

Doctorat en biophysico-chimie (2024-2027)

Nanosondes optiques par décoration d'origami de protéines.

Début:	01/10/2024	Durée:	36 mois
Encadrant :	Erik DUJARDIN <i>Laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne (ICB), UBFC CNRS UMR 6303</i> <i>Département Photonique - Equipe PRISM - 9 avenue Alain Savary - BP 47870 - 21078 Dijon Cedex - France</i> <i>Email: erik.dujardin@cnrs.fr – Phone: +33 (0)3 80 39 59 62.</i>		

Contexte. Les propriétés optiques des nanocristaux luminescents semi-conducteurs (quantum dots) ou métalliques dépendent de phénomènes intrinsèques (taille, matériaux, structure, morphologie, ...) et de phénomènes extrinsèques (effets de surface, température locale, champ électrique, indice local, effets collectifs et couplages, ...). Le contrôle des premiers permet une ingénierie optique sur une large gamme de longueur d'onde et d'échelles de temps et les seconds font de ces nanoparticules d'excellentes sondes du milieu environnant. C'est ainsi que les nano-sondes optiques (triple prix Nobel de Chimie 2023) associées aux microscopies optiques super-résolues (triple prix Nobel de Chimie 2014) ont révolutionné la compréhension de nombreux phénomènes biologiques, y compris intracellulaires. Toutefois, les effets collectifs d'ensembles ordonnés d'émetteurs tels que la super-fluorescence, la super-radiance, l'émission exaltée par plasmon ou l'émission chirale restent peu exploités comme méthodes de sonde en dépit des atouts que ceux-ci pourraient apporter. Les raisons en sont que (i) les sondes sont en général des nanoparticules individualisées et non des ensembles ordonnés, (ii) les ensembles ordonnés d'émetteurs sont formés à partir de supports ou matrices macroscopiques (polymères, cristaux liquides, surfactants, nanotubes, ...) ou d'interactions inter-particulaires trop fragiles les rendant impropres à une introduction dans le milieu à sonder (biologique ou non).

Le maillon manquant est d'être capable d'ordonner rigidement et précisément dans l'espace 3D des nanoparticules optiquement actives (luminescentes et/ou plasmoniques), tout en restant soluble. Parmi les quelques approches d'ingénierie des interfaces de ces nanoparticules qui répondent à ce cahier des charges, celles utilisant des origamis d'ADN ou des protéines pour agencer des nanosondes sont prometteuses mais souvent limitées par la difficulté de produire en masse les assemblages.

Ce projet de thèse exploitera des protéines entièrement artificielles facilement produites par nos partenaires biochimistes et dont les propriétés physico-chimiques, notamment une fois couplées à des nanoparticules, peuvent être programmées à souhait grâce à une approche développée en collaboration depuis quinze ans.^{1,4-6} Une approche combinatoire modulaire de la construction d'origami de protéines (Fig. 1AB) offre désormais une opportunité unique de concevoir des architectures supramoléculaires de protéines ayant à la fois une structure rigide 3D et des surfaces chimiquement fonctionnelles aptes à guider la croissance et l'auto-assemblage de nanosondes optiquement actives (Fig. 1C).²⁻³

Objectifs de la thèse. *Un contrat doctoral multi-disciplinaire en physico-chimie expérimentale est proposé au Laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne (ICB, CNRS Univ. Bourgogne, Dijon, France) dans le cadre d'un projet de recherche rassemblant des biochimistes, physico-chimistes et experts en diffusion X et cryo microscopie électronique. Le travail proposé se situe à la frontière entre **synthèse de clusters et nanocristaux d'or**, **chimie de surface**, **ingénierie des protéines appliquée aux matériaux** et caractérisation de pointe par **microscopies et spectroscopies optiques**.*

Il comporte trois volets: (i) Auto-assemblage d'origami à partir de modules élémentaires constitués de protéines artificielles;¹⁻³ (ii) fonctionnalisation des origami pour en faire des guides de croissance cristalline⁴ et des supports d'assemblage ordonné de nanocristaux métalliques ou semiconducteurs optiquement actifs (nanosondes)^{5,6} et (iii) études optiques et spectroscopiques en solution et sur objet individuels.

