

Des microgels stimulables pour l'amplification de l'électrochimiluminescence

Florent Pinaud, Neso Sojic et Valérie Ravaine

Résumé Dans ces travaux, des microgels redox thermosensibles contenant des complexes de ruthénium ont été synthétisés. L'étude de leurs propriétés d'électrochimiluminescence a permis de mettre en évidence une amplification inattendue du signal pouvant atteindre deux ordres de grandeur lors de la transition de phase volumique. Ce phénomène est principalement causé par la diminution de la distance entre les complexes de ruthénium lors de la contraction, favorisant ainsi le processus d'annihilation dans les microgels. Ce principe général pourra être exploité pour le développement d'une nouvelle gamme de biocapteurs électrochimiluminescents à base de microgels.

Mots-clés Nanoparticules, microgels stimulables, électrochimiluminescence, biodétection.

Abstract **Stimuli-responsive microgels for electrochemiluminescence amplification**
In the present work, redox thermoresponsive microgels bearing ruthenium complex were synthesized. Investigation of electrogenerated chemiluminescence properties shows an unexpected amplification up to two orders of magnitude at the volume phase transition. The origin of this phenomenon is explained by the decrease in the average distance between adjacent ruthenium complexes at the swell-collapse transition, which favors the annihilation process in the microgels. This general principle offers the opportunity to develop a new range of electrogenerated chemiluminescent biosensors based microgels.

Keywords Nanoparticles, stimuli-responsive microgels, electrochemiluminescence, biosensing.

Souvent classés parmi les matériaux dits « intelligents », les hydrogels stimulables suscitent un intérêt grandissant pour leurs applications biomédicales telles que la délivrance d'actifs, le diagnostic ou encore l'ingénierie tissulaire [1]. Ces réseaux de polymères gonflés d'eau sont intrinsèquement biocompatibles et peuvent moduler leurs propriétés de gonflement en réponse à des changements environnementaux tels que la température, le pH ou encore la concentration d'une espèce en solution. Ces variations sont à l'origine d'un changement de la plupart de leurs propriétés physiques (volume, indice de réfraction, porosité, etc.) qui peuvent être exploitées pour la construction de capteurs. En outre, la dynamique de réponse des hydrogels est d'autant plus rapide que leurs dimensions sont petites [2]. Leur miniaturisation à l'échelle des particules colloïdales appelées microgels offre donc des avantages tant sur le plan de la résolution spatiale que temporelle. Des biocapteurs à base d'hydrogels ou de microgels ont ainsi été développés [3]. Ils associent un élément de reconnaissance moléculaire, tel qu'une enzyme ou un ligand, à la matrice. Le processus de reconnaissance moléculaire de l'espèce cible engendre un changement physico-chimique (interactions polymère-solvant, densité de charge ou de réticulation, conformation, etc.) qui provoque la modulation du gonflement [4]. Des microgels sensibles à des cations [5], au glucose [6-9] ou à un antigène [10] ont ainsi été obtenus.

Parmi les différents signaux détectés, la luminescence occupe une place de choix (*figure 1*). Des microgels fluorescents, dont l'intensité change en fonction du gonflement, ont été développés sur la base de différents mécanismes tels que la modification de polarité des fluorophores [11], le transfert d'énergie entre fluorophores donneurs et accepteurs [12] ou l'incorporation de quantum dots [13]. Dans le travail présenté ici, nous nous intéressons à un autre type de luminescence générée par voie électrochimique, également appelée électrochimiluminescence (ECL) (voir *encadré* p. 64).

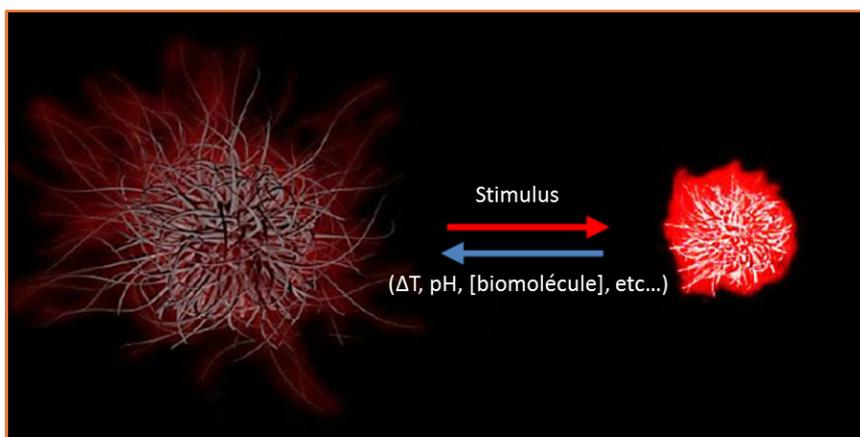


Figure 1 - Schéma d'un microgel dont les propriétés de luminescence sont modifiées lors du changement du taux de gonflement en réponse à un stimulus.

