanoparticules n'ayant rien capturé. Un stagiaire Erasmus travaillera sur cette partie du projet courant 2019. Afin de réaliser un dispositif totalement intégrable dans un test type POC, il faudra

également travailler sur la miniaturisation de la cellule électrochimique. Ce travail sera réalisé en collaboration avec le laboratoire Ampère.

L'obtention de résultats probants sur les plaquettes pourrait amener à plus long terme à généraliser l'utilisation de ces nanoparticules pour tous types de biomarqueurs afin de constituer une alternative aux tests ELISA. Bien que les tests ELISA assistés par des particules magnétiques soient déjà développés depuis de nombreuses années ^[195], la détection électrochimique est mise à profit pour mettre en évidence la réaction enzymatique permettant d'identifier l'interaction antigène/anticorps ^[196,197] mais n'est pas utilisée directement pour quantifier les nanoparticules. Avec des nanoparticules intrinsèquement électroactives, la détection de l'évènement de biorecognition peut se faire directement et le nombre d'électrons échangés permet d'avoir une quantification directe. De plus, l'utilisation de molécules électroactives aux propriétés électrochimiques bien distinctes permettrait de détecter simultanément plusieurs cibles biologiques, ce qui comme nous l'avons déjà vu, présente un grand intérêt pour le phénotypage plaquettaire mais également pour la détection simultanée de plusieurs biomarqueurs du cancer, ce qui est une des clés pour un dépistage précoce ^[198].

D'un point de vue plus fondamental, l'ingénierie moléculaire permet aussi de développer des sondes rédox à façon pour obtenir des molécules électroactives aux propriétés ajustables. Ainsi des complexes de ruthénium synthétisés avec différents ligands couvrent une large gamme de potentiels d'oxydation ^[199] et permettent éventuellement d'obtenir des composés électroactifs photoactivables ^[200]. Ces synthèses, démarrées pendant la thèse de Feixiong Chen (2014-2017) pourront être poursuivies à moyen terme. On peut ainsi potentiellement avoir un nombre infini de sondes, ce qui présente un intérêt pour la détection multiplexée et également pour utiliser une stimulation lumineuse.

Enfin, il reste à comprendre l'effet du champ magnétique sur la détection électrochimique. En effet, lorsqu'elles sont aimantées, les nanoparticules magnétiques forment des structures en chaîne (ou « filaments ») comme sur la Figure 54, qui peuvent être orientées parallèlement ou perpendiculairement à la surface. Les différentes orientations peuvent conduire à différents procédés d'oxydation à cause de l'encombrement stérique généré par les agrégats de nanoparticules et de la distance des sondes rédox par rapport à la surface de l'électrode. Il sera donc intéressant d'étudier la réponse électrochimique du système sous microscope et en présence d'un champ magnétique pour faire le lien entre orientation des filaments et signal mesuré.

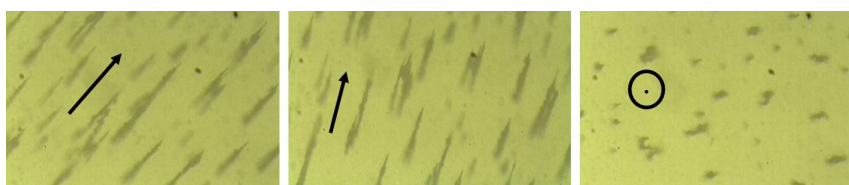


Figure 54. Effet de l'orientation du champ magnétique sur l'organisation en filaments des nanoparticules magnétiques.

Projets 3 : Autour des nanoparticules hybrides multi-matériaux et multi-fonctionnalisées

La combinaison de différents matériaux et/ou molécules sur la surface d'une nanoparticule est d'un grand intérêt pour le domaine de la catalyse ^[201]. Notamment, l'immobilisation de nanocatalyseurs d'or sur un matériau nanostructuré permet d'augmenter leur efficacité, en évitant leur agrégation et

en améliorant leur stabilité lorsqu'ils sont encapsulés dans une matrice poreuse ou entourés de ligands organiques. Les supports nanostructurés du type « oxydes » sont particulièrement intéressants pour l'oxydation de CO grâce à l'adsorption de dioxygène favorisée sur les sites actifs de l'oxyde (lacunes en oxygène) à proximité de nanocatalyseurs d'or par exemple ^[202]. Dans le domaine biomédical, ces nanostructures hybrides peuvent être utilisées en tant que catalyseurs biologiques pour mimer le comportement des enzymes, on parle alors de « nanozymes » ^[203]. Les nanozymes peuvent être utilisés pour la découverte de prodrogues, c'est-à-dire des médicaments administrés sous leur forme inactive, qui acquièrent une activité thérapeutique lorsqu'ils sont métabolisés *in vivo*. Le but de ces prodrogues est d'améliorer la biodisponibilité et la sélectivité du médicament. Dans ce cadre, les nanozymes permettent d'évaluer *in vitro* le potentiel de molécules en tant que prodrogues. Un autre intérêt des nanozymes est de pouvoir être utilisés en tant que biocapteurs ultra-sensibles (détection jusqu'à 0,1 ppm en concentration de molécule cible) et ultra-rapides (en quelques minutes) en les fonctionnalisant par des aptamères ^[204]. Avec les aptamères à leur surface, la réaction catalytique est bloquée sur les nanozymes (Figure 55).

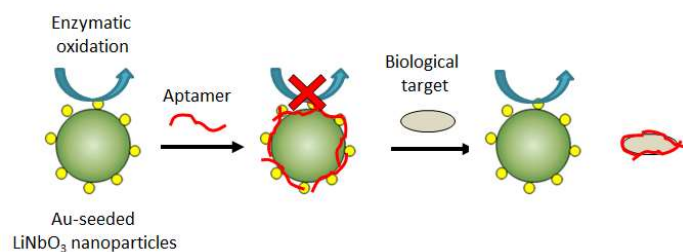


Figure 55. Principe de la détection d'une cible biologique par un nanozyme fonctionnalisé par des aptamères.

