



HAL
open science

Organisations multi-échelles de nanobâtonnets semi-conducteurs par auto-assemblage : synthèse, structures et propriétés optiques

Thomas Bizien

► **To cite this version:**

Thomas Bizien. Organisations multi-échelles de nanobâtonnets semi-conducteurs par auto-assemblage : synthèse, structures et propriétés optiques. Matériaux. Université de Rennes, 2014. Français. NNT : 2014REN1S062 . tel-01127374

HAL Id: tel-01127374

<https://theses.hal.science/tel-01127374>

Submitted on 7 Mar 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Chimie

Ecole doctorale Science de la matière

présentée par

Thomas Bizien

Préparée à l'unité de recherche 6251 IPR
Institut de Physique de Rennes
UFR Science de la matière

**Organisations multi-
échelles de
nanobâtonnets semi-
conducteurs par
auto-assemblage:
Synthèse, structures
et propriétés
optiques.**

**Thèse soutenue à Rennes
le 7 Février 2014**

devant le jury composé de :

Laurence RAMOS
Directrice de recherche LCC / *rapporteur*

Thierry GACOIN
Directeur de recherche École polytechnique /
rapporteur

François AMBLARD
Directeur de recherche / Institut Curie *examineur*

Maciej LORENC
Chargé de recherche IPR/ *examineur*

Franck Artzner
Directeur de recherche IPR / *directeur de thèse*

Valérie Marchi
Directeur de recherche SCR / *co-directeur de thèse*



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Chimie

Ecole doctorale Science de la matière

présentée par

Thomas Bizien

Préparée à l'unité de recherche 6251 IPR
Institut de Physique de Rennes
UFR Science de la matière

**Organisations multi-
échelles de
nanobâtonnets semi-
conducteurs par
auto-assemblage:
Synthèse, structures
et propriétés
optiques.**

**Thèse soutenue à Rennes
le 7 Février 2014**

devant le jury composé de :

Laurence RAMOS
Directrice de recherche LCC / *rapporteur*

Thierry GACOIN
Directeur de recherche École polytechnique /
rapporteur

François AMBLARD
Directeur de recherche / Institut Curie *examineur*

Maciej LORENC
Chargé de recherche IPR/ *examineur*

Franck Artzner
Directeur de recherche IPR / *directeur de thèse*

Valérie Marchi
Directeur de recherche SCR / *co-directeur de thèse*

Avant propos

Ces dernières années ont montré un très fort développement des recherches sur l'auto-assemblage et sur les nanotechnologies. Ces nouveaux domaines de recherche, trouvent des applications dans la plupart des domaines scientifiques en allant du relargage de principe actifs à la formation de matériaux miniaturisés.

Le comportement singulier des nanoparticules semi-conductrices a fortement intéressé les chercheurs. En effet, leurs tailles induit un comportement quantique qui résulte par exemple à des interactions particulières avec la lumière. Sous l'effet de la lumière, des nanoparticules semi-conductrices vont fluorescer à une longueur d'onde qui est fonction de la taille de la nanoparticule. Lors de l'assemblage de ces nanoparticules, ces propriétés peuvent être exaltées.

Ces assemblages ont également montrés des propriétés lasers lorsqu'ils sont associés à des milieux amplificateurs. Ces assemblages sont obtenus par séchage d'une suspension colloïdale entre un substrat et une surface plane. Néanmoins, le fait d'assembler et d'organiser des nanoparticules sur plusieurs échelles de tailles est peu étudié.

Dans cette thèse, nous aurons pour objectif de fabriquer des matériaux présentant la génération de nouvelles propriétés optiques collectives grâce à l'assemblage de nanoparticules structurés et dirigés géométriquement. Afin d'y parvenir, nous allons utiliser des particules anisotropes semi-conductrices hydrophiles en suspensions colloïdale qui vont être assemblées par séchage ou par interactions avec un substrat organique et d'autre type de nanoparticules. Le manuscrit va être organisée en 6 parties.

Nous introduirons dans le premier chapitre les propriétés des nanoparticules utilisées et expliqueront leurs méthodes de synthèse. Nous regarderons également les techniques possibles permettant leur assemblage à travers la fonctionnalisation chimique de leurs surfaces et les différentes techniques de formation de matériaux. Nous expliquerons finalement le choix de notre stratégie.

Les protocoles expérimentaux ainsi que les techniques utilisées pour les synthèses, la fonctionnalisation, les caractérisations chimiques et physiques et les méthodes d'assemblage seront détaillées dans le deuxième chapitre.

Le chapitre trois décrit la synthèse des nanoparticules et des ligands peptidiques mais aussi sur leur caractérisation. Nous décrirons également la méthode de l'échange de ligands et la caractérisation de celui-ci.

Nous développerons dans les chapitres 4 et 5 deux méthodes différentes d'assemblage. La principale méthode consiste au séchage sous un moule microstructuré de PDMS d'une suspension de nanoparticules qui interagissent entre elles par répulsion électrostatique, ce qui résulte en la formation de structures macroscopiques. Les deux autres méthodes secondaires utiliseront les interactions attractives électrostatiques entre des nanobâtonnets anioniques et des lamelles de phospholipides cationiques, et à la formation de structure par hybridation de brins d'ADN complémentaire entre des particules semi-conductrices et métalliques.

Enfin le dernier chapitre présentera les mesures optiques effectuées sur les différents matériaux obtenus et permettra de corrélérer quand à l'apparition de propriétés remarquables.

Table des matières

Introduction	1
I. Matériaux structurés sur plusieurs échelles.	3
A. Quels objectifs pour des matériaux structurés ?	3
B. Voies de fabrication	3
1. Approche Top-down	3
2. Voie Bottom-up	4
3. Enjeux de la mise en forme macroscopique de structures obtenues par voie bottom-up	4
C. Assemblages supramoléculaires et morphologiques organisés de suspensions colloïdales.	5
1. Cristallisation de suspensions colloïdales (sphères et bâtonnets)	5
2. Formation de structures macroscopiques grâce à un contrôle morphologique.	11
3. Peut-on combiner la cristallisation colloïdale et le contrôle morphologique à une plus grande échelle ?	12
D. Exemples d'auto-assemblage des nanoparticules présentant des propriétés optiques.	13
E. Optimisation du système colloïdal.	15
II. Propriétés des nanoparticules semi-conductrices anisotropes.	15
A. Propriétés intrinsèques	16
B. Croissance anisotrope par épitaxie	17
C. Chimie de surface	20
1. Fonctionnalisation	20
2. Les ligands	21
D. Choix des ligands	22
III. Conclusion et plan de la thèse	23
Références	26
Techniques et méthodes	31
I. Synthèse chimique	34
A. Synthèse sur support solide des peptides.	35
B. Couplage de l'ADN sur les QRs-peptide	37
C. Synthèse de nanobâtonnets semi-conducteurs (QRs)	38
1. Synthèse des Germes de CdSe	38
2. Synthèse de la coquille de CdS	39
II. Techniques de caractérisation chimique	39
A. Spectrométrie de masse	39
B. Technique d'analyse par HPLC	40
C. RMN	41
1. Technique d'enregistrement des spectres	41
2. Préparation des échantillons à analyser	43
III. Caractérisation colloïdale	43
A. Détermination de la taille par diffusion dynamique de la lumière (DLS)	43
B. Détermination de la charge par zétamétrie	44
C. Caractérisation chimique de la couche organique de ligand par FTIR.	44
IV. Techniques optiques	45