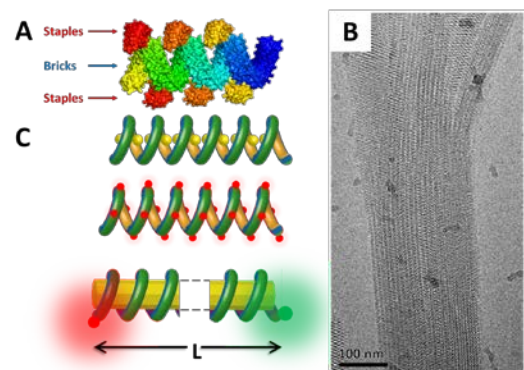


Figure 1: (A) 3D model of a superhelical origami spontaneously formed by mixing two selected aRep proteins, the "brick" and the "staple". (B) cryoEM image of a large supercrystal of origami.^{2,3} (C) Examples of 3D spatial organization of plasmonic (yellow spheres and rods) and fluorescent nanoparticles (red or green glowing spheres) templated inside, outside of the origami or both depending whether the staple, the brick or both carry the nanoprobe.



Missions et Formation.

Le(la) candidat(e) sera formé(e) à la production des origamis à partir de protéines artificielles conçues et produites par nos partenaires biochimistes et **développera des protocoles de synthèse et de fonctionnalisation** pour utiliser les origamis comme support d'auto-assemblage des émetteurs avec une précision sub-nm ou de morphosynthèse de nanocristaux d'Or/Au/Ag. Il/elle **réalisera les caractérisations structurales** des superstructures hybrides origami-nanoparticules ordonnées en 3D par **AFM, FEGSEM et TEM conventionnel** dans la plateforme ARCEN (ICB, Dijon). Des études optiques et spectroscopiques poussées (**Fluorescence, TIRF, dichroïsme circulaire, Raman**) permettront d'évaluer les propriétés et performances de ces assemblages de nanosondes optiques.

Profil.

Avez-vous envie d'explorer les propriétés optiques d'assemblages de nanoparticules que vous aurez vous-même créés? Souhaitez-vous contribuer au sujet émergent des bionanotechnologies en travaillant avec des physiciens, des chimistes et des biologistes? Vous imaginez-vous piloter des microscopes afin de comprendre les propriétés de la matière à l'échelle du nanomètre? **Si oui, ce projet comblera vos attentes: candidatez et rejoignez notre équipe!**

Bibliographie

- 1 - Guellouz A., Valerio-Lepiniec, M., Urvoas, A., Minard, P., et al., **PloS One**, 8, e71512 (2013). ([Link](#))
- 2 - L. Moreaud, S. Viollet, A. Urvoas, M. Valerio-Lepiniec, et al. F. Artzner,, E. Dujardin, P. Minard, **PNAS**, 120, e2218428120 (2023). ([Link](#))
- 3 - J. Miller, A. Urvoas, et al., M. Valerio-Lepiniec, F. Artzner, E. Dujardin, P. Minard, **J. Struct. Biol.**, 215, 108102 (2023). ([Link](#))
- 4 - J. Prasad, S. Viollet, K. L. Gurunatha, et al., P. Minard, E. Dujardin, **Nanoscale**, 11, 17485-17497 (2019). ([Link](#))
- 5 - K. L. Gurunatha, A. C. Fournier, A. Urvoas, M. Valerio-Lepiniec, V. Marchi, P. Minard and E. Dujardin. **ACS Nano**, 10, 3176–3185 (2016). ([Link](#))
- 6 - M. Fernandez, A. Urvoas, P. Even-Hernandez, et al., P. Minard, E. Dujardin, V. Marchi, **Nanoscale**, 12, 4612-4621 (2020). ([Link](#))