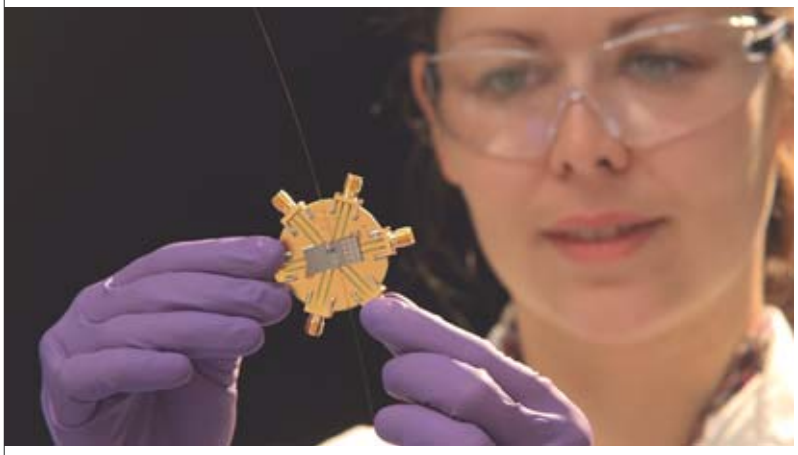
Chimie pour **micro** et **nanosystèmes fonctionnels**

La chimie connaît une évolution radicale de ses concepts et de ses pratiques. **L'apport des micro et des nanotechnologies promet des ruptures majeures** aussi bien dans les domaines de la santé que de la protection de l'environnement ou de la sécurité civile.



P. Avavian/CEA

Capteurs gaz intégrant des NEMS (pour Nano Electro Mechanical Systems).

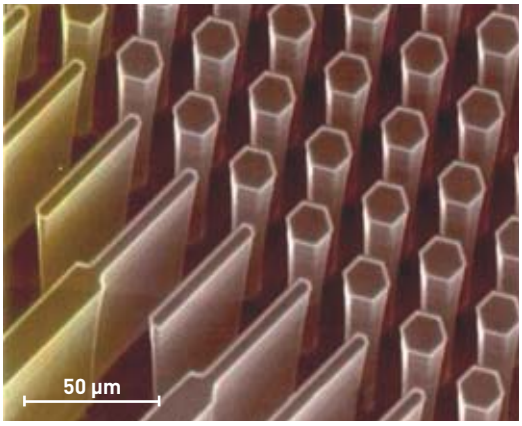
Depuis les années 70, nous assistons à une évolution des concepts et des pratiques en chimie, classiquement décrite en chimies organique et minérale, chimie des matériaux et physico-chimie[1]. La perspective se situe moins dans la découverte d'une molécule pour imaginer des applications que dans la capacité de la chimie à permettre la réalisation de nouveaux objets multifonctionnels innovants. Elle intervient donc à l'interface de diverses disciplines ou techniques. Ainsi, le traitement et l'analyse de signaux issus de capteurs chimiques et/ou biologiques intégrant des micro et nanotechnologies ouvrent, de façon non limitative, des perspectives de ruptures majeures dans les domaines de la santé (diagnostic et théranostique), du contrôle environnemental (qualités de l'eau et de l'air) et de la sécurité civile (menaces chimiques et biologiques, pandémies). La chimie doit ici fournir des architectures multi-échelles complexes en vue d'élaborer des systèmes chimiques, à fonctions contrôlées, compatibles avec les contraintes de fabrication et d'usage (le vivant notamment). La concentration, la capture, le tri, la détection ou encore la délivrance d'espèces chimiques ou biologiques figurent sur la palette de ces fonctions élaborées.

Miniaturiser les échantillons biologiques et gagner sur les temps d'analyse

Y parvenir suppose de concentrer les métabolites à partir du sang total, sans procéder, comme aujourd'hui, à l'extraction du plasma. En travaillant au développement de nouveaux médicaments, les chercheurs sont parvenus à faire évoluer les techniques d'analyse dans un double sens :

- la diminution progressive du volume des échantillons biologiques nécessaires à une analyse : désormais, seulement 5 ml de sang total suffisent ;
- l'utilisation d'un même échantillon pour doser simultanément le principe actif, ses métabolites et ses bio-marqueurs d'activité pharmacologique associés.

