

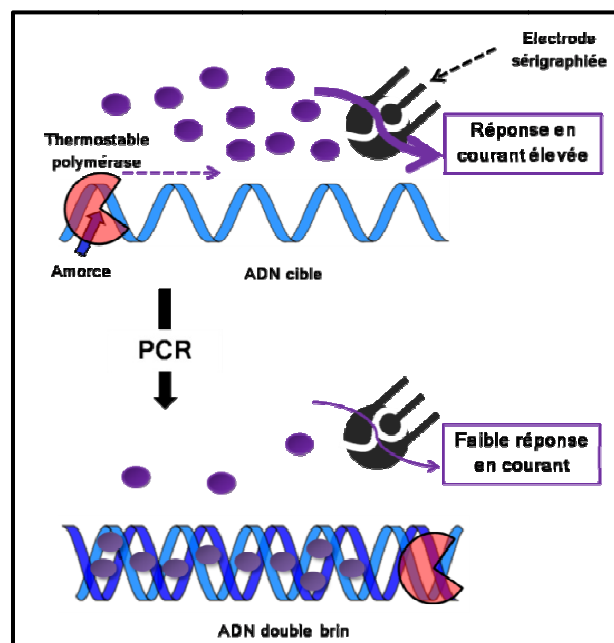


Thèse Mélanie Moreau

ÉVALUATION DES PERFORMANCES ANALYTIQUES DE LA PCR ÉLECTROCHIMIQUE EN TEMPS RÉEL ET ANALYSE DE BIOMOLÉCULES VIA LA RÉALISATION DE COURBES DE FUSION ÉLECTROCHIMIQUES

Résumé. Détecter, quantifier, et analyser l'ADN d'une cible biologique est un enjeu majeur dans de nombreux domaines des sciences du vivant. Pour réaliser ces tests, les instruments de PCR en temps réel qui couplent amplification génique *in vitro* et détection par fluorescence, offrent simplicité d'utilisation (une seule étape), rapidité d'exécution (de quelques minutes à quelques heures), sensibilité de détection et spécificité (détection d'une cible biologique noyée dans un milieu biologique complexe). Ces derniers, du fait de la nature optique du système de détection, souffrent en revanche d'un coût d'acquisition et de maintenance élevé, sont fragiles et imposants et de ce fait difficilement miniaturisables.

Pour pallier à ces contraintes, l'équipe du LEM a développé un mode de détection alternatif basé sur une mesure électrochimique, où le détecteur composé d'électrodes sérigraphiées est directement intégré au consommable et les sondes, interagissant préférentiellement avec l'ADN double brin, sont des complexes organométalliques ou des dérivées phénoliques. Suite au développement d'un démonstrateur préindustriel en collaboration avec la startup Easy Life Science, l'objectif de ce travail de thèse a été d'évaluer et d'améliorer les performances analytiques de l'approche puis de valoriser l'instrument *via* l'ouverture de nouveaux champs applicatifs d'analyse de biomolécules notamment à travers la réalisation de courbes de fusion électrochimiques.



La PCR électrochimique en temps réel

Au cours de ces travaux, il a été montré que les performances analytiques de la PCR électrochimique en temps réel (limite de détection de l'ordre du sub-attomolaire en ADN, sensibilité de l'ordre de quelques nanomolaires en ADN, large gamme de concentrations mesurables et reproductibilité) concurrençaient désormais celles offertes par les approches optiques commercialisées. De plus, la réalisation de courbes de fusion électrochimiques de biomolécules a permis l'analyse fine de divers variants génétiques (substitution nucléotidique de type SNP et mise en évidence de l'hétérozygotie) et le suivi du changement conformationnel de protéines pour l'évaluation de leur thermostabilité (en fonction de la composition du milieu et de la présence de ligands).

In fine, l'objectif sera de proposer un dispositif instrumental aux multiples applications électroanalytiques, robuste, à bas coût, transportable et offrant des performances analytiques compétitives du marché actuel.

Mots clés : PCR électrochimique en temps réel, voltamétrie à vague carrée, sonde redox, complexe d'osmium, constante d'affinité, courbe de fusion électrochimique, température de fusion, variants génétiques, *single nucleotide polymorphism*, thermostabilité de protéines, changements conformationnels de biomolécules.

Soutenance lundi 18 novembre 2013, 14h00 - Université Paris Diderot - Paris 7 – Bât. Lavoisier, 7e étage Salle 774 - 15 rue J.-A. de Baïf, 75013 Paris