A. Spectroscopie UV-Visible	45
B. Microscopie optique	45
C. Fluorescence.....	45
1. Fluorimétrie sur un ensemble de NPs	45
2. Micro-spectrométrie de fluorescence ponctuelle	46
V. Microscopies électroniques	47
A. Microscopie électronique à transmission (TEM et HRTEM/STEM).....	47
B. Microscopie électronique à balayage	48
VI. Technique des Rayons X.....	48
A. Préparation des échantillons	49
B. Les différentes lignes	49
C. Synchrotron Soleil, ligne SWING.....	49
D. Au laboratoire (IPR).....	49
E. Intégrations et interprétation des résultats.....	49
VII. Préparation d'échantillons.....	50
A. Vesicules	50
1. LUV (Large Unilamellar Vesicles).....	50
2. SUV (Small Unilamellar Vesicles)	51
B. Formation du réseaux de murs de QR	51
1. PDMS	51
2. Formation du réseau de mur.....	52
Références.....	54
Synthèses des partenaires et fonctionnalisations.....	56
I. Synthèse des ligands peptidiques	58
A. Synthèse.....	58
1. Choix de la stratégie.....	58
2. Exemple de synthèse d'un peptide.....	59
B. Caractérisation des peptides.....	60
1. Spectrométrie de masse.....	60
2. Détermination de la pureté par HPLC.....	61
3. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	61
II. Synthèse de nanocristaux semi-conducteurs anisotropes.....	63
A. Synthèse du germe/cœur des Quantum Rods.....	64
B. Synthèse de la coquille de CdS.....	64
C. Caractérisation des particules.....	65
1. Caractérisation des germes de CdSe	65
2. Caractérisations des QRs hydrophobes	66
3. Caractérisation de la chimie de surface.....	70
III. Echange de ligands.....	73
A. L'échange de ligands.....	73
B. Caractérisation des QRs hydrophiles	73
1. RMN du phosphore et du proton.....	74
2. Propriétés optiques en solution	78
3. Propriétés colloïdales	79

C. Fonctionnalisation avec de l'ADN	82
1. Protocole.....	83
2. Caractérisation.....	83
IV. Conclusion et discussion.	84
Références	87
Auto-assemblage de nanoparticules	89
I. Etude des nanoparticules semi-conductrices en capillaire	91
A. QRs en suspension	91
B. Structuration de nanoparticules par séchage en capillaire	93
1. Séchage à partir d'une solution organique	95
2. Séchage à partir du solution aqueuse	99
C. Discussion	105
II. Séchage d'une suspension de QRs avec une surface micro-structurée.	106
A. Etude du séchage à l'échelle macroscopique.	106
1. Suivi de la formation de structures macroscopiques.....	107
B. Structure interne des murs	109
1. Exploration des structures par SEM.....	109
2. Etude des structures formées.....	110
C. Discussion	116
III. Conclusion	116
Références	119
Formation de structures hybrides	121
I. Formation de phases hybrides par attraction électrostatique	123
A. Introduction	124
1. Choix du système ligand/QRs	124
2. Choix des vésicules	124
B. Dosage par Zétamétrie	125
C. Auto-assemblages de particules anisotropes avec des SUVs.	127
1. Préparation des échantillons.....	127
2. Analyse en microscopie optique	128
3. Analyse par rayons X.....	129
II. Formation de phase cristallines par reconnaissance d'ADN	133
A. Caractérisation des assemblages par SEM.	135
B. Détermination de la structure cristalline par SAXS	137
III. Conclusion	138
Références	141
Étude des propriétés de fluorescences	143
I. Propriétés de Fluorescence des QRs en suspension	145
A. Suivi de la synthèse par émission de Fluorescence	145
B. Effet de l'échange de ligands	146
C. Spectre d'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect	148
D. Mesures des temps de vie	149

II. Spectroscopie sur particule unique	151
A. Mesures des temps de vie.....	151
B. Spectres d'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect	153
III. Etude des propriétés de fluorescence sur les assemblages.	155
A. Séchage spontané.....	155
B. Séchage dirigé organisé en « murs »	156
1. Mesures de l'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect.....	157
2. Mesure des temps de vie	158
IV. Etude des assemblages hybrides.	160
A. Assemblage par interaction électrostatique QRs/phospholipides.....	160
B. Assemblage par hybridation de l'ADN	161
1. Extinction de la fluorescence.	162
2. Apparition d'un nouveau pic de fluorescence.....	163
3. Exaltation de la fluorescence.....	163
D. Discussion.....	165
V. Conclusion	166
Références.....	169
Conclusion générale	171
Glossaire	174

Chapitre I: Introduction

Introduction	1
I. Matériaux structurés sur plusieurs échelles	3
A. Quels objectifs pour des matériaux structurés ?	3
B. Voies de fabrication	3
1. Approche Top-down	3
2. Voie Bottom-up	4
3. Enjeux de la mise en forme macroscopique de structures obtenues par voie bottom-up.	4
C. Assemblages supramoléculaires et morphologiques organisés de suspensions colloïdales.	5
1. Cristallisation de suspensions colloïdales (sphères et bâtonnets)	5
a) Système répulsif ou neutre.....	5
b) Cristallisation par attraction entre partenaires	8
c) Cristallisation par effet template.....	10
2. Formation de structures macroscopiques grâce à un contrôle morphologique.....	11
3. Peut-on combiner la cristallisation colloïdale et le contrôle morphologique à une plus grande échelle ?	12
D. Exemples d'auto-assemblage des nanoparticules présentant des propriétés optiques.	13
E. Optimisation du système colloïdal	15
II. Propriétés des nanoparticules semi-conductrices anisotropes	15
A. Propriétés intrinsèques	16
B. Croissance anisotrope par épitaxie	17
C. Chimie de surface	20
1. Fonctionnalisation.....	20
2. Les ligands	21
D. Choix des ligands	22
III. Conclusion et plan de la thèse	23
Références	26

I. Matériaux structurés sur plusieurs échelles.

La formation de structures organisées est un challenge actuellement. Ces systèmes présentent de nombreux avantages et permettent l'apparition de propriétés intéressantes. Il existe dans la formation de matériaux deux approches différentes qui peuvent être combinées afin d'obtenir des matériaux structurés sur plusieurs échelles.

Les deux méthodes de formation de matériaux seront introduites, ainsi que leurs avantages/inconvénients illustrés par quelques exemples. La possibilité de coupler ces deux techniques en choisissant un milieu de travail compatible avec celles-ci permet de générer un matériau structuré à différentes échelles : de la nanostructuration jusqu'à la mise en forme macroscopique.

A. Quels objectifs pour des matériaux structurés ?

Des matériaux 3D, qui possèdent des réseaux de structures périodiques diélectriques à l'échelle de la longueur d'onde de la lumière, offrent la possibilité de contrôler et de manipuler la lumière. Cela ouvre la possibilité de générer des états électromagnétiques permettant l'apparition de nouveaux phénomènes et donc de nouvelles applications dans l'optique.

Les interactions entre les constituants de ces matériaux dans des structures particulières vont permettre de faire apparaître des fonctionnalités allant d'interactions avec la lumière au relargage spécifique de principes actifs en médecine. Par exemple il est possible de créer des matériaux qui du fait de leur grande largeur de bande interdite photonique, peuvent être utilisés comme un filtre passe-bande pour l'optique.¹ Il est également possible de réaliser des structures de taille nanométrique combinant des nanoparticules, un principe actif médicamenteux et une membrane de phospholipides qui permet grâce à une fonctionnalisation de surface de cibler spécifiquement des cellules malades.²

En effet, des nouveaux besoins en matériaux possédant des propriétés particulières émergentes sont actuellement nécessaires. Afin d'obtenir des matériaux possédant de telles propriétés, il est nécessaire de les préparer sous la forme de structures spécifiques et/ou d'utiliser des mélanges de matériaux. Cette structuration peut se faire sur des échelles multiples, afin d'obtenir directement un matériau qui va posséder une structure 3D nanométrique permettant d'interagir avec la lumière par exemple mais également une structure macroscopique aboutissant à l'obtention du matériau sous sa forme finale directement.

