



**Soutenance de thèse de Madame Charlie RABIN**  
**pour le titre de docteur de l'Université Sorbonne Paris Cité**

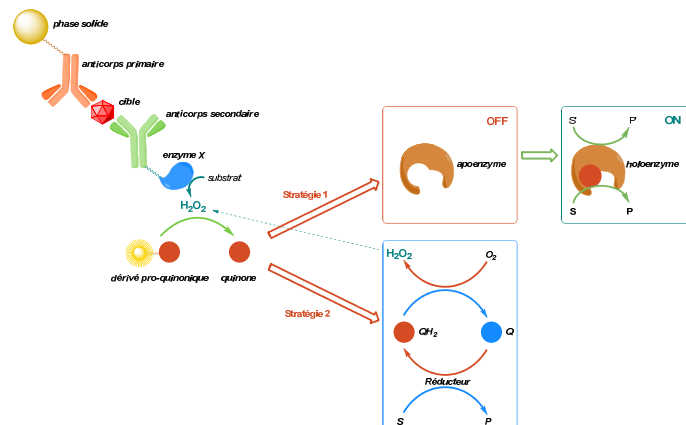
Thèse de doctorat préparée à l'Université Paris Diderot  
Présentée et soutenue publiquement le lundi 09 octobre 2017 à 14h00  
En salle 774 du bâtiment Lavoisier à Paris

« **Nouvelles stratégies d'amplification moléculaire d'un signal basées sur l'activation de dérivés pro-quinoniques:**  
**De l'activation d'un catalyseur biomoléculaire au déclenchement d'une réaction auto-catalytique** »

**Résumé**

Généralement, diagnostiquer une pathologie donnée à un stade de développement précoce favorise le pronostic vital du patient atteint. Une telle performance nécessite de détecter des marqueurs présents à des seuils de concentrations bas dans des fluides biologiques souvent complexes. Pour détecter ces concentrations extrêmement faibles en analyte donné, la stratégie employée au cours de ce travail est l'amplification moléculaire du signal. Pour cela, différentes approches sont possibles (i) amplifier le signal issu de l'évènement de reconnaissance cible/sonde, (ii et iii) amplifier le signal par régénération ou réplication de la cible. Les stratégies conçues au cours de ce travail de thèse se focalisent principalement sur la détection de petites molécules, telles que l'eau oxygénée ou encore l'anion fluorure, mais avec à terme l'idée de les étendre à la détection indirecte de biomarqueurs ou protéines d'intérêts. La première partie de cette thèse se focalise sur l'amplification moléculaire d'un signal par une catalyse allostérique en utilisant la réaction de reconstitution d'une apoenzyme donnée avec son cofacteur tandis que la seconde partie repose sur la mise en place de systèmes d'amplification catalytique et auto-catalytique pour la détection d' $H_2O_2$ , grâce à des dérivés pro-quinoniques porteurs d'un groupement acide/ester boronique. La distinction entre les systèmes catalytique et auto-catalytique se fait selon qu' $H_2O_2$  est régénéré ou amplifié au cours de la réaction.

*Mots clés.* - Amplification moléculaire - Reconstitution enzymatique - Activation d'un biocatalyseur - Auto-catalyse - Cinétique - Chimie analytique





PhD Defense : Charlie RABIN, October 9<sup>th</sup> 2017

« New strategies for molecular amplification of a signal based on the activation of pro-quinonic derivatives :  
*From the activation of a biomolecular catalyst to the trigger of an auto-catalytic reaction* »

### Abstract

Generally, diagnosing a given pathology at an early stage of development promotes the patient's prognosis. Such a performance requires the detection of specific markers which are present in complex biological fluids at low concentration level. To detect these extremely low analyte concentrations, the strategy employed in this work is the molecular amplification of the signal. To this end, different approaches are possible (i) amplifying the signal resulting from the target / probe recognition event, (ii and iii) amplifying the signal by regeneration or replication of the target. The strategies conceived during this thesis work mainly focus on the detection of small molecules, such as hydrogen peroxide or fluoride anion, but with the idea of extending them to the indirect detection of biomarkers or proteins of interest. The first part of this thesis focuses on the molecular amplification of a signal by allosteric catalysis using the reconstitution reaction of a given apoenzyme with its cofactor. For this, an inactive apo-sGDH is brought into contact with a derivative of its cofactor PQQ incapable of reactivating it and which has been designed to be specific to a given target molecule (here, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or F<sup>-</sup>). In the presence of the target, the pro-PQQ cleaves to release the cofactor PQQ which immediately fits into the enzyme pocket of the sGDH and activates it. The second part of this thesis is based on the implementation of catalytic and auto-catalytic amplification systems for the detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, thanks to pro-quinonic derivatives bearing boronic acid/ester group. The oxidative deprotection of the boronic acid/ester derivatives of the pro-QH<sub>2</sub> derivatives by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> makes it possible to liberate one equivalent of hydroquinone, which in the presence of molecular oxygen rapidly oxidizes to quinone and generates one equivalent of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The distinction between catalytic and auto-catalytic systems is based on whether H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is regenerated or amplified during the reaction. .

*Keywords.* - Molecular amplification - Enzymatic reconstitution - Biocatalyst activation – Autocatalysis – Kinetic - Analytical chemistry

### Jury de thèse Thesis Jury

<b>Rapporteurs :</b>	Nicolas Pluméré	Pr, Université de Ruhr, Bochum, Allemagne
	Karine Reybier	MCF, Université Paul Sabatier, Toulouse
<b>Examineurs :</b>	Elisabeth Davioud-Charvet	DR CNRS, ECPM, Strasbourg
	Ludovic Jullien	Professeur, Ecole Nationale Supérieure, Paris
<b>Directeur de thèse :</b>	Benoît Limoges	DR CNRS, Université Paris Diderot, Paris
<b>Invités :</b>	François Mavré	MCF, Université Paris Diderot, Paris
	Mathieu Branca	MCF, Université Paris Diderot, Paris