

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **13 décembre 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame Mathilde MANCEAU**

Titre de la thèse : Nouvelles stratégies de caractérisation d'aptamères et de fonctionnalisation d'électrodes imprimées en 3D : vers des apta-capteurs pour la détection bactérienne

### Résumé



La présence de micro-organismes pathogènes dans les produits alimentaires est un véritable enjeu de santé publique. Parmi eux, *Bacillus cereus* est une bactérie causant des intoxications alimentaires. Pouvant contaminer le sol, l'air, le riz, les légumes et les produits laitiers, sa présence dans des préparations lactées pour nourrissons peut avoir de graves conséquences pour ces derniers. Les méthodes officielles de détection de cette bactérie sont fastidieuses, longues et ont des sensibilités limitées. Les biocapteurs électrochimiques répondent à cette problématique. Ils sont composés d'un élément de reconnaissance, le biorécepteur, associé à un transducteur qui transforme l'information biochimique en un signal exploitable. Les aptamères sont des biorécepteurs reconnaissant un analyte spécifique grâce à leur structure tridimensionnelle unique. Cependant, leur conformation est étroitement liée aux conditions expérimentales. Afin de confirmer leur affinité envers une molécule cible, il est nécessaire de tester les aptamères dans différentes conditions d'analyse et avec plusieurs techniques. Or, du fait de la difficulté de travailler avec des cellules bactériennes, les méthodes d'analyse permettant d'étudier les interactions aptamère/bactérie pour évaluer leur affinité sont peu nombreuses et délicates à mettre en œuvre. La première partie de cette thèse porte sur le développement d'une méthode d'imagerie par résonance des plasmons de surface (SPRi) permettant de comparer l'affinité de différents aptamères envers *B. cereus*. La SPRi étant peu sensible aux grands analytes tels que les bactéries, l'utilisation de vésicules de la membrane bactérienne de *B. cereus*, appelées nanosomes, a permis d'augmenter la sensibilité d'un facteur 30 par rapport à l'utilisation de bactéries entières. L'aptamère montrant la plus forte affinité et spécificité a été retenu. Suite à cette étude, l'aptamère a été greffé sur des électrodes carbonées imprimées en 3D en utilisant la chimie des aryldiazoniums. C'est la première fois que ce type de greffage est réalisé sur

des électrodes imprimées par dépôt de matière fondue (FDM). Deux procédés d'activation de la surface ont été comparés : i) électrochimique par voltampérométrie cyclique dans une solution de soude ou ii) physique par plasma d'oxygène. Ce dernier a permis d'obtenir les performances électrochimiques et les taux de greffage les plus élevés sur deux matériaux distincts, chacun comportant des allotropes de carbone (noir de carbone, seul ou en présence de nanotubes de carbone et de graphite) incorporés dans une matrice d'acide polylactique. Enfin, dans une troisième partie, une analyse structurale de l'aptamère sélectionné a révélé la présence de G-quadruplexes. Cette étude a été menée par résonance magnétique nucléaire, dichroïsme circulaire et mesure d'absorbance. Une structure tridimensionnelle du G-quadruplexe le plus stable a été proposée. Ces études ouvrent la voie au développement d'un apta-capteur sensible et spécifique à *B. cereus* et apportent une contribution notable dans le domaine plus global des apta-capteurs.

**Mots-clés :** Aptamère, *Bacillus cereus*, Biocapteur, Résonance plasmonique de surface, Impression 3D, G-quadruplexe,