

Surfaces d'électrodes bioactives

Des polymères conducteurs bifonctionnels pour des biocapteurs enzymatiques et à ADN

Bioactive electrode surfaces: functional conducting polymers for enzymatic biosensors and DNA biosensors

Minh Chau Pham et Benoît Piro

Au cours des deux dernières décennies, les matériaux organiques électroactifs ont fait l'objet de nombreuses recherches pour la mise au point des biocapteurs, avec pour intérêt majeur leur faible coût, leur processabilité, mais surtout leur facilité de fonctionnalisation et de miniaturisation [1].

L'expérience acquise dans les domaines de l'électropolymérisation et des polymères conducteurs nous a conduits à concevoir et élaborer différents systèmes électrochimiques pour des applications biologiques *in vivo*, et en particulier la réalisation de prothèses métalliques recouvertes d'un composite « polymère conducteur/oligonucléotide » permettant le relargage *in vivo* d'oligonucléotides pour le traitement de la resténose* en cardiologie [2].

La réalisation de biocapteurs enzymatiques et à ADN compacts constitue également l'un de nos objectifs principaux. Pour cela, nous nous sommes appuyés sur les propriétés spécifiques d'un polymère conducteur bifonctionnel original, le poly(JUG-co-JUGA), comportant les fonctions quinone (juglone ou JUG) et acide thiocarboxylique [acide poly(5-hydroxy-1,4-naphtoquinone-co-5-hydroxy-3-thioacétique-1,4-naphtoquinone ou JUGA)] (figure 1). Le groupe quinone assure la fonction de transduction électronique et la fonction carboxyle permet d'immobiliser l'enzyme ou l'oligonucléotide (ODN), l'ensemble constituant le biocapteur.

Dans les deux applications – capteurs enzymatiques et à ADN –, la présence de la fonction quinonique rattachée à la surface de l'électrode par l'intermédiaire de la matrice polymère évite l'utilisation d'un marqueur électrochimique ou d'un médiateur. De plus, le potentiel particulièrement bas du groupe quinone permet d'éviter l'oxydation parasite des interférents biologiques classiques, ce qui constitue un avantage supplémentaire.

À l'aide de ce système, nous avons élaboré des biocapteurs compacts à lactate (par greffage sur le film de la lactate oxydase LOD [3]) et à pyruvate (greffage sur le film de la pyruvate oxydase

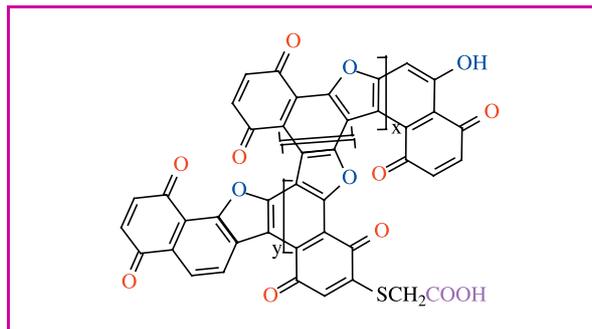


Figure 1 - Le poly(JUG-co-JUGA).

PyOD [4]) qui fonctionnent à des potentiels extrêmement bas : - 0,1 V vs ECS (« électrode calomel saturé ») pour le lactate et + 0,1 V vs ECS pour le pyruvate. À notre connaissance, il s'agit là des valeurs de potentiel les plus faibles de la littérature.

Le même système est également capable de fonctionner en capteur à ADN, après greffage sur le film d'oligonucléotides particuliers. En effet, il reconnaît directement une réaction d'hybridation, à partir du signal d'oxydo-réduction du groupe quinone. On obtient ainsi une détection électrochimique directe de l'hybridation, la transduction étant assurée par le groupe quinone [5]. Le signal du groupe quinone, qui dépend de l'hybridation ou de la non-hybridation entre la molécule sonde et la molécule cible (brin d'ADN) est mesuré très simplement par voltammétrie à impulsion différentielle (DPV, « differential pulse voltammetry ») ou voltammétrie à vague carrée (SWV, « square-wave voltammetry ») (figure 2). Fait extrêmement rare, le signal de la sonde est amplifié après hybridation.