B. Voies de fabrication

Il existe plusieurs façons de créer des matériaux structurés en 3D. Les deux techniques principales possèdent une approche différente : l'une part d'un objet massif afin de le structurer par des techniques de lithographie tandis que l'autre va utiliser des briques élémentaires et les positionner les unes à côté des autres pour les structurer.

1. Approche Top-down

La voie dite top-down consiste à prendre un objet massif et à le graver. Ces techniques de gravure sont généralement basées sur la photosensibilité du matériau. Une fois le matériau exposé, celui-ci suit une étape dite de développement. La lithographie classique consiste à masquer une partie du matériau de la source lumineuse.¹ D'autres techniques existent également : la lithographie holographique, qui se base sur les interférences lumineuses provenant de plusieurs sources et qui

1. S. Y. Lin, J. G. Fleming, D. L. Hetherington, B. K. Smith, R. Biswas, K. M. Ho, M. M. Sigalas, W. Zubrzycki, S. R. Kurtz, J. Bur, A three-dimensional photonic crystal operating at infrared wavelengths. *Nature* **394**, 251-253 (1998).

2. D. J. Irvine, Drug delivery: One nanoparticle, one kill. *Nat Mater* **10**, 342-343 (2011).

permet la création de matériaux 3D³ et la lithographie point par point, où le matériau est exposé à une source résolue dans l'espace (figure.I.1).⁴

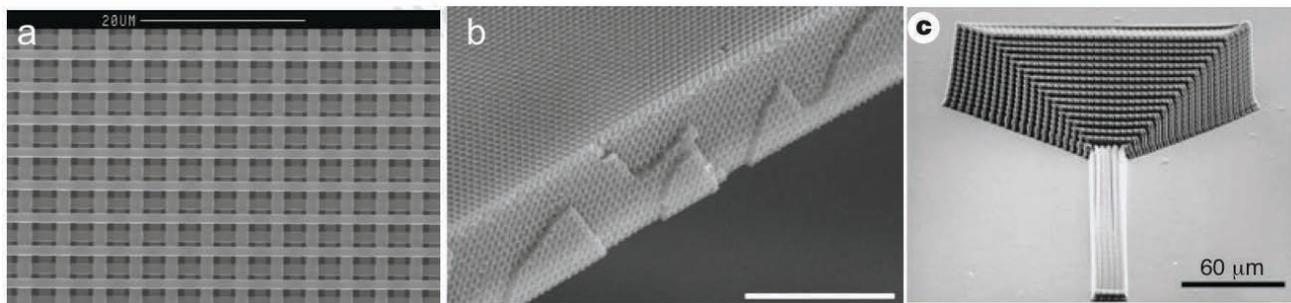


Figure.I.1. Exemples de cristaux photoniques obtenus par voie top down. a)lithographie conventionnelle b) lithographie holographique à interférences lumineuses et c) lithographie à deux photons.

Ces façons de faire permettent d'obtenir un objet macroscopique sans défaut, mais se heurtent à des problèmes de résolution spatiale dus à l'utilisation de la lumière. De nouveaux procédés utilisant la lithographie aux rayons X, faisceaux d'électrons ou d'ions permettent de descendre vers de plus petites échelles⁵. Ces avancées sont tout de même limitées pour la fabrication de matériaux en trois dimensions.

2. Voie Bottom-up

La voie bottom-up est basée sur l'utilisation de briques élémentaires de dimension nanométrique. Ces briques peuvent être des nanoparticules (NPs), des peptides, des protéines et même des virus. Un matériau peut ainsi être créé en plaçant ces briques les unes à côté des autres par différentes techniques comme l'AFM⁶ qui permet de déposer côte à côte des molécules sur un substrat ou par utilisation d'un moule naturel tel que le virus de la mosaïque du tabac (effet template)⁷. L'assemblage spontané et sans application de force extérieure est également une possibilité de la voie bottom-up. Ce procédé est alors appelé un « auto-assemblage⁸ ». Il est fonction du système utilisé, des propriétés intrinsèques des briques et des interactions avec l'environnement, c'est à dire qu'il faut contrôler la chimie de surface, la monodispersité et les interactions entre les briques. Ce procédé se retrouve de l'échelle nanométrique à l'échelle macroscopique.^{7,8}

3. Enjeux de la mise en forme macroscopique de structures obtenues par voie bottom-up.

Il est intéressant de vouloir utiliser les avantages de chacune des techniques précédentes afin de fabriquer des matériaux qui sont structurés de l'échelle macroscopique à l'échelle nanométrique.

3. M. Campbell, D. N. Sharp, M. T. Harrison, R. G. Denning, A. J. Turberfield, Fabrication of photonic crystals for the visible spectrum by holographic lithography. *Nature* **404**, 53-56 (2000).

4. B. H. Cumpston, S. P. Ananthavel, S. Barlow, D. L. Dyer, J. E. Ehrlich, L. L. Erskine, A. A. Heikal, S. M. Kuebler, I. Y. S. Lee, D. McCord-Maughon, J. Qin, H. Rockel, M. Rumi, X.-L. Wu, S. R. Marder, J. W. Perry, Two-photon polymerization initiators for three-dimensional optical data storage and microfabrication. *Nature* **398**, 51-54 (1999).

5. I. Y. Yang, S. Silverman, J. Ferrera, K. Jackson, J. M. Carter, D. A. Antoniadis, H. I. Smith. (AVS, Scottsdale, Arizona (USA), 1995), vol. 13, pp. 2741-2744.

6. R. D. Piner, J. Zhu, F. Xu, S. Hong, C. A. Mirkin, "Dip-Pen" Nanolithography. *Science* **283**, 661-663 (1999); published online EpubJanuary 29, (1999).

7. E. Dujardin, C. Peet, G. Stubbs, J. N. Culver, S. Mann, Organization of Metallic Nanoparticles Using Tobacco Mosaic Virus Templates. *Nano Letters* **3**, 413-417 (2003).

8. G. M. Whitesides, B. Grzybowski, Self-Assembly at All Scales. *Science* **295**, 2418-2421 (2002); published online EpubMarch 29, (2002).

Des exemples d'assemblages macroscopiques de briques élémentaires existent. Le groupe de Manna a montré la possibilité de cristalliser des NPs en forme de bâtonnets ou Quantum Rods (QRs) en un macrocristal.⁹ Il faut cependant noter que cet assemblage se fait par séchage très lent à partir d'une suspension dans un solvant organique sous atmosphère saturée de ce même solvant.¹⁰ Cependant, cette technique ne permet pas de former des structures macroscopiques organisées et ne permet pas non plus de contrôler les interactions entre particules à l'échelle nanométrique. De plus de tels systèmes ne permettent pas l'utilisation de techniques dites douces de séchage (séchage à partir d'une solution aqueuse) ni l'utilisation d'un moule ou support non résistant à des solvants organiques.

C. Assemblages supramoléculaires et morphologiques organisés de suspensions colloïdales.

Il existe plusieurs systèmes de cristallisation de suspensions colloïdales. Nous allons ici décrire les possibilités de structuration locale d'objets sphériques ou en forme de bâtonnet, mais aussi comment réaliser des assemblages macroscopiques par contrôle morphologique. Nous concluons par la description de méthodes permettant d'assembler localement et à plus grande échelle.

1. Cristallisation de suspensions colloïdales (sphères et bâtonnets)

Il est intéressant de travailler avec des particules dont on peut contrôler les interactions par une fonctionnalisation de surface permettant l'introduction de forces répulsives/attractives. Nous allons décrire dans un premier temps les possibilités d'assemblage de particules sphériques ou de bâtonnets en l'absence ou pas de charges dans le système. De plus des particules colloïdales en suspension dans un milieu aqueux permettent d'exploiter un effet template de biomolécules par exemple

a) Système répulsif ou neutre.