Tous les problèmes n'en sont pas pour autant résolus. En effet, ces techniques de dosage, basées sur la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse des échantillons plasmatiques, restent complexes car elles nécessitent une extraction des composés dans un volume d'environ 100 µl de plasma. Une réelle avancée éthique pour les futures études cliniques chez les patients passe donc par la miniaturisation du volume des échantillons biologiques. Un volume de quelques microlitres permettrait de s'affranchir de la contrainte de la prise de sang, très invasive. Un simple prélèvement par piquage du doigt est alors suffisant. L'autre avancée serait de pouvoir travailler directement sur le sang et simplifier ainsi l'étape de prélèvement avec, pour corollaire, un gain de temps et une meilleure maîtrise des échantillons biologiques. Sur cette voie, les chercheurs du Laboratoire d'électronique et de technologie de l'information (Leti) viennent de démontrer la faisabilité d'un concentrateur de métabolites, à partir d'un volume miniaturisé de sang d'une dizaine de microlitres, dans un microréacteur structuré et fonctionnalisé chimiquement en phase gaz après scellement (figure 1). Les résultats s'avèrent prometteurs. En effet, après l'élimination des cellules sanguines et des protéines, un



CEA

Figure 1.
Intérieur d'un microréacteur, structuré par gravure profonde de silicium, observé par microscopie électronique à balayage.

(1) Citons l'introduction des concepts de chimie douce (J. Livage, 1997), de chimie supramoléculaire (J.-M. Lehn, 1987), de chimie verte (P. Anastas et J. Warner, 1998), de click chemistry (K.B. Sharpless, 2001) ou encore de chimie intégrative (R. Backov, 2005).

médicament a pu être extrait et purifié en 30 minutes au lieu des 5 heures requises actuellement et cela, à partir d'un échantillon de seulement 20 µl de sang total.

Capturer des protéines pour diagnostiquer les cancers

Aujourd'hui, la cancérologie attend des chercheurs de meilleurs moyens de diagnostic et des progrès en matière de suivi thérapeutique. Si les techniques demeurent encore limitées, c'est qu'elles s'appuient sur un dosage des marqueurs présents dans le sérum des patients mais aussi qu'elles requièrent des étapes d'extraction et de concentration pour aller identifier l'équivalent d'un grain de sel dans une piscine ! Néanmoins, un pas pourrait avoir été franchi par une équipe de recherche dirigée par François Berger de l'Institut des neurosciences de Grenoble. Au sein de cette unité, les chercheurs du Leti ont apporté une forte contribution en développant une technique de prélèvement miniaturisée de biomarqueurs *in situ* dans les tumeurs. Cette technique consiste à utiliser un substrat de silicium de 600 µm x 2 cm, structuré sous la forme de microcolonnes octogonales (hauteur : 50 µm et diamètre : 80 µm) puis fonctionnalisé chimiquement, avec par exemple une fonction anionique, pour capturer sélectivement, par interactions électrostatiques, les protéines après apposition de ce substrat par l'intermédiaire d'un outil chirurgical approprié (figure 2). La stérilisation préalable de ces dispositifs s'opère sans altération de la chimie de surface. Le substrat est ensuite directement analysé par spectrométrie de masse Seldi-TOF de Ciphergen. Les premiers tests, réalisés pour déterminer l'empreinte protéique dans des tumeurs sous-cutanées provoquées chez la souris, ont permis de valider le principe de microbiopsie.

Détecter des ions pour suivre un état physiologique

Dans le cadre du projet européen Nephron+, le Leti a développé un capteur de type *Ion Selective Electrode* (ISE) pour assurer le suivi, en continu, des ions Na^+ et K^+ présents dans le plasma après une boucle de filtration du sang d'un rein artificiel embarqué sur une personne. Pour le fabriquer, les chercheurs ont procédé à l'inclusion de molécules de capture (calixarènes, éther-couronne) dans une membrane de PVC, une architecture favorable qui permet de mesurer la concentration en électrolytes (figure 3). Directement opérationnel dans le plasma sanguin, ce capteur présente le double avantage d'être biocompatible et non toxique.

Ce même type de capteur a permis le suivi physiologique de pompiers en service, la concentration en ions dans la sueur étant un indicateur de stress (figure 4).