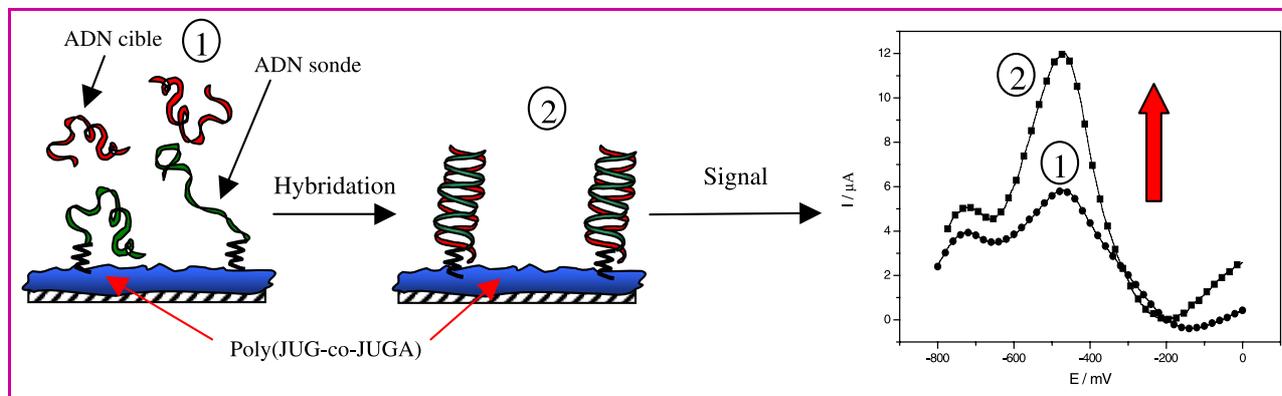


Figure 2 - Principe de détection électrochimique de l'hybridation par voltammétrie à vague carrée (SWV). Mesures réalisées avec des séquences spécifiques du virus HIV.

En conclusion, nous avons mis au point un biocapteur qui présente une excellente sensibilité. Très sélectif, il est capable de discriminer un brin complémentaire présentant un seul désappariement (« mismatch »). Il peut aussi reconnaître un brin complémentaire dans un mélange de plusieurs cibles. Un autre point original est qu'une sonde de 30 bases permet de détecter l'hybridation de plusieurs cibles, par exemple trois cibles différentes de dix bases chacune. *Last but not least*, c'est un des rares biocapteurs qui, contrairement à la plupart des autres systèmes fondés sur la mesure de la perturbation d'un signal électrochimique résultant de l'hybridation, donne une amplification de la réponse et non une atténuation.

Note et références

* *Resténose* : nouveau rétrécissement de l'artère survenant chez certains patients ayant bénéficié d'une angioplastie ou de l'implantation d'un stent.

- [1] Berggren M., Richter-Dahlfors A., Organic bioelectronics, *Adv. Mat.*, **2007**, *19*, 3201.
- [2] Le Doan T., Pham M.C., Dubois-Rande J.L., Piro B., Teiger E., Tenu J.P., Dispositif implantable recouvert d'un polymère capable de libérer des substances biologiquement actives, Brevet CNRS, 97.09001, Licence acquise par la société Cathnet-Science.
- [3] Haccoun J., Piro B., Tran L.D., Dang L.A., Pham M.C., Reagentless amperometric detection of L. lactate on an enzyme-modified

conducting polymer, poly(5-hydroxy-1,4-naphthoquinone-co-5-hydroxy 3 acetic acid 1,4-naphthoquinone), *Biosensors and Bioelectronics*, **2004**, *19*, p. 1325.

- [4] Dang L.A., Haccoun J., Piro B., Pham M.C., Reagentless recycling of pyruvate oxidase on conducting polymer-modified electrode, *Electrochim. Acta*, **2006**, *51*, p. 3934.
- [5] a) Pham M.C., Piro B., Tran L.D., Le doan T., Dao L.H., Direct electrochemical detection of oligonucleotide hybridization on poly(5-hydroxy-1,4-naphthoquinone-co-5-hydroxy-3-thioacetic acid-1,4-naphthoquinone) film, *Anal. Chem.*, **2003**, *75*, p. 6748 ; b) Reisberg S., Piro B., Noël V., Pham M.C., DNA electrochemical sensor based on conducting polymer: dependence of the "signal-on" detection on the probe sequence localization, *Anal. Chem.*, **2005**, *77*, p. 3351.



M. Chau Pham

Minh Chau Pham est professeur et **Benoît Piro** est maître de conférences à l'ITODYS (Université Paris 7).*



B. Piro

* ITODYS, Université Paris 7, 1 rue Guy de la Brosse, 75005 Paris.
Courriels :
pham@univ-paris-diderot.fr
piro@univ-paris-diderot.fr



VALAGRO

Recherche, Développement, Innovation

Alternative au carbone fossile et diminution des émissions de gaz à effet de serre



Produits biodégradables issus du carbone renouvelable



Chimie et biochimie des lignocellulosiques



Protection de l'environnement



Chimie des polymères



Valorisation industrielle des produits et coproduits de l'agriculture et de la sylviculture



Chimie des lipides et oléochimie

Du végétal à l'industrie pour un développement durable

valagro@valagro-rd.com - www.valagro-rd.com
40 avenue du Recteur Pineau – 86022 POITIERS cedex - Tél. : 05 49 45 40 28