La cristallisation de colloïdes peut se faire selon deux modèles: avec ou sans charges. En l'absence de charges, le système colloïdal va pouvoir cristalliser selon le modèle dit de « sphères dures » (figure.I.2.a) et en présence de charges à la surface du colloïde la cristallisation va se faire selon le modèle « sphères dures chargées » (figure.I.2.b).¹¹

9. a) M. Zavelani-Rossi, R. Krahn, G. Della Valle, S. Longhi, I. R. Franchini, S. Girardo, F. Scotognella, D. Pisignano, L. Manna, G. Lanzani, F. Tassone, Self-assembled CdSe/CdS nanorod micro-lasers fabricated from solution by capillary jet deposition. *Laser & Photonics Reviews* **6**, 678-683 (2012).

10. M. Zanella, R. Gomes, M. Povia, C. Giannini, Y. Zhang, A. Riskin, M. Van Bael, Z. Hens, L. Manna, Self-Assembled Multilayers of Vertically Aligned Semiconductor Nanorods on Device-Scale Areas. *Advanced Materials* **23**, 2205-2209 (2011).

11. a) in *Colloids and Colloid Assemblies*. (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2004); b) <http://weitzlab.seas.harvard.edu/research/jensen-katharine.html>

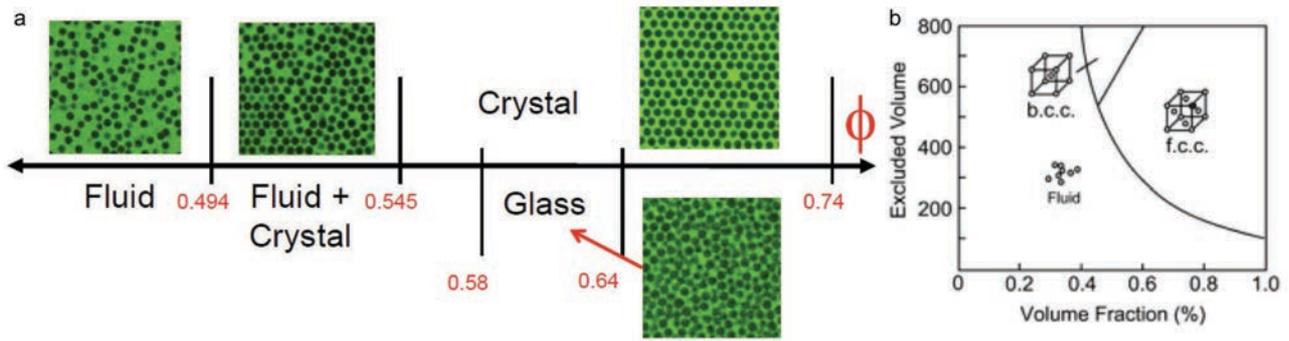


Figure.I.2. Diagrammes de phases expérimentaux de la formation de cristaux a) modèle de sphères dures en fonction du ratio volumique (Φ) (ici sur des particules de tailles millimétriques) et b) modèle sphères dures chargées.⁹

Il faut remarquer qu'il existe également des diagrammes de phase pour des particules de type cylindrique,¹² en fonction de leur rapport d'aspect. Le rapport d'aspect (RA) est le rapport de la longueur du bâtonnet sur son diamètre (figure.I.3) $RA = L/D$.

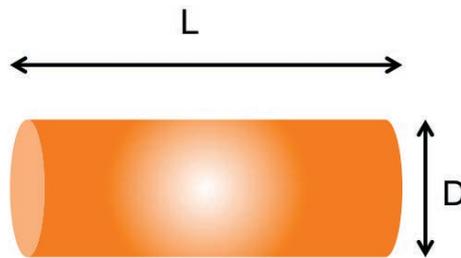


Figure.I.3. Schéma d'un bâtonnet permettant de décrire le Rapport d'aspect : $RA = L/D$

Ces bâtonnets rappellent les molécules cristal-liquide de type calamitique du fait de leur forme. Ces molécules présentent des phases cristal-liquides différentes décrites dans la figure.I.4.

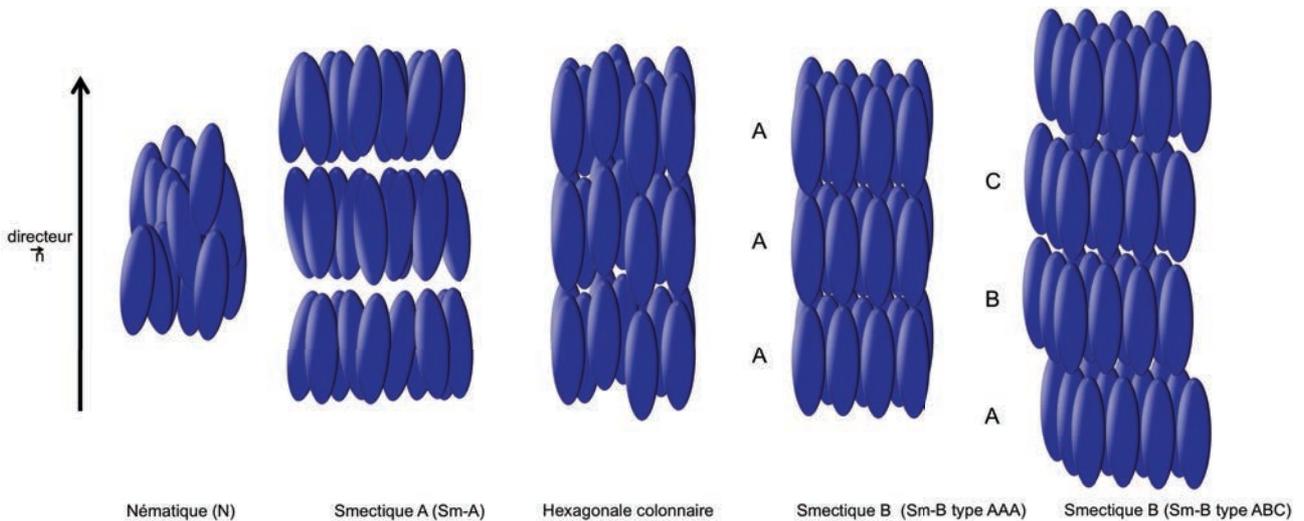


Figure.I.4. Exemples de phases cristal-liquides formées par des cristaux liquides calamitiques, les phases hexagonales colonnaire, Sm-B type AAA et type ABC présentent toute un ordre latéral de type hexagonal.

12. a) J. A. C. Veerman, D. Frenkel, Relative stability of columnar and crystalline phases in a system of parallel hard spherocylinders. *Physical Review A* **43**, 4334 (1991); b) P. Bolhuis, D. Frenkel, Tracing the phase boundaries of hard spherocylinders. *The Journal of Chemical Physics* **106**, 666-687 (1997). c) A. Kuijk, D. V. Byelov, A. V. Petukhov, A. van Blaaderen, A. Imhof, Phase behavior of colloidal silica rods. *Faraday Discussions* **159**, 181-199 (2012)).

La phase nématique se caractérise par un alignement des bâtonnets à grande échelle selon un même axe, appelé directeur, mais il n'y a pas d'ordre latéral. Les bâtonnets sont alors à une distance moyenne les uns des autres. Dans le cas d'une phase smectique A, les bâtonnets sont organisés en lamelle, dans laquelle, il n'existe cependant pas d'ordre latéral. Dans une phase hexagonale colonnaire, les bâtonnets possèdent un ordre latéral de type hexagonal mais pas d'ordre lamellaire. Les deux dernières phases, les phases smectiques B, présentent une organisation en lamelles mais également un ordre latéral de type hexagonal. Dans le cas, de la phase Sm-B type AAA, les lamelles ne sont pas décalées les une par rapport aux autres, tandis que la phase Sm-B type ABC, présente un décalage entre les lamelles A, B et C. Cette structuration Sm-B type ABC, indique un ordre cristallin à grande échelle.