Lorsque la molécule cible est injectée, les aptamères quittent la surface des nanozymes pour complexer la molécule cible avec qui ils ont une affinité plus grande, la réaction catalytique devient de nouveau possible, ce qui permet de réaliser la détection. Cette approche peut être généralisée à tout type de cible biologique à condition de sélectionner l'aptamère le plus adapté. En collaboration avec Vipul Bansal, du Royal Melbourne Institute of Technology (Australie), nous envisageons d'utiliser les nanoparticules LiNbO₃ recouvertes de germes d'or en tant que nanozymes. En effet, dans le cadre de la thèse de Rachael Taitt, nous avons démontré qu'il était possible de contrôler la densité surfacique de germes sur les nanoparticules LiNbO₃. Plusieurs échantillons avec différentes densités surfaciques seront prochainement envoyés à notre collaborateur australien pour comparer leurs activités catalytiques. Un sujet de thèse commun en co-tutelle va être déposé en 2019. Un autre projet de recherche envisagé est de tester également les propriétés de nanozyme des nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer multifonctionnalisées. En effet, l'attraction magnétique des nanoparticules présente un intérêt pour accélérer la capture des cibles biologiques. De plus, elles peuvent facilement être détectées à l'aide d'un microscope optique en champ sombre pour évaluer la quantité de cibles biologiques capturées ^[205]. Dans notre cas, la présence de dendrimères aminés à la surface des nanoparticules magnétiques permet une chimie de surface riche, avec notamment la possibilité d'immobiliser conjointement des germes d'or et des aptamères.

Bibliographie

- [1] M. Dahan, in *Nanosciences et Nanotechnologies. Evolution Ou Révolution?* (Eds.: J.M. Lourtioz, M. Lahmani, C. Dupas-Haerbelin, P. Hesto), Belin, **2014**, pp. 215–223.
- [2] M. Lattuada, T. A. Hatton, *Nano Today* **2011**, *6*, 286.
- [3] K. Chatterjee, S. Sarkar, K. J. Rao, S. Paria, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, *209*, 8.
- [4] R. Purbia, S. Paria, *Nanoscale* **2015**, *7*, 19789.
- [5] A. M. El-Toni, M. A. Habila, J. Puzon Labis, Z. A. Alothman, M. Alosan, A. A. Alzatahry, F. Zhang, *Nanoscale* **2016**, *8*, 2510.
- [6] R. Bardhan, S. Mukherjee, N. A. Mirin, S. D. Levit, P. Nordlander, N. J. Halas, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 7378.
- [7] L. Y. Wu, B. M. Ross, S. Hong, L. P. Lee, *Small* **2010**, *6*, 503.
- [8] A. Espinosa, M. Bugnet, G. Radtke, S. Neveu, G. A. Botton, C. Wilhelm, A. Abou-Hassan, *Nanoscale* **2015**, *7*, 18872.
- [9] L. M. Liz-Marzan, M. Giersig, P. Mulvaney, *Langmuir* **1996**, *12*, 4329.
- [10] Y. Deng, C. Wang, J. Hu, W. Yang, S. Fu, *Coll. Surf. A* **2005**, *262*, 87.
- [11] J. Cui, B. Sun, T. Lin, Y. Feng, S. Jia, *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *117*, 673.
- [12] W. Song, W. Di, W. Qin, *Dalt. Trans.* **2016**, *45*, 7443.
- [13] N. Liu, B. S. Prall, V. I. Klimov, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15362.
- [14] F. Zhang, G. B. Braun, Y. Shi, Y. Zhang, X. Sun, N. O. Reich, D. Zhao, G. Stucky, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2850.
- [15] L. F. de Oliveira, K. Bouchmella, K. de A. Gonçalves, J. Bettini, J. Kobarg, M. B. Cardoso, *Langmuir* **2016**, *32*, 3217.
- [16] L. R. Hirsch, J. B. Jackson, A. Lee, N. J. Halas, J. L. West, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 2377.
- [17] L. R. Hirsch, R. J. Stafford, J. A. Bankson, S. R. Sershen, B. Rivera, R. E. Price, J. D. Hazle, N. J. Halas, J. L. West, *P. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 13549.
- [18] X. Hou, X. Wang, R. Liu, H. Zhang, X. Liu, Y. Zhang, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 18844.
- [19] Y. Liu, P. Wu, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 5832.
- [20] J. Song, B. Duan, C. Wang, J. Zhou, L. Pu, Z. Fang, P. Wang, T. T. Lim, H. Duan, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6838.
- [21] L. Wu, Z. Wang, S. Zong, Z. Huang, P. Zhang, Y. Cui, *Biosens. Bioelectron.* **2012**, *38*, 94.
- [22] G. L. Drisko, C. Sanchez, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 5097.
- [23] Y. Wang, Q. Zhao, N. Han, L. Bai, J. Li, J. Liu, E. Che, L. Hu, Q. Zhang, T. Jiang, S. Wang, *Nanomed-Nanotechnol.* **2015**, *11*, 313.
- [24] M. A. Macchione, C. Biglione, M. Strumia, *Polymers.* **2018**, *10*, 527.
- [25] K. S. Soni, S. S. Desale, T. K. Bronich, *J. Control. Release* **2016**, *240*, 109.
- [26] J. Shi, Y. Jiang, X. Wang, H. Wu, D. Yang, F. Pan, Y. Su, Z. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 5192.
- [27] L.-T.-C. Tran, S. Lesieur, V. Faivre, *Expert Opin. Drug Deliv.* **2014**, *11*, 1061.
- [28] S. Sadjadi, in *Organic Nanoreactors*, Elsevier, **2016**, pp. 159–201.
- [29] T. A. Taton, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *Science.* **2000**, *289*, 1757.
- [30] X. Gao, Y. Cui, R. M. Levenson, L. W. K. Chung, S. Nie, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 969.