Prévenir les risques chimiques et biologiques

Détecter les gaz, puis les séparer, figure sur l'éventail des mesures incontournables en matière de prévention des risques chimiques ou biologiques dans l'environnement. La problématique tient au fait que dans un environnement complexe (puits pétroliers, habitat, eau de rivière), les substances toxiques ne figurent qu'à l'état de traces complexifiant ainsi leur détection. Il s'agit donc d'un défi majeur lancé aux chimistes. Relever ce défi suppose la réalisation d'un système d'analyse compact, portable, peu coûteux, offrant des fonctionnalités et des performances équivalentes à celles d'un équipement de chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse. Les chercheurs du Leti travaillent à développer un tel dispositif capable d'analyser des mélanges gazeux. Le futur appareil reposera sur une architecture originale, comprenant une série de détecteurs de type NEMS (pour *Nano Electro Mechanical Systems*),

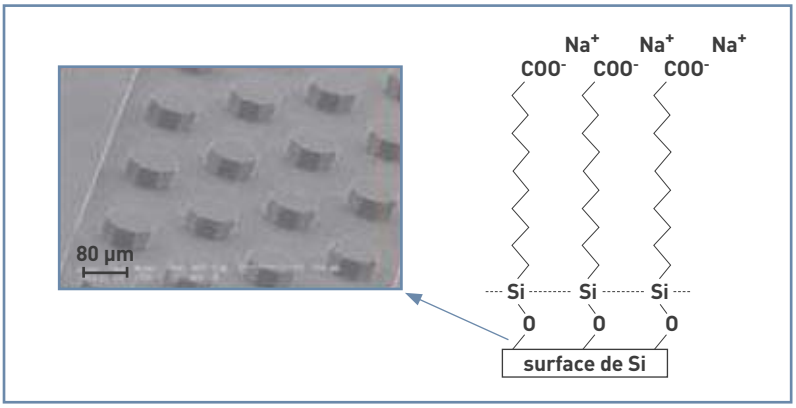


Figure 2.
Chimie de capture de protéines sur un substrat de silicium (à droite) et détail de la structuration du silicium observé par microscopie électronique à balayage (à gauche).

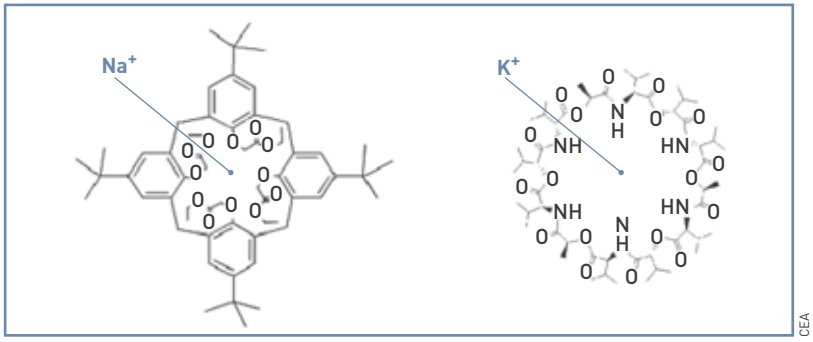


Figure 3.
Principe de capture des ions Na^+ et K^+.

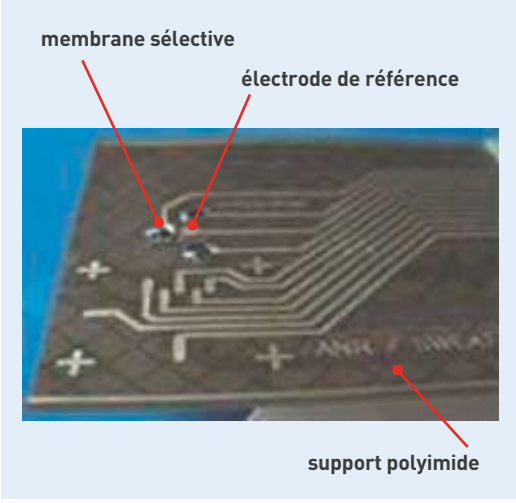
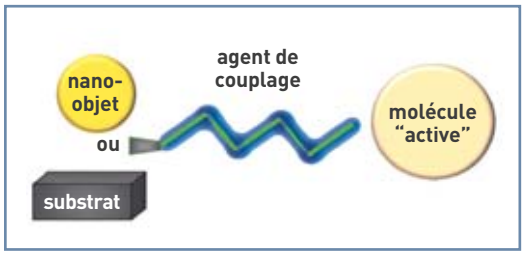


Figure 4.
Capteur électrochimique d'ions sur support souple.



CEA

Figure 5.
Schéma de principe de modification chimique de substrat ou de nano-objet.

couplés à une microcolonne de chromatographie. Une telle intégration va permettre d'obtenir à la fois une grande sensibilité et une rapidité de mesure sur des échantillons complexes. Ces travaux s'inscrivent dans le contexte d'une collaboration, réunissant le Leti et Caltech, et fonctionnant au sein d'un *Nanosystem Partnership Program*. Les industriels membres de ce programme sont tous impliqués dans la détection de composés gazeux au sein de l'atmosphère (gaz acides pour les aspects de sécurité industrielle et les mesures de COVs conformément à la directive REACH) et par la mise au point d'un système de *monitoring* des gaz émis par l'industrie chimique (raffineries). Outre les applications dans le domaine de la chimie, des applications potentielles dans le domaine de la santé sont envisageables, comme l'identification et le suivi de biomarqueurs dans l'haleine qui supprimeront les prélèvements sanguins, ou la détection de la respiration de bactéries !

