

SOUTENANCE DE THESE

DETECTION ET QUANTIFICATION D'ACIDES NUCLEIQUES PAR L'INTERCALATION DE SONDES ELECTRO-ACTIVES APPLIQUEES A L'INTEGRATION D'APPROCHES D'AMPLIFICATIONS ISOTHERMES *IN VITRO*

Présentée par : **ALEXANDRA MARTIN**

Le Mercredi 19 octobre 2016, à 14h00, en salle 774, bât. Lavoisier

Résumé :

Détecter et quantifier la présence d'agents pathogènes à travers leur ADN représente un enjeu majeur dans de nombreux secteurs comme l'analyse biomédicale, l'agroalimentaire ou l'environnement. La technique de PCR optique en temps réel, couplant la réaction d'amplification génique *in vitro* dite PCR à une détection par fluorescence constitue la méthode standard pour réaliser ces analyses. Cependant, elle nécessite l'utilisation d'un thermocycleur et l'intégration d'une instrumentation optique rendant l'équipement onéreux et encombrant. De plus, les échantillons troubles ou colorés ne peuvent pas être traités. Pour remédier aux problèmes posés par l'optique, une méthode de suivi électrochimique de la PCR au moyen de sondes électroactives interagissant préférentiellement avec l'ADN double-brin a été développée au LEM. Un démonstrateur préindustriel réalisé en partenariat avec la start-up Easy Life Science permet la parallélisation des mesures de PCR électrochimique en temps réel dans les 48 cellules d'un consommable. Dans ce travail, la problématique de la régulation thermique est adressée en remplaçant la PCR par deux méthodes d'amplifications isothermes de l'ADN. La première d'entre elle, la LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification), particulièrement efficace et spécifique, est combinée à une détection électrochimique via l'utilisation d'un panel de sondes redox afin d'obtenir des performances analytiques rivalisant avec les méthodes optiques standards. Une seconde approche d'amplification isotherme présentant un schéma réactionnel plus simple que la LAMP, basée sur le recyclage des produits d'une HCR (Hybridization Chain Reaction), est également proposée. Enfin, un nouveau consommable miniaturisé intégrant, à ce jour, cent cellules électrochimiques de faible volume (< μL) ainsi que le potentiostat dédié sont présentés. L'originalité de ce consommable repose sur son processus de fabrication à très bas coût n'utilisant que des empilements de supports sérigraphiés. Fonctionnel à température ambiante, l'objectif à terme sera de l'utiliser pour des réactions d'amplifications isothermes dites « digitalisées ».

Le jury sera composé de :

Rapporteurs	M. Stéphane ARBAULT M. Thierry LIVACHE	DR CNRS, Bordeaux DR CEA, Grenoble
Examineurs	M. Damien BAIGL M. Alain PLUQUET	PR ENS, Paris Corporate VP, CTO bioMérieux, Marcy l'Etoile
Directeur	Mme Christelle HUREAU M. Damien MARCHAL	CR CNRS, Toulouse MCF, Paris Diderot