L'électrochimiluminescence (ECL)

L'électrochimiluminescence, ou chimiluminescence électrogénérée, est un procédé associant efficacement les propriétés électrochimiques et spectroscopiques d'un luminophore. L'état excité émettant la luminescence est obtenu suite à une cascade de réactions qui est déclenchée par un transfert électronique se produisant directement à la surface d'une électrode. Le succès de cette technique est lié à ces nombreux avantages : simplicité d'utilisation, génération *in situ* du réactif, sensibilité, faible coût et stabilité. Différents complexes de ruthénium ou d'iridium sont utilisés comme marqueurs ECL de biomolécules. L'ECL est ainsi appliquée commercialement dans plus de 90 tests d'immunodosage.

de ruthénium, favorisant ainsi le processus d'annihilation conduisant à l'état excité responsable de l'émission ECL.

Conclusion et perspectives

Pour la première fois, des microgels stimulables dont les propriétés d'ECL évoluent en fonction du gonflement sont préparés avec succès. Ils peuvent être utilisés comme thermomètre car l'observation de leurs propriétés optiques permet de connaître la température de leur environnement. Par ailleurs, il est important de souligner qu'il s'agit d'un des très rares systèmes conduisant à une amplification et non à une diminution de la luminescence. Ce concept original peut être utilisé pour d'autres types de stimuli dans le but de concevoir une nouvelle génération de biocapteurs. La synthèse de microgels sensibles au glucose, dont la composition est proche de ceux étudiés ici, a déjà été l'objet d'investigations dans le laboratoire [9]. Le challenge est à présent de développer des microgels capables de moduler leurs propriétés d'ECL en fonction de la concentration en glucose.

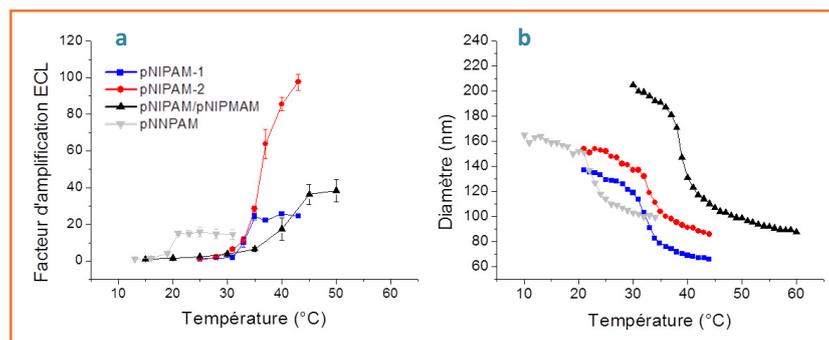


Figure 2 - Influence de la température sur a) l'ECL et b) le diamètre de microgels ayant différentes compositions.

pNIPAM-1 et pNIPAM-2 sont des microgels de poly(*N*-isopropylacrylamide) ayant des teneurs en complexes de ruthénium différentes. Leur transition de phase volumique est à 32 °C. Les microgels pNIPAM/pNIPMAM (poly(*N*-isopropylméthacrylamide)) et pNIPAM (poly(*N*-*n*-propylacrylamide)) transitent à 40 °C et 22 °C respectivement.

Impact du gonflement sur l'électrochimiluminescence

Afin d'étudier l'impact du gonflement sur les propriétés de luminescence, des microgels modèles, sensibles à la température, ont été préparés. Ces objets, à base de poly(*N*-isopropylacrylamide) (pNIPAM) sont fonctionnalisés de façon covalente par un complexe de ruthénium (Ru(bpy)₃²⁺), connu pour ses propriétés de photoluminescence et d'ECL. L'étude de ces microgels en fonction de la température a permis de montrer une dépendance des propriétés ECL avec la variation volumique, contrairement à la photoluminescence [14]. En effet, lorsque les microgels se contractent, une amplification importante du signal ECL est observée (figure 2).