- [31] Y. Zhao, X. Yang, H. Li, Y. Luo, R. Yu, L. Zhang, Y. Yang, Q. Song, *Chem. Commun.* **2015**, 51, 16908.
- [32] A. Kunzmann, B. Andersson, T. Thurnherr, H. Krug, A. Scheynius, B. Fadeel, *Biochim. Biophys. Acta* **2011**, 1810, 361.
- [33] T. Isojima, M. Lattuada, J. B. Vander Sande, T. A. Hatton, *ACS Nano* **2008**, 2, 1799.
- [34] F. Assa, H. Jafarizadeh-Malmiri, H. Ajamein, H. Vaghari, N. Anarjan, O. Ahmadi, A. Berenjian, *Crit. Rev. Biotechnol.* **2017**, 37, 1185389.
- [35] A. Soleimani, F. Mart, P. J. Foster, T. J. Scholl, E. R. Gillies, *J. Mater. Chem. B* **2013**, 1, 1027.
- [36] J. Croissant, A. Chaix, O. Mongin, M. Wang, S. Clément, L. Raehm, J. Durand, V. Hugues, M. Blanchard-Desce, M. Maynadier, A. Gallud, M. Gary-Bobo, M. Garcia, J. Lu, F. Tamanoi, D. P. Ferris, D. Tarn, J. I. Zink, *Small* **2014**, 10, 1752.
- [37] K. J. Chen, E. Y. Chaung, S. P. Wey, K. J. Lin, F. Cheng, C. C. Lin, H. L. Liu, H. W. Tseng, C. P. Liu, M. C. Wei, C. M. Liu, H. W. Sung, *ACS Nano* **2014**, 8, 5105.
- [38] P. M. Peiris, L. Bauer, R. Toy, E. Tran, J. Pansky, E. Doolittle, E. Schmidt, E. Hayden, A. Mayer, R. A. Keri, M. A. Griswold, E. Karathanasis, *ACS Nano* **2012**, 6, 4157.
- [39] X. Li, Z. Che, K. Mazhar, T. J. Price, Z. Qin, *Adv. Funct. Mater.* **2017**, 27, 1605778.
- [40] P. Gómez-Romero, C. Sanchez, in *Functional Hybrid Materials*, Wiley, **2004**, pp. 1–14.
- [41] R. P. Cruz, M. Nalin, S. J. L. Ribeiro, C. Molina, *Opt. Mater.* **2017**, 66, 297.
- [42] L. Xiong, L. L. Kendrick, H. Heusser, J. C. Webb, B. J. Sparks, J. T. Goetz, W. Guo, C. M. Stafford, M. D. Blanton, S. Nazarenko, D. L. Patton, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, 6, 10763.
- [43] C. Mauriello-Jimenez, M. Henry, D. Aggad, L. Raehm, X. Cattoën, M. Wong Chi Man, C. Charnay, S. Alpugan, V. Ahsen, D. K. Tarakci, P. Maillard, M. Maynadier, M. Garcia, F. Dumoulin, M. Gary-Bobo, J. L. Coll, V. Josserand, J. O. Durand, *Nanoscale* **2017**, 9, 16622.
- [44] A. Ibanez, S. Maximov, A. Guiu, C. Chaillout, P. L. Baldeck, *Adv. Mater.* **1998**, 10, 1540.
- [45] V. Monnier, N. Sanz, E. Botzung-Appert, M. Bacia, A. Ibanez, *J. Mater. Chem.* **2006**, 16, 1401.
- [46] E. Botzung-Appert, V. Monnier, T. H. Duong, R. Pansu, A. Ibanez, *Chem. Mater.* **2004**, 16, 1609.
- [47] V. Monnier, E. Dubuisson, N. Sanz-Menez, B. Boury, V. Rouessac, A. Ayrat, R. B. Pansu, A. Ibanez, *Microporous Mesoporous Mater.* **2010**, 132, 531.
- [48] P. Banet, L. Legagneux, P. Hesemann, J. J. E. Moreau, L. Nicole, A. Quach, C. Sanchez, T. Tran-thi, *Sensors Actuators B Chem.* **2008**, 130, 1.
- [49] Y.-E. L. Koo, Y. Cao, R. Kopelman, S. M. Koo, M. Brasuel, M. A. Philbert, *Anal. Chem.* **2004**, 76, 2498.
- [50] T.-H. Tran-Thi, R. Dagnelie, S. Crunaire, L. Nicole, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 621.
- [51] V. Monnier, M. Bacia, J. L. Putaux, A. Ibanez, *J. Nanoparticle Res.* **2008**, 10, 129.
- [52] E. Dubuisson, V. Monnier, N. Sanz-Menez, B. Boury, Y. Usson, R. B. Pansu, A. Ibanez, *Nanotechnology* **2009**, 20, 315301.
- [53] A. Ibanez, V. Monnier, N. Sanz, R. Pansu, *Fluorescent Organic Nanocrystals for Producing Biosensors*, **2008**, Patent WO 2008/145875.
- [54] E. Dubuisson, S. Szunerits, M. Bacia, R. Pansu, A. Ibanez, *New J. Chem.* **2011**, 35, 2416.
- [55] A. Ibanez, N. Marcellin, E. Djurado, C. Philippot, *Fluorescent Nanocrystals Encapsulated in an Organic Shell*, **2009**, Patent WO 2009/125086.
- [56] C. Philippot, F. Dubois, M. Maurin, B. Boury, A. Prat, A. Ibanez, *J. Mater. Chem.* **2012**, 22, 11370.
- [57] N. Sanz-Menez, V. Monnier, I. Colombier, P. L. Baldeck, M. Irie, A. Ibanez, *Dye. Pigment.* **2011**,