Grâce à des techniques de simulation il est possible de tracer les diagrammes de phases de ces particules cylindriques en fonction de leur concentration et de leur rapport d'aspect selon le modèle cylindre dur (figure.I.5.a) et le modèle cylindre dur chargé (figure.I.5.b).

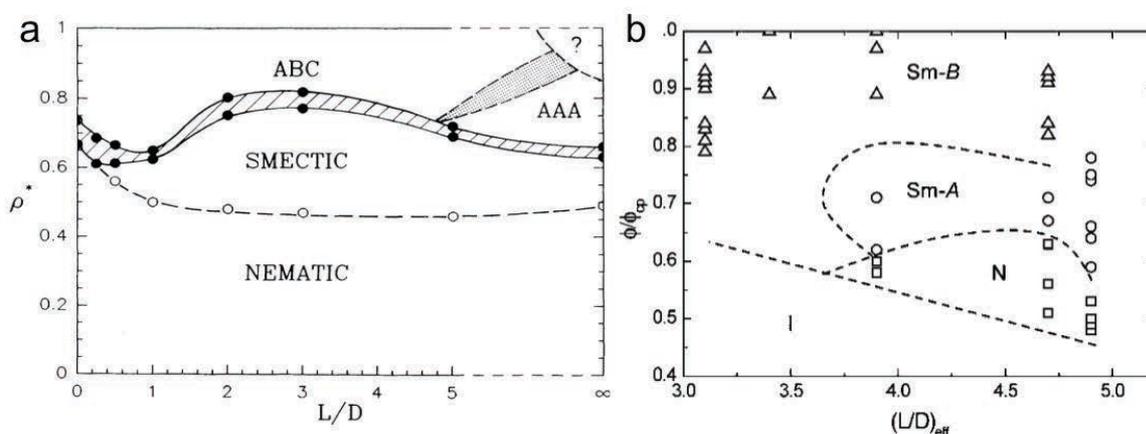


Figure.I.5. Diagrammes des phases cristallines théoriques formées par des bâtonnets selon le modèle du a) cylindre dur et b) du cylindre dur chargé. Les diagrammes sont tracés en fonction du rapport d'aspect du bâtonnet (L/D) et de la concentration en bâtonnet (ρ ou Φ / Φ_{cp}).

Un exemple de la cristallisation de type sphère dure est la formation de macrocristaux de QRs par séchage lent sous atmosphère saturée en solvant organique.⁸ Ces cristaux présentent une phase de type Smectique B, dans laquelle les QRs sont organisés en lamelle et possédant un arrangement hexagonal dans chaque lamelle (figure.I.6).

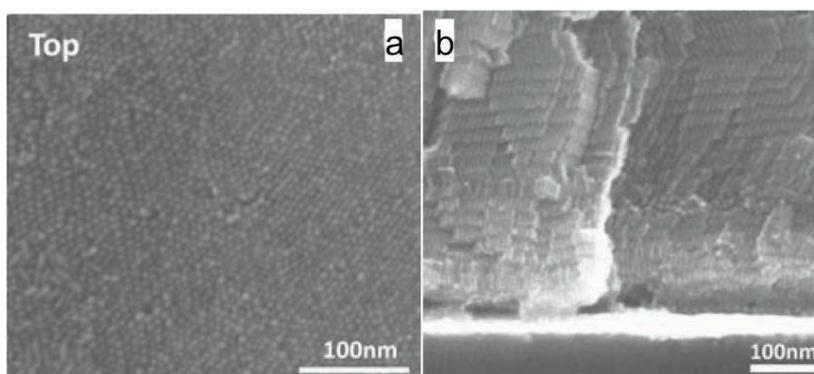


Figure.I.6. Image MEB de macrocristaux de QRs par séchage lent sous atmosphère saturée en solvant organique présentant a) un arrangement hexagonal et b) une structure lamellaire.⁸

Dans le cas du modèle chargé, la formation de macrocristaux de nanobâtonnets d'or par séchage lent sous atmosphère humide est un exemple de choix. Les bâtonnets fonctionnalisés par un ligand cationique vont former des macrostructures cylindriques de taille et géométrie comparable sur un substrat (figure.I.7.a). Lorsque ces cylindres sont observés plus finement, on y observe un arrangement de type lamellaire (figure.I.7.c) combiné à un arrangement hexagonal entre bâtonnets sur une même lamelle (figure.I.7.b).¹³

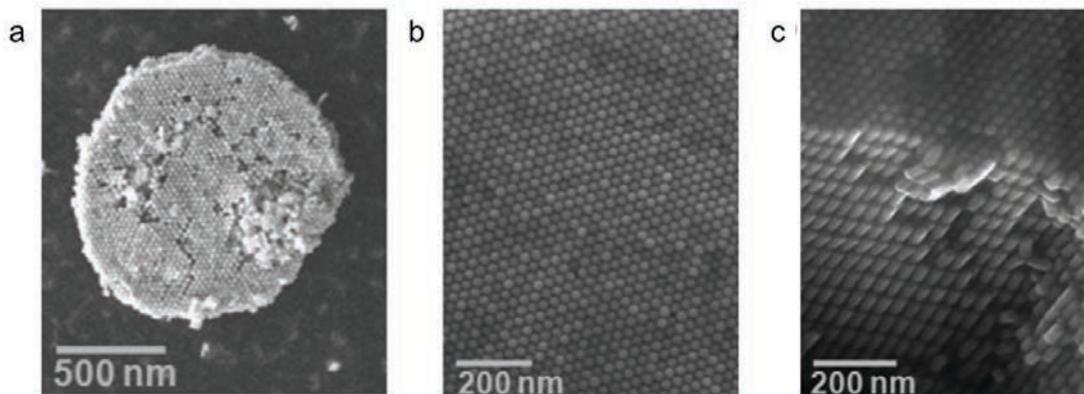


Figure.I.7 Image SEM a) d'un macrocristal de nanoparticule d'or, b) vue perpendiculaire au substrat montrant un arrangement de type hexagonal et c) image montrant la structure interne du cristal et donc la structure en lamelle.¹¹

Nous avons également montré au laboratoire la possibilité d'organiser sur une grande échelle des nanobâtonnets d'or par séchage dirigé.¹⁴

Lors de la cristallisation des colloïdes, les charges (de même signe) présentes sur les particules, vont empêcher celles-ci de se coller les une aux autres et de figer directement la structure cristalline. Les colloïdes vont alors explorer différentes positions relatives, ce qui leur permet de s'agencer lentement et de façon bien organisée dans le cristal final et donc de diminuer le nombre de défauts cristallins.

b) Cristallisation par attraction entre partenaires

La formation de cristaux de colloïdes peut être également achevée par attraction entre partenaires. Un exemple simple est la cristallisation de NPs grâce à l'hybridation de deux brins complémentaires d'ADN. Des particules sont fonctionnalisées par un brin d'ADN A et un autre lot par le brin d'ADN B. Lors de la mise en contact de ces deux lots il y aura formation de cristaux de NPs par hybridation de l'ADN A avec l'ADN B (figure.I.8).¹⁵

13. R. n. A. Alvarez-Puebla, A. Agarwal, P. Manna, B. P. Khanal, P. Aldeanueva-Potel, E. Carbà-Argibay, N. Pazos-Pérez, L. Vigderman, E. R. Zubarev, N. A. Kotov, L. M. Liz-Marzàn, Gold nanorods 3D-supercrystals as surface enhanced Raman scattering spectroscopy substrates for the rapid detection of scrambled prions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**, 8157-8161 (2011).

14. C. Hamon, M. Postic, E. Mazari, T. Bizien, C. Dupuis, P. Even-Hernandez, A. Jimenez, L. Courbin, C. Gosse, F. Artzner, V. r. Marchi-Artzner, Three-Dimensional Self-Assembling of Gold Nanorods with Controlled Macroscopic Shape and Local Smectic B Order. *ACS Nano* **6**, 4137-4146 (2012).