Dans le but de vérifier que l'amplification du signal est bien associée à la variation du gonflement, des microgels présentant des transitions de phase volumique à différentes températures ont été synthétisés. L'étude révèle alors que, pour chaque échantillon, le phénomène d'exaltation du signal ECL est corrélé au changement de volume (figure 2). Il s'agit d'une propriété unique de ce type de microgels. L'impact de la concentration en complexe de ruthénium incorporée dans les microgels a aussi été étudiée (cf. figure 2 : pNIPAM-1 contient moins de ruthénium que pNIPAM-2). Lorsque cette dernière est augmentée, le facteur d'exaltation est bien plus important et peut atteindre jusqu'à deux ordres de grandeurs. Cette augmentation du signal ECL est corrélée intrinsèquement à la transition volumique du microgel passant de l'état gonflé à l'état contracté. Ce comportement est inattendu puisque l'on s'attendrait à une diminution du signal ECL dans les microgels à l'état collapsé qui limite la diffusion du corréactif. Nous avons montré que cette amplification dépendait principalement de la variation de distance entre les complexes

Références

- [1] Pich A., Richtering W., *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, M. Moeller, K. Matyaszewski (eds), Elsevier, **2012**, p. 309-350.
- [2] Tanaka T., Fillmore D.J., Kinetics of swelling of gels, *J. Chem. Phys.*, **1979**, *70*, p. 1214.
- [3] Hendrickson G.R., Lyon L.A., Bioresponsive hydrogels for sensing applications, *Soft Matter*, **2009**, *5*, p. 29.
- [4] Sui Z.J., King W.J., Murphy W.L., Dynamic materials based on a protein conformational change, *Adv. Mater.*, **2007**, *19*, p. 3377.
- [5] Yin J., Li C., Wang D., Liu S., FRET-derived ratiometric fluorescent K⁺ sensors fabricated from thermoresponsive poly(*N*-sopropylacrylamide) microgels labeled with crown ether moieties, *J. Phys. Chem. B*, **2010**, *114*, p. 12213.
- [6] Ward Muscatello M.M., Stunja L.E., Asher S.A., Polymerized crystalline colloidal array sensing of high glucose concentrations, *Anal. Chem.*, **2009**, *81*, p. 4978.
- [7] Tierney S., Falch B.M.H., Hjelle D.R., Stokke B.T., Determination of glucose levels using a functionalized hydrogel-optical fiber biosensor: toward continuous monitoring of blood glucose in vivo, *Anal. Chem.*, **2009**, *81*, p. 3630.
- [8] Hu Y., Jiang X., Zhang L., Fan J., Wu W., Construction of near-infrared photonic crystal glucose-sensing materials for ratiometric sensing of glucose in tears, *Biosens. Bioelectron.*, **2013**, *48*, p. 94.
- [9] Ancla C., Lapeyre V., Gosse I., Catargi B., Ravaine V., Designed glucose-responsive microgels with selective shrinking behavior, *Langmuir*, **2011**, *27*, p. 12693.
- [10] Miyata T., Asami N., Urugami T., A reversibly antigen-responsive hydrogel, *Nature*, **1999**, *399*, p. 766.
- [11] Gota C., Okabe K., Funatsu T., Harada Y., Uchiyama S., Hydrophilic fluorescent nanogel thermometer for intracellular thermometry, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, p. 2766.
- [12] Wang D., Liu T., Yin J., Liu S., Stimuli-responsive fluorescent poly(*N*-isopropylacrylamide) microgels labeled with phenylboronic acid moieties as multifunctional ratiometric probes for glucose and temperatures, *Macromolecules*, **2011**, *44*, p. 2282.
- [13] Wu W., Zhou T., Shen J., Zhou S., Optical detection of glucose by CdS quantum dots immobilized in smart microgels, *Chem. Commun.*, **2009**, p. 4390.
- [14] Pinaud F., Russo L., Pinet S., Gosse I., Ravaine V., Sojic N., Enhanced electrogenerated chemiluminescence in thermoresponsive microgels, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, p. 5517.



F. Pinaud

Florent Pinaud est doctorant, Neso Sojic, professeur de Bordeaux INP, et Valérie Ravaine (auteur correspondant), maître de conférences de Bordeaux INP, à l'Institut des Sciences Moléculaires, UMR CNRS 5255, dans l'équipe « Nanosystèmes analytiques »*.

* Institut des Sciences Moléculaires, UMR CNRS 5255, 16 avenue Pey Berland, F-33607 Pessac Cedex.
Courriels : Florent.Pinaud@enscbp.fr ; Neso.Sojic@enscbp.fr ; Valerie.Ravaine@enscbp.fr