- 89, 241.
- [58] S. Sun, C. B. Murray, D. Weller, L. Folks, A. Moser, *Science* (80-.). **2000**, 287, 1989.
- [59] M. Delalande, P. R. Marcoux, P. Reiss, Y. Samson, *J. Mater. Chem.* **2007**, 17, 1579.
- [60] V. Monnier, M. Delalande, P. Bayle-Guillemaud, Y. Samson, P. Reiss, *Small* **2008**, 4, 1139.
- [61] A. C. S. Samia, J. A. Schlueter, J. S. Jiang, S. D. Bader, C. Qin, X. Lin, R. V May, V. Re, M. Recei, V. August, *Chem. Mater.* **2006**, 2, 5203.
- [62] J. J. Cerdà, T. Sintès, C. M. Sorensen, a. Chakrabarti, *Phys. Rev. E* **2004**, 70, 011405.
- [63] B. M. Ocana, R. Rodriguez-Clemente, C. J. Serna, *Adv. Mater.* **1995**, 7, 212.
- [64] D. C. Lee, F. V. Mikulec, J. M. Pelaez, B. Koo, B. A. Korgel, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 11160.
- [65] A. Delattre, Synthèses Chimiques, Transformation de Phase et Études Des Propriétés Magnétiques Des Nanoparticules de FePt, FePd, Thèse de l'Université de Grenoble, **2010**.
- [66] Z. Meng, G. Li, H. Wong, S. Ng, S. Yiu, C. Ho, C. Leung, I. Manners, W. Wong, *Nanoscale* **2017**, 9, 731.
- [67] L. Mearian, "Want a 100TB disk drive? You'll have to wait 'til 2025," can be found under <https://www.computerworld.com/article/2852233/want-a-100tb-disk-drive-youll-have-to-wait-til-2025.html>, **2014**.
- [68] M. Aufray, S. Menuel, Y. Fort, J. Eschbach, D. Rouxel, B. Vincent, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2009**, 9, 4780.
- [69] P. Kim, S. C. Jones, P. J. Hotchkiss, J. N. Haddock, B. Kippelen, S. R. Marder, J. W. Perry, *Adv. Mater.* **2007**, 19, 1001.
- [70] V. S. Nguyen, L. Badie, E. Lamouroux, B. Vincent, F. D. Dos Santos, M. Aufray, Y. Fort, D. Rouxel, *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, 129, 391.
- [71] A. Ettinger, T. Wittmann, *Fluorescence Live Cell Imaging*, Elsevier, **2014**.
- [72] J. Aizpurua, R. Hillenbrand, in *Plasmon. From Basics to Advanced Topics*, Springer, **2012**, pp. 151–176.
- [73] E. Le Ru, P. Etchegoin, *Principles of Surface Enhanced Raman Spectroscopy*, Elsevier, **2009**.
- [74] J. R. Lakowicz, in *Princ. Fluoresc. Spectrosc.*, Springer, **2006**, pp. 841–871.
- [75] B. Valeur, *Molecular Fluorescence. Principles and Applications*, Wiley, **2001**.
- [76] P. Bharadwaj, L. Novotny, *Opt. Exp.* **2007**, 15, 14266.
- [77] F. Tang, N. Ma, X. Wang, F. He, L. Li, *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 16943.
- [78] Y. Jin, X. Gao, *Nat. Nanotech.* **2009**, 4, 571.
- [79] J. Zhang, Y. Fu, M. H. Chowdhury, J. R. Lakowicz, *Nano Lett.* **2007**, 7, 2101.
- [80] R. Bardhan, N. K. Grady, J. R. Cole, A. Joshi, N. J. Halas, *ACS Nano* **2009**, 3, 744.
- [81] Q. Zeng, Y. Zhang, X. Liu, L. Tu, Y. Wang, X. Kong, H. Zhang, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 6479.
- [82] J. Yang, F. Zhang, Y. Chen, S. Qian, P. Hu, W. Li, Y. Deng, Y. Fang, L. Han, M. Luqman, D. Zhao, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 11618.
- [83] W. Deng, D. Jin, K. Drozdowicz-Tomsia, J. Yuan, J. Wu, E. M. Goldys, *Adv. Mater.* **2011**, 23, 4649.
- [84] C. Li, Y. Zhu, X. Zhang, X. Yang, C. Li, *RSC Adv.* **2012**, 2, 1765.
- [85] C. J. Brinker, G. W. Scherer, *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, Academic Press, **1990**.
- [86] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, *J. Colloid Interf. Sci.* **1968**, 26, 62.