15. a) S. Y. Park, A. K. R. Lytton-Jean, B. Lee, S. Weigand, G. C. Schatz, C. A. Mirkin, DNA-programmable nanoparticle crystallization. *Nature* **451**, 553-556 (2008); b) D. Sun, O. Gang, Binary Heterogeneous Superlattices Assembled from Quantum Dots and Gold Nanoparticles with DNA. *Journal of the American Chemical Society* **133**, 5252-5254 (2011). c) C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *Nature* **382**, 607-609 (1996).

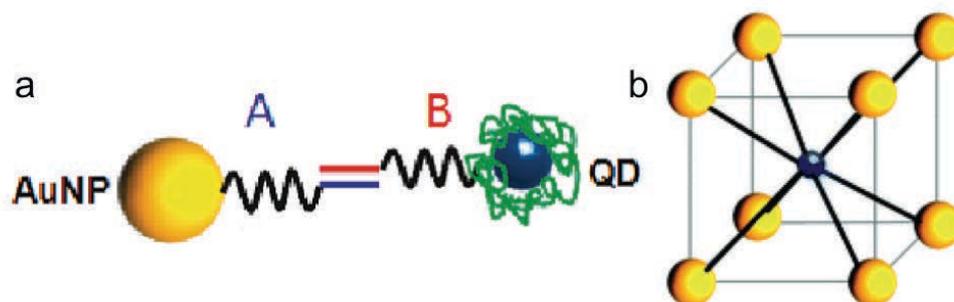


Figure.I.8. Exemple de l'interaction a) par attraction entre deux partenaires grâce à l'hybridation de deux brins d'ADN complémentaires et b) structure cristalline obtenue (ici structure cubique centrée).¹²

Un autre exemple de connecteur moléculaire est le couple biotine/streptavidine, qui permet grâce à une très grande spécificité et stabilité (constante de dissociation $K_d=10 \times 10^{-14} \text{ mol.l}^{-1}$) de former des structures spécifiques de colloïdes (figure.I.9).¹⁶

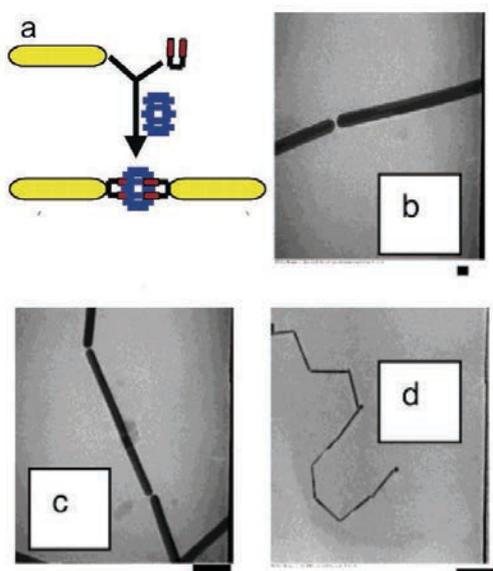


Figure.I.9. a) fonctionnalisation et interaction entre des bâtonnets d'or par interaction streptavidine/biotine b), c) et d) image TEM montrant la formation de structures linéaires de bâtonnets d'or liés bout à bout l'interaction streptavidine/biotine.¹³

En effet, lors de la mise en présence de bâtonnets d'or, fonctionnalisés spécifiquement sur leurs extrémités par un ligand disulfure portant la fonction biotine, avec des molécules de streptavidine il y a formation de chaîne de nanobâtonnets d'or grâce à la forte affinité entre la biotine et la streptavidine. Cette fonctionnalisation spécifique peut s'expliquer par deux hypothèses. Dans un premier cas, les bâtonnets d'or sont totalement couverts par le ligand portant la fonction biotine, mais du fait de la taille de la streptavidine et de la gêne stérique qu'elle va induire, celle-ci ne peut que se lier qu'aux extrémités du bâtonnet. Le deuxième cas est le fait que les extrémités des bâtonnets peuvent être fonctionnalisées par les ligands de synthèse (ici le CTAB) de façon désordonnée est donc il est plus facile pour la fonction dithiol de se lier à la surface d'or.

16. K. K. Caswell, J. N. Wilson, U. H. F. Bunz, C. J. Murphy, Preferential End-to-End Assembly of Gold Nanorods by Biotin, Streptavidin Connectors. *Journal of the American Chemical Society* **125**, 13914-13915 (2003).

c) Cristallisation par effet template

L'effet template dans le cas de la cristallisation de colloïdes consiste à utiliser un moule pour assembler les colloïdes dans une structure cristalline particulière donnée par le moule.

L'utilisation d'un moule organique tel que le virus de la mosaïque du tabac lors de la synthèse de nanoparticules (d'or, d'argent ou de platine) par réduction en solution aqueuse du sel métallique correspondant, permet de décorer spécifiquement les parois externe et interne du virus en fonction du pH et de la charge du virus lui même (figure.I.10).⁶

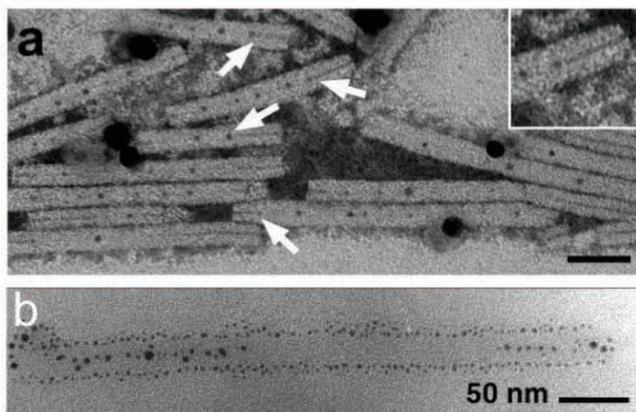


Figure.I.10. Image TEM de la a) synthèse de nanoparticules d'argent à l'intérieur du virus à pH basique et b) synthèse de NPs d'argent à l'extérieur et dans le virus par photoréduction à pH neutre.

Un deuxième exemple réalisé au laboratoire, peut être la cristallisation de quantum dots en 3D grâce à un moule fais de bicouches lipidiques lamellaires et de filaments d'actine (figure.I.11).¹⁷

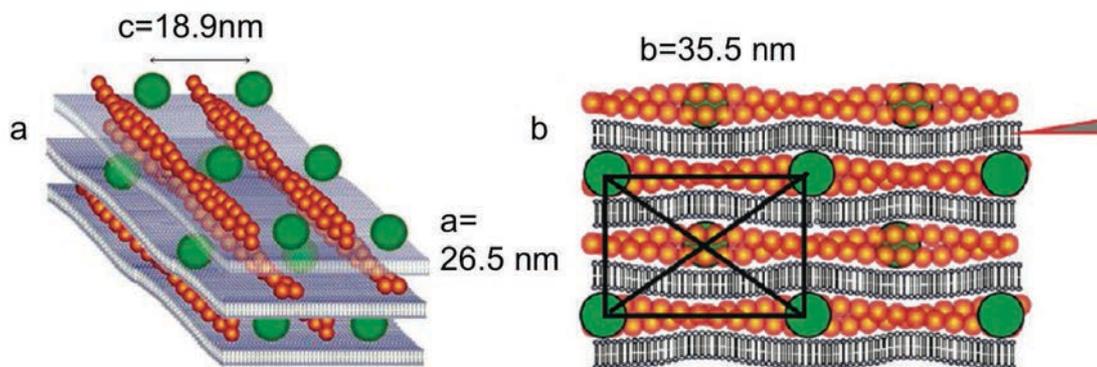


Figure.I.11. Schéma de la phase obtenue lors de l'insertion QDs dans des phases lamellaires de phospholipides cationiques/ actine a) vue en 3D et b) vue latérale.