Ici la chimie, par l'intermédiaire de couches sensibles aux gaz, intervient soit pour séparer, dans les microcolonnes de chromatographie, soit pour détecter, au niveau de la structure nanométrique. Des interactions réversibles, avec une spécificité et une sélectivité pour les gaz à détecter dans le cas d'un *monitoring* en continu, sont obtenues dans cette couche de quelques dizaines de nanomètres localisée par électrogreffage de sels de diazonium.

Créer une interface chimique entre un objet et son environnement

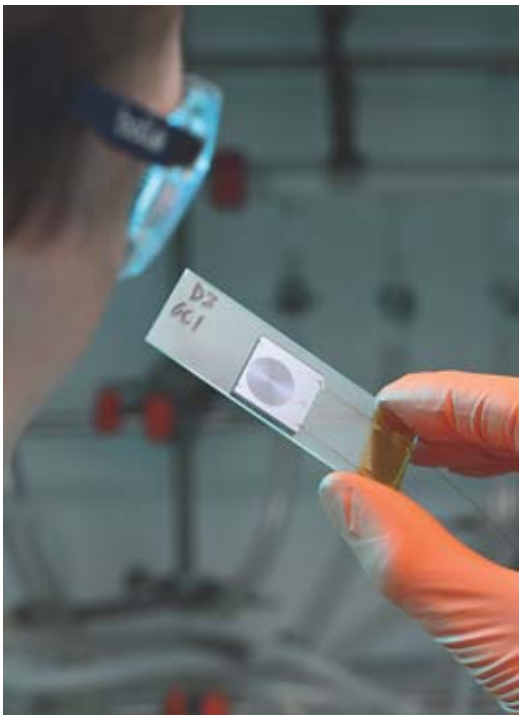
Comme nous avons pu le voir par les exemples précédents, les substrats sur lesquels la chimie intervient sont de nature et de structure très diverses.

Un agent de couplage va permettre d'établir un lien entre un substrat « inerte » et la fonction que va lui conférer la molécule active (figure 5).

Y figurent à la fois des molécules bi-fonctionnelles, des couches de polymères fonctionnels ou de sol-gel. Le couplage de la molécule active s'effectue soit par l'intermédiaire de liaisons covalentes ou électrostatiques, soit par adsorption. La nature

P. Avavian/CEA

Électrogreffage localisé de sels de diazonium en boîte à gants.



P. Avavian/CEA

Microcolonnes de silicium pour chromatographie en phase gaz.

de ces molécules dépend de l'application visée : les molécules biologiques (ADN, protéines, enzymes, anticorps, saccharides, peptides) pour des applications dans le domaine du diagnostic *in vitro*, et les molécules chimiques (alcanes hydrophobes anioniques et cationiques, polyéthylène glycol, calixarènes) pour des applications dans le domaine de la protéomique ou des capteurs physiologiques. Une fois ces molécules et ces procédés associés répertoriés, les chercheurs du Leti ont créé une sorte de grande « librairie » sur les rayons de laquelle les composants chimiques non toxiques et les réactions peu énergivores figurent en *best sellers*. Ce nouveau métier de chimie aux interfaces n'a pu naître au Leti qu'en raison d'un environnement spécifique, permettant le partage des connaissances entre technologie, micro fluidique, biologie et chimie. Outre les applications dans les domaines mentionnés plus haut, les compétences acquises trouvent d'autres développements dans les secteurs de l'énergie et des nouvelles technologies de l'information. Ainsi, les chercheurs du Leti sont-ils parvenus à greffer le site actif d'une d'une hydrogénase sur des électrodes pour réaliser une cellule de production d'hydrogène ou encore des molécules aux propriétés intéressantes pour la réalisation de mémoires électroniques.

Ces compétences, réunies au sein de la plateforme Chimie de la Direction de la recherche technologique (DRT) ont aussi permis un nouveau développement dans la modification de surface de la matière molle, et plus particulièrement de nanoparticules lipidiques Lipidots™, pour des applications dans le domaine de l'imagerie et de la thérapie (voir article p. 44).

> **Françoise Vinet**
Institut Leti (Laboratoire d'électronique et de technologie de l'information)
Direction de la recherche technologique
CEA Centre de Grenoble