- [87] Y. Huang, J. E. Pemberton, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2011**, *377*, 76.
- [88] H. Zhang, J. F. Wei, F. Zhu, *Adv. Mater. Res.* **2013**, *647*, 722.
- [89] E. Mine, A. Yamada, Y. Kobayashi, M. Konno, L. M. Liz-Marzán, *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, *264*, 385.
- [90] T. Ung, L. M. Liz-Marzan, *Langmuir* **1998**, *14*, 3740.
- [91] C. Graf, D. L. J. Vossen, A. Imhof, A. van Blaaderen, *Langmuir* **2003**, *19*, 6693.
- [92] D. Cheng, Q.-H. Xu, *Chem. Commun.* **2007**, 248.
- [93] M. L. Viger, L. S. Live, O. D. Therrien, D. Boudreau, *Plasmonics* **2008**, *3*, 33.
- [94] L. Lu, Y. Qian, L. Wang, K. Ma, Y. Zhang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 1944.
- [95] Z. Bai, R. Chen, P. Si, Y. Huang, H. Sun, D.-H. Kim, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 5856.
- [96] Y. Wang, L. Chen, P. Liu, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 5935.
- [97] J. Botsoa, V. Lysenko, A. Géoën, O. Marty, J. M. Bluet, G. Guillot, *Appl. Phys. Lett.* **2008**, *92*, 173902.
- [98] J. Botsoa, Synthèse de Nanostructures de Carbure de Silicium et Étude de Leurs Propriétés Optiques, Thèse de l'INSA de Lyon, **2008**.
- [99] Y. Zakharko, J. Botsoa, S. Alekseev, V. Lysenko, J. M. Bluet, O. Marty, V. A. Skryshevsky, G. Guillot, *J. Appl. Phys.* **2010**, *107*, 13503.
- [100] N. Sui, V. Monnier, Y. Zakharko, Y. Chevolot, S. Alekseev, J. M. Bluet, V. Lysenko, E. Souteyrand, *J. Nanopart. Res.* **2012**, *14*, 1004.
- [101] N. Sui, V. Monnier, Y. Zakharko, Y. Chevolot, S. Alekseev, J.-M. J.-M. Bluet, V. Lysenko, E. Souteyrand, *Plasmonics* **2013**, *8*, 85.
- [102] P. K. Jain, M. A. El-Sayed, *Chem. Phys. Lett.* **2010**, *487*, 153.
- [103] R. B. Mujumdar, L. A. Ernst, S. R. Mujumdar, C. J. Lewis, A. S. Waggoner, *Bioconjug. Chem.* **1993**, *4*, 105.
- [104] M. Martini, P. Perriat, M. Montagna, R. Pansu, C. Julien, O. Tillement, S. Roux, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 17669.
- [105] N. Sui, V. Monnier, Z. Yang, Y. Chevolot, E. Laurenceau, E. Souteyrand, V. Dugas, *Int. J. Nanosci.* **2012**, *11*, 1240020.
- [106] N. Sui, V. Monnier, M.-V. Salvia, Y. Chevolot, E. Souteyrand, *Mater. Sci. Eng. B* **2014**, *182*, 92.
- [107] R. Massart, *IEEE Trans. Magn.* **1981**, *17*, 1247.
- [108] K. N. Konou, M. Chalh, V. Monnier, N. P. Blanchard, Y. Chevolot, B. Lucas, S. Vedraïne, P. Torchio, *Synth. Met.* **2018**, *239*, 22.
- [109] L. Bonacina, *Mol. Pharm.* **2013**, *10*, 783.
- [110] D. Staedler, T. Magouroux, R. Hadji, C. Joulaud, J. Extermann, S. Schwung, S. Passemaid, C. Kasparian, G. Clarke, M. Gerrmann, R. Le Dantec, Y. Mugnier, D. Rytz, D. Ciepiewski, C. Galez, S. Gerber-Lemaire, L. Juillerat-Jeanneret, L. Bonacina, J. P. Wolf, *ACS Nano* **2012**, *6*, 2542.
- [111] C. L. Hsieh, R. Grange, Y. Pu, D. Psaltis, *Biomaterials* **2010**, *31*, 2272.
- [112] S. Passemaid, D. Staedler, G. Sonogo, T. Magouroux, G. S. Schneiter, L. Juillerat-Jeanneret, L. Bonacina, S. Gerber-Lemaire, *J. Nanopart. Res.* **2015**, *17*, 414.
- [113] C. Schmidt, J. Riporto, A. Uldry, A. Rogov, Y. Mugnier, R. Le Dantec, J.-P. Wolf, L. Bonacina, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 25415.
- [114] E. Kim, A. Steinbrück, M. T. Buscaglia, V. Buscaglia, T. Pertsch, R. Grange, *ACS Nano* **2013**, *7*,

5343.

- [115] I. Shoji, A. Kitamoto, T. Kondo, R. Ito, *J. Opt. Soc. Am. B* **1997**, *14*, 2268.
- [116] J. Li, J. Qiu, W. Guo, S. Wang, B. Ma, X. Mou, M. Tanes, H. Jiang, H. Liu, *Nanoscale* **2016**, *8*, 7416.
- [117] D. N. Nikogosyan, *Nonlinear Optical Crystals: A Complete Survey*, Springer, **2005**.
- [118] S. Wang, X. Zhao, J. Qian, S. He, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 40615.
- [119] R. Ladj, T. Magouroux, M. Eissa, M. Dubled, Y. Mugnier, R. Le Dantec, C. Galez, J. P. Valour, H. Fessi, A. Elaissari, *Colloid Surf. A* **2013**, *439*, 131.
- [120] G. Wang, G. K. L. Wong, J. B. Ketterson, *Appl. Opt.* **2001**, *40*, 5436.
- [121] H. Yang, C. Liu, D. Yang, H. Zhang, Z. Xi, *J. Appl. Toxicol.* **2009**, *29*, 69.
- [122] A. V Kachynski, A. N. Kuzmin, M. Nyk, I. Roy, P. N. Prasad, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 10721.
- [123] B. Gu, A. Pliss, A. N. Kuzmin, A. Baev, T. Y. Ohulchansky, J. A. Damasco, K. T. Yong, S. Wen, P. N. Prasad, *Biomaterials* **2016**, *104*, 78.
- [124] J. Bouclé, A. Kassiba, M. Makowska-Janusik, J. Sanetra, N. Herlin-Boime, A. Bulou, S. Kodjikian, *Opt. Commun.* **2005**, *246*, 415.
- [125] I. J. Wu, G. Y. Guo, *Phys. Rev. B* **2008**, *78*, 035447.
- [126] M. Boksebeld, V. Kilin, A. Geloën, G. Ceccone, A. Jaffal, C. Schmidt, S. Alekseev, V. Lysenko, J. P. Wolf, L. Bonacina, E. Souteyrand, Y. Chevolut, V. Monnier, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 27361.
- [127] A. Rogov, I. Tishchenko, C. Joulaud, A. Pastushenko, Y. Ryabchikov, A. Kyrychenko, D. Mishchuk, A. Kahrin, V. Timoshenko, Y. Mugnier, R. Le Dantec, A. Geloën, J.-P. Wolf, V. Lysenko, L. Bonacina, *Proc. SPIE* **2016**, *9722*, 972213.
- [128] Y. Zakharko, T. Nychporuk, L. Bonacina, M. Lemiti, V. Lysenko, *Nanotechnology* **2013**, *24*, 055703.
- [129] S. Barillet, M. L. Jugan, M. Laye, Y. Leconte, N. Herlin-Boime, C. Reynaud, M. Carrière, *Toxicol. Lett.* **2010**, *198*, 324.
- [130] J. Pourchez, D. Boudard, V. Forest, N. Boumahdi, M. Tomatis, B. Fubini, B. Guilhot, M. Cottier, P. Grosseau, *J. Nanopart. Res.* **2014**, *14*, 1143.
- [131] M. Bazzar, M. Ghaemy, R. Alizadeh, *Polym. Degrad. Stabil.* **2012**, *97*, 1690.
- [132] A. Oliveros, C. L. Frewin, S. J. Schoell, M. Hoeb, M. Stutzmann, I. D. Sharp, S. E. Sadow, *J. Mater. Res.* **2012**, *28*, 78.
- [133] M. Iijima, H. Kamiya, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 11786.
- [134] A. Kassiba, W. Bednarski, A. Pud, N. Errien, L. Laskowski, M. Tabellout, S. Kodjikian, K. Fatyeyeva, N. Ogurtsov, Y. Noskov, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 11544.
- [135] P. Mavinakuli, S. Wei, Q. Wang, A. B. Karki, S. Dhage, Z. Wang, D. P. Young, Z. Guo, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 3874.
- [136] N. Parker, M. J. Turk, E. Westrick, J. D. Lewis, P. S. Low, C. P. Leamon, *Anal. Biochem.* **2005**, *338*, 284.
- [137] R. J. Lee, S. Philip, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 3198.
- [138] R. Zhao, M. Hanscom, I. D. Goldman, *BBA-Biomembranes* **2005**, *1715*, 57.
- [139] J. A. Webb, R. Bardhan, *Nanoscale* **2014**, *6*, 2502.
- [140] C. M. Pitsillides, E. K. Joe, X. Wei, R. R. Anderson, C. P. Lin, *Biophys. J.* **2003**, *84*, 4023.
- [141] P. K. Jain, K. S. Lee, I. H. El-Sayed, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 7238.

- [142] B. Nikoobakht, M. A. El-Sayed, *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 1957.
- [143] M. Bokseveld, N. P. Blanchard, A. Jaffal, Y. Chevolot, V. Monnier, *Gold Bull.* **2017**, *50*, 69.
- [144] E. Redolfi Riva, I. Pastoriza-Santos, A. Lak, T. Pellegrino, J. Pérez-Juste, V. Mattoli, *J. Colloid Interface Sci.* **2017**, *502*, 201.
- [145] D.-W. Wang, X.-M. Zhu, S.-F. Lee, H.-M. Chan, H.-W. Li, S. K. Kong, J. C. Yu, C. H. K. Cheng, Y.-X. J. Wang, K. C.-F. Leung, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 2934.
- [146] C.-W. Chen, P.-H. Lee, Y.-C. Chan, M. Hsiao, C.-H. Chen, P. C. Wu, P. R. Wu, D. P. Tsai, D. Tu, X. Chen, R.-S. Liu, *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3*, 8293.
- [147] M. H. Chan, S. P. Chen, C. W. Chen, Y. C. Chan, R. J. Lin, D. P. Tsai, M. Hsiao, R. J. Chung, X. Chen, R. S. Liu, *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122*, 2402.
- [148] E. E. Connor, J. Mwamuka, A. Gole, C. J. Murphy, M. D. Wyatt, *Small* **2005**, *1*, 325.
- [149] C. Hanley, A. Thurber, C. Hanna, A. Punnoose, J. Zhang, D. G. Wingett, *Nanoscale Res. Lett.* **2009**, *4*, 1409.
- [150] W. Busch, S. Bastian, U. Trahorsch, M. Iwe, D. Kühnel, T. Meiner, A. Springer, M. Gelinsky, V. Richter, C. Ikonomidou, A. Potthoff, I. Lehmann, K. Schirmer, *J. Nanoparticle Res.* **2011**, *13*, 293.
- [151] F. Joris, D. Valdeperez, B. Pelaz, S. J. Soenen, B. B. Manshian, W. J. Parak, S. C. De Smedt, K. Raemdonck, *J. Nanobiotechnology* **2016**, *14*, 1.
- [152] X. Xie, J. Liao, X. Shao, Q. Li, Y. Lin, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1.
- [153] J. L. Perry, K. G. Reuter, J. C. Luft, C. V. Pecot, W. Zamboni, J. M. DeSimone, *Nano Lett.* **2017**, *17*, 2879.
- [154] S. J. Oldenburg, R. D. Averitt, S. L. Westcott, N. J. Halas, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *288*, 234.
- [155] N. Phonthammachai, J. C. Y. Kah, G. Jun, C. J. R. Sheppard, M. C. Olivo, S. G. Mhaisalkar, T. J. White, *Langmuir* **2008**, *24*, 5109.
- [156] B. E. Brinson, J. B. Lassiter, C. S. Levin, R. Bardhan, N. Mirin, N. J. Halas, *Langmuir* **2008**, *120*, 14166.
- [157] W.-P. Li, P.-Y. Liao, C.-H. Su, C.-S. Yeh, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10062.
- [158] D. K. Lee, Y. Song, V. T. Tran, J. Kim, E. Y. Park, J. Lee, *J. Colloid Interface Sci.* **2017**, *499*, 54.
- [159] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. Whyman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 801.
- [160] D. G. Duff, A. Baiker, P. P. Edwards, *Langmuir* **1993**, *9*, 2301.
- [161] M. J. Garcia-Soto, O. Gonzalez-Ortega, *Gold Bull.* **2016**, *49*, 111.
- [162] H. Zakaria, W. S. Abdelaziz, T. Youssef, *Lasers Med. Sci.* **2016**, *31*, 625.
- [163] A. H. Lu, E. L. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222.
- [164] N. Floret, X. Bertrand, M. Thouverez, D. Talon, *Pathol. Biol.* **2009**, *57*, 9.
- [165] N. Høiby, T. Bjarnsholt, M. Givskov, S. Molin, O. Ciofu, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2010**, *35*, 322.
- [166] C. Ligeour, L. Dupin, A. Marra, G. Vergoten, A. Meyer, A. Dondoni, E. Souteyrand, J. J. Vasseur, Y. Chevolot, F. Morvan, *European J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 7621.
- [167] S. Wang, L. Dupin, M. Noël, C. J. Carroux, L. Renaud, T. Géhin, A. Meyer, E. Souteyrand, J. J. Vasseur, G. Vergoten, Y. Chevolot, F. Morvan, S. Vidal, *Chem. - A Eur. J.* **2016**, *22*, 11785.
- [168] Y. Chevolot, E. Laurenceau, M. Phaner-Goutorbe, V. Monnier, E. Souteyrand, A. Meyer, T. Géhin, J.-J. Vasseur, F. Morvan, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, *18*, 46.
- [169] C. Ligeour, O. Vidal, L. Dupin, F. Casoni, E. Gillon, A. Meyer, S. Vidal, G. Vergoten, J.-M. Lacroix,

- E. Souteyrand, A. Imbert, J.-J. Vasseur, Y. Chevolot, F. Morvan, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 8433.
- [170] J. M. de la Fuente, A. G. Barrientos, T. C. Rojas, J. Rojo, J. Canada, A. Ferna, S. Penadés, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2257.
- [171] Y. Yang, Y. T. Zhao, T. T. Yan, M. Yu, Y. L. Sha, Z. H. Zhao, Z. J. Li, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4182.
- [172] K. El-Boubbou, C. Gruden, X. Huang, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13392.
- [173] C. L. Schofield, A. H. Haines, R. A. Field, D. A. Russell, *Langmuir* **2006**, *22*, 6707.
- [174] Q. Tang, G. Huang, *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *116*, 927.
- [175] Y. Chevolot, C. Bouillon, S. Vidal, F. Morvan, A. Meyer, J.-P. Cloarec, A. Jochum, J.-P. Praly, J.-J. Vasseur, E. Souteyrand, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1.
- [176] V. Dugas, G. Depret, Y. Chevalier, X. Nesme, E. Souteyrand, *Sensors Actuators B Chem.* **2004**, *101*, 112.
- [177] J. Zhang, G. Pourceau, A. Meyer, S. Vidal, J. P. Praly, E. Souteyrand, J. J. Vasseur, F. Morvan, Y. Chevolot, *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24*, 2515.
- [178] A. Imbert, M. Wimmerová, E. P. Mitchell, N. Gilboa-Garber, *Microbes Infect.* **2004**, *6*, 221.
- [179] *Lancet* **1989**, *333*, 137.
- [180] S. A. Arinsburg, B. H. Shaz, C. Westhoff, M. M. Cushing, *Am. J. Hematol.* **2012**, *87*, 525.
- [181] A. Sassolas, B. D. Leca-Bouvier, L. J. Blum, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 109.
- [182] F. Chen, N. Haddour, M. Frenea-Robin, Y. Chevolot, V. Monnier, *ChemistrySelect* **2018**, *3*, 2823.
- [183] F. Chen, N. Haddour, M. Frenea-Robin, Y. Chevolot, V. Monnier, *J. Magn. Magn. Mater.* **2019**, *475*, 345.
- [184] N. Haddour, Y. Chevolot, M. Trévisan, E. Souteyrand, J.-P. Cloarec, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 8266.
- [185] O. Osman, S. Toru, F. Dumas-Bouchiat, N. M. Dempsey, N. Haddour, L.-F. Zanini, F. Buret, G. Reyne, M. Frénéa-Robin, *Biomicrofluidics* **2013**, *7*, 54115.
- [186] V. Kilin, C. Mas, S. Constant, J. Wolf, L. Bonacina, *Sci. Rep.* **2017**, *1*.
- [187] C. Würth, M. Grabolle, J. Pauli, M. Spieles, U. Resch-Genger, *Nat. Protoc.* **2013**, *8*, 1535.
- [188] J. Randrianalisoa, X. Li, M. Serre, Z. Qin, *Adv. Opt. Mater.* **2017**, *5*, 1.
- [189] J. O'Neill, *Rev. Antimicrob. Resist.* **2016**.
- [190] S. Huang, B. Boda, J. Vernaz, E. Ferreira, L. Wiszniewski, S. Constant, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2017**, *118*, 68.
- [191] S. Yang, X. Han, Y. Yang, H. Qiao, Z. Yu, Y. Liu, J. Wang, T. Tang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, *10*, 14299.
- [192] H. D. Lu, S. S. Yang, B. K. Wilson, S. A. McManus, C. V. H. Chen, R. K. Prud'homme, *Appl. Nanosci.* **2017**, *7*, 83.
- [193] A. Pandey, V. K. Rai, in *Spectrosc. Tech. Secur. Forensic Environ. Appl.*, Nova Publisher, **2014**, pp. 279–292.
- [194] S. A. Thompson, I. A. Martínez, P. Haro-González, A. P. Adam, D. Jaque, J. B. Nieder, R. De La Rica, *ACS Photonics* **2018**, *5*, 2676.
- [195] M. Kala, K. Bajaj, S. Sinha, *Anal. Biochem.* **1997**, *254*, 263.
- [196] M. Hervas, M. A. Lopez, A. Escarpa, *Analyst* **2009**, *134*, 2405.

- [197] R. Riahi, S. Ali, M. Shaegh, M. Ghaderi, Y. S. Zhang, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 24598.
- [198] Z. Yang, Y. Chevolot, T. Géhin, J. Solassol, A. Mange, E. Souteyrand, E. Laurenceau, *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *40*, 385.
- [199] S. Cosnier, A. Deronzier, J.-C. Moutet, *J. Electroanal. Chem.* **1985**, *193*, 193.
- [200] N. Haddour, J. Chauvin, C. Gondran, S. Cosnier, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 9693.
- [201] L. Qin, G. Zeng, C. Lai, D. Huang, C. Zhang, M. Cheng, H. Yi, X. Liu, C. Zhou, W. Xiong, F. Huang, W. Cao, *Sci. Total Environ.* **2019**, *652*, 93.
- [202] W. Song, E. J. M. Hensen, *J. Phys. Chem. C* **2013**, *2*, 7721.
- [203] R. Walther, A. K. Winther, A. S. Fruergaard, W. Van Den Akker, L. Sørensen, S. M. Nielsen, M. T. J. Olesen, Y. Dai, H. S. Jeppesen, P. Lamagni, A. Savateev, S. L. Pedersen, C. K. Frich, C. Vigier-, N. Lock, M. Singh, V. Bansal, R. L. Meyer, A. N. Zelikin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 1.
- [204] T. S. Kumar, R. Ramanathan, P. Weerathunge, M. Mohammadtaheri, H. K. Daima, R. Shukla, V. Bansal, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 15856.
- [205] V. Bansal, J. Dai, X. Zhou, *ACS Sensors* **2018**, *3*, 2175.

NANOPARTICULES HYBRIDES ET MULTIFONCTIONNELLES POUR L'IMAGERIE MEDICALE, LA BIODETECTION ET LA PHOTOTHERAPIE

Les nanoparticules hybrides et multifonctionnelles se définissent comme des nanoparticules composées de plusieurs matériaux/molécules (côté hybride) et présentant plusieurs propriétés physiques/chimiques/biologiques (côté multifonctionnel). Elles sont particulièrement intéressantes dans le domaine biomédical puisqu'elles permettent d'obtenir des sondes nanométriques effectuant plusieurs tâches simultanément (imagerie, ciblage, diagnostic, thérapie). Cependant, plusieurs défis techniques doivent être surmontés lors de leur élaboration, notamment le maintien des propriétés spécifiques de chaque composant dans l'assemblage final. Ce mémoire dresse d'abord un état de l'art des différentes nano-architectures possibles permettant de réaliser de telles nanosondes. Des résultats préliminaires obtenus en thèse et en post-doctorat introduisent mes travaux de recherche réalisés en tant qu'enseignant-chercheur. Mes activités ont été divisées en trois axes thématiques. Un premier axe porte sur l'élaboration de nanoparticules à propriétés de fluorescence exaltées combinant un cœur métallique, une coquille de silice et des sondes fluorescentes greffées ou encapsulées dans la silice. Le deuxième axe concerne le travail réalisé autour de nanoparticules présentant des propriétés optiques non linéaires et leur utilisation pour l'imagerie de cellules cancéreuses et le traitement par effet photothermique. Le troisième axe développe l'utilisation de nanoparticules magnétiques multifonctionnalisées pour la capture et la détection de différentes cibles biologiques (ADN, antigènes, bactéries, plaquettes). Enfin, une dernière partie présente les nombreuses perspectives de recherche envisagées suite à ces différents projets.

HYBRID AND MULTIFUNCTIONAL NANOPARTICLES FOR MEDICAL IMAGING, BIODETECTION AND PHOTOTHERAPY

Hybrid and multifunctional nanoparticles can be defined as nanoparticles composed of several materials/molecules (hybrid nature) and exhibiting several physical/chemical/biological properties (multifunctional nature). They are particularly interesting in the biomedical field since they allow obtaining nanometric probes able to carry out several tasks simultaneously (imaging, targeting, diagnosis, therapy). However, many technical challenges must be overcome during their elaboration, such as the preservation of the specific properties of their different components in the final assembly. This report first provides the state-of-the-art of the different possible nano-architectures allowing the realization of such nanoprobables. Preliminary results obtained during my PhD thesis and my post-doctoral studies introduce my research works achieved as an associate professor. My activities were divided into three thematic axes. A first axis is about the elaboration of fluorescence-enhanced nanoparticles combining a metal core, a silica shell and fluorescent probes that were either grafted or embedded into silica. The second axis concerns the work achieved around nonlinear optically active nanoparticles and their use for cancer cell imaging and photothermal treatment. The third axis develops the use of multi-functionalized magnetic nanoparticles for the capture and the detection of different biological targets (DNA, antigens, bacteria, platelets). Finally, the last part opens new perspectives following these different projects.