Dans ce cas, les brins d'actine vont fixer l'interdistance entre QDs dans 2 dimensions sur une lamelle. Ces interdistances correspondent au pas de l'actine, donnant une paramètre cristallin de $b=35,5$ nm et également à la séparation entre deux QDs par le brin d'actine, donnant dans ce cas un paramètre cristallin de $c=18,9$ nm. Le troisième paramètre est fixé par l'interdistance entre deux QDs positionnés sur les lamelles n et $n+2$, dans ce cas le paramètre cristallin est de $a=26,5$ nm.

17. a) E. Henry, Université de Rennes 1, (Thèse 2007); b) E. Henry, A. I. Dif, M. Schmutz, L. Legoff, F. B. Amblard, V. r. Marchi-Artzner, F. Artzner, Crystallization of Fluorescent Quantum Dots within a Three-Dimensional Bio-Organic Template of Actin Filaments and Lipid Membranes. *Nano Letters* **11**, 5443-5448 (2011).

2. Formation de structures macroscopiques grâce à un contrôle morphologique.

Cette technique consiste à fabriquer des motifs topographiques ou chimiques sur la surface des substrats. On peut alors piéger des nanoparticules dans des trous ou des rainures gravées par lithographie. Une autre technique consiste à les déposer localement sur un substrat selon un motif particulier constitué d'une monocouche de molécules Self-Assembled Monolayers (SAMs). Ce motif permet alors, par interactions chimiques (couplage chimique, interactions électrostatiques...), de former des structures macroscopiques organisées.¹⁸

Il est possible également de déposer des nanoparticules sur des réseaux de billes de latex organisées en 2D et d'obtenir des réseaux de NPs dans les interstices entre billes (figure.I.12).¹⁹

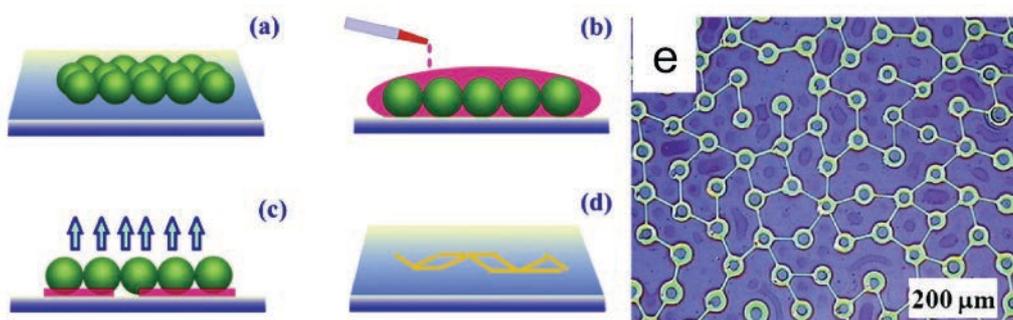


Figure.I.12. Schéma du processus de formation des réseaux de nanoparticules a) dépôt de billes de latex sur un substrat, b) ajout de la solution de NPs sur les billes, c) évaporation du solvant aqueux ,d) réseaux de NPs d'or après avoir retiré les bille de latex et e) image de microscopie des réseaux de NPs lors de l'utilisation de billes de latex de 100µm.

Enfin, des NPs en suspension peuvent être séchées entre un substrat et une surface structurée permettant de confiner verticalement les NPs lors du séchage (formation de murs de NPs) et donc de les condenser dans les réseaux formés.²⁰

Marie Postic a développé lors de sa thèse, un système simple permettant de former de façon dirigée des objets macroscopiques par séchage (figure.I.13).²¹

18. a) C. D. Bain, G. M. Whitesides, Modeling Organic Surfaces with Self-Assembled Monolayers. *Angewandte Chemie International Edition in English* **28**, 506-512 (1989); b) J. D. Le, Y. Pinto, N. C. Seeman, K. Musier-Forsyth, T. A. Taton, R. A. Kiehl, DNA-Templated Self-Assembly of Metallic Nanocomponent Arrays on a Surface. *Nano Letters* **4**, 2343-2347 (2004).

19. I. U. Vakarelski, D. Y. C. Chan, T. Nonoguchi, H. Shinto, K. Higashitani, Assembly of Gold Nanoparticles into Microwire Networks Induced by Drying Liquid Bridges. *Physical Review Letters* **102**, 058303 (2009).

20. S.-W. Lee, S. C. Park, Y. Lim, B. Lee, S.-D. Lee, Polymorphic Meniscus Convergence for Construction of Quasi-Periodic Assemblies and Networks of Colloidal Nanoparticles. *Advanced Materials* **22**, 4172-4175 (2010).

21. M. Postic, université de Rennes 1, Rennes (Thèse, 2012).

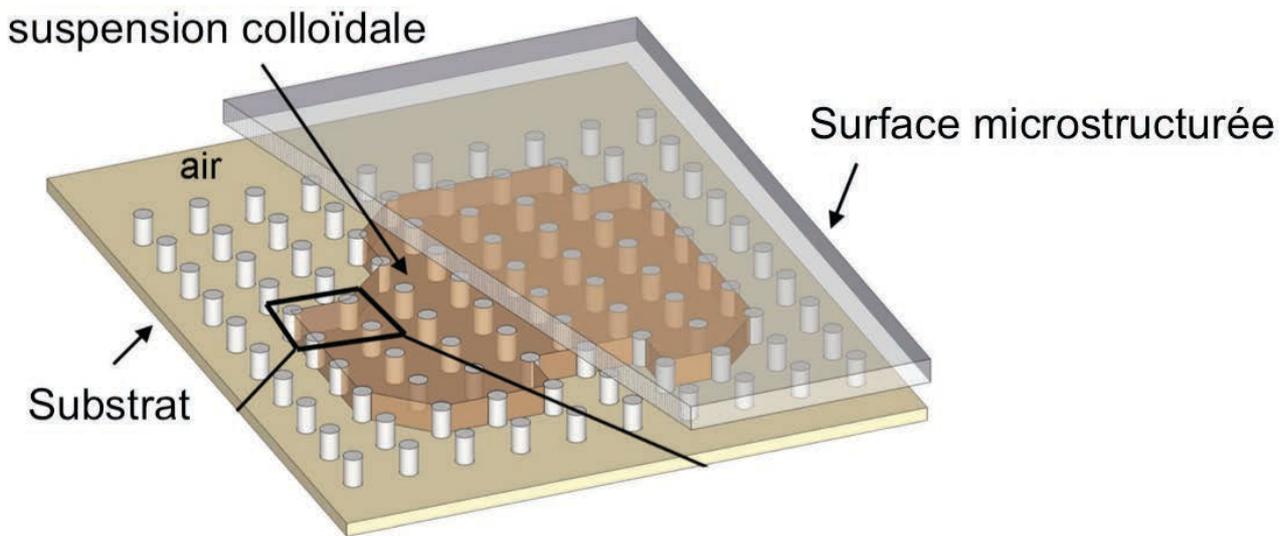


Figure.I.13. Représentation schématique de la stratégie permettant de condenser les nanoparticules et de former des macrostructures.

La formation de murs se fait en déposant une goutte de suspension de NPs et une faible quantité de surfactant sur une surface (verre, ITO, silicium) et en appliquant un moule microstructuré en PDMS. Ce moule se compose d'un réseau de plots cylindriques espacés régulièrement. Le modèle de surface utilisé ici est composé de plots espacés centre à centre de $175\ \mu\text{m}$ pour une taille de plots de $100\ \mu\text{m}$ et possédant une hauteur de $35\ \mu\text{m}$.

Après avoir recouvert la goutte de suspension colloïdale par le moule de PDMS, celle-ci s'étale entre les plots dans un volume limité en hauteur. La suspension possède alors de multiples interfaces air/eau/ reliées à deux plots consécutifs. L'évaporation de la solution correspond à diminution de l'aire de la goutte induisant alors le recul des ménisques entre les plots.

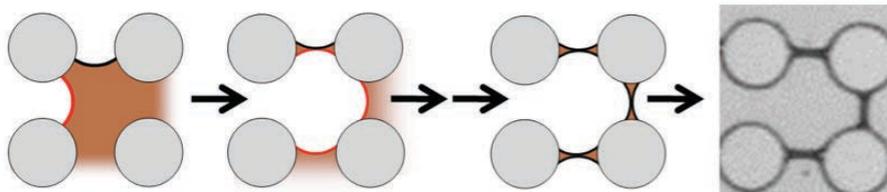


Figure.I.14. Schéma simple montrant la formation de mur entre plot de PDMS par démouillage.

Lorsque le ménisque rouge rencontre le ménisque noir (figure.I.14) il y a formation d'un mur qui permet de condenser les NPs.

3. Peut-on combiner la cristallisation colloïdale et le contrôle morphologique à une plus grande échelle ?

Après avoir introduit différentes techniques de cristallisation et de formation de structures macroscopiques, par des méthodes douces et simples, il nous faut maintenant étudier la possibilité de cristalliser des NPs à l'échelle nanométrique et dans un même temps structurer le cristal obtenu à grande échelle. Le premier point à définir est le solvant de travail. Comme nous l'avons vu, l'eau est un solvant de choix permettant d'introduire à la surface des colloïdes des charges, des biomolécules. Cela permet aussi un contrôle plus simple des conditions de cristallisation. Les techniques permettant d'obtenir de tels matériaux vont alors devoir combiner à la fois les

techniques top-down et bottom-up. L'eau va être un solvant simple à utiliser, il n'y a pas besoin d'équipement particulier, de plus la cristallisation résultant de l'évaporation de l'eau peut se faire à température ambiante et ne sera ni trop lente ni trop rapide. Les particules vont devoir être fonctionnalisées par des molécules permettant leur solubilisation et stabilité en milieux aqueux. Ces ligands vont devoir également apporter des charges permettant des interactions électrostatiques entre colloïdes, voire l'introduction de biomolécules comme l'ADN.

Le deuxième point à étudier est la possibilité de créer des structures faites de nanoparticules organisées à l'échelle macroscopiques. Nous avons montré que cela est possible dans la partie **I.C.2**. En utilisant cette méthode de séchage lent, nous pouvons former des murs de particules entre des plots.

L'objectif de cette thèse est de combiner une cristallisation de colloïdes par interaction électrostatique dans l'eau et sous un moule permettant une structuration à grande échelle.

D. Exemples d'auto-assemblage des nanoparticules présentant des propriétés optiques.

Il existe un large choix de NPs dont les propriétés optiques sont originales tant par leur composition que par leur forme et leur taille. Comme nous souhaitons utiliser des nanoparticules fluorescentes, notre choix s'est porté sur des NPs semi-conductrices. Le travail sur l'auto-assemblage de nanoparticules fluorescentes est relativement récent.²²

Les travaux sur l'auto-assemblage se sont focalisés sur l'idée de fabriquer des lasers à semi-conducteur (quantum dots) avec un seuil de fonctionnement bas.²³ Pour cela, il faut être capable de condenser les QDs afin de diminuer les pertes radiatives par recombinaison Auger et également permettre l'émission stimulée d'un grand nombre de particules, le tout associé à un pompage rapide du matériau couplé à une microcavité adaptée au système (figure.I.15).^{24,25,26}

22. M. Grzelczak, J. Vermant, E. M. Furst, L. M. Liz-Marzàn, Directed Self-Assembly of Nanoparticles. *ACS Nano* **4**, 3591-3605 (2010).

23. S. Noda, Seeking the Ultimate Nanolaser. *Science* **314**, 260-261 (2006).

24. V. I. Klimov, A. A. Mikhailovsky, S. Xu, A. Malko, J. A. Hollingsworth, C. A. Leatherdale, H.-J. Eisler, M. G. Bawendi, Optical Gain and Stimulated Emission in Nanocrystal Quantum Dots. *Science* **290**, 314-317 (2000).

25. M. Kazes, D. Y. Lewis, Y. Ebenstein, T. Mokari, U. Banin, Lasing from Semiconductor Quantum Rods in a Cylindrical Microcavity. *Advanced Materials* **14**, 317-321 (2002).

26. J. N. Cha, M. H. Bartl, M. S. Wong, A. Popitsch, T. J. Deming, G. D. Stucky, Microcavity Lasing from Block Peptide Hierarchically Assembled Quantum Dot Spherical Resonators. *Nano Letters* **3**, 907-911 (2003).

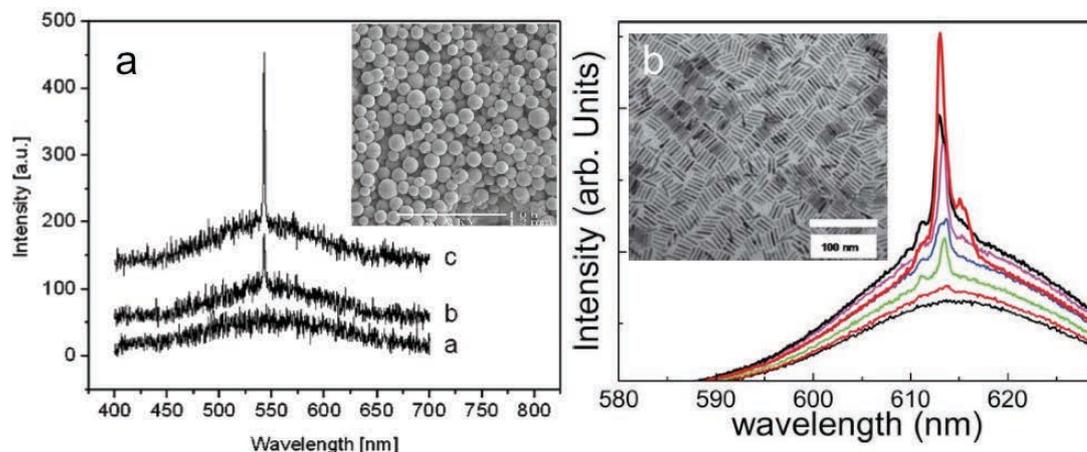


Figure.I.15. Exemple d'effet laser après assemblage de a) QDs inclus dans des sphère de silices à des puissances de pompage de 0.39 mJ, 1.39 mJ (encart : image MEB du système)²⁶. b) Nanobâtonnets semi-conducteurs à des puissances des de pompage grandissant.²⁵

D'autres effets peuvent être recherchés. Les travaux de Dicke²⁷ ont montré que dans un gaz présentant une émission spontanée de radiation, les molécules et atomes présents, peuvent interagir avec les radiations dans un champ commun et donc ne sont pas indépendants. Cet effet peut être mis en parallèle avec l'émission de fluorescence. En effet, l'émission de fluorescence provient d'une émission spontanée de photon même en l'absence de rayonnement. Il faut également noter que cet effet est différent de l'émission de photons provenant d'une stimulation comme dans les lasers. De plus, ce comportement est plus largement prononcé dans le cas d'atomes non différenciables dans un volume qui possède une taille inférieure à la longueur d'onde de la lumière émise. Dans ce cas, le gaz émettrait spontanément avec une rapidité supérieure à celle de ces constituants individuels. Ce phénomène est connu sous le nom de superradiance. Plus récemment, Schneibner²⁸ a montré de façon expérimentale que ce phénomène est possible pour un assemblage de QDs.

L'effet de l'organisation de quantum dots en une ou plusieurs dimensions a été étudié. Dans le cas de QDs assemblés en une dimension (chaîne de QD), l'effet remarquable est le transfert d'énergie de type Förster entre QDs par interaction dipôle-dipôle de proche en proche. Cela est caractérisé par un décalage de 30 nm du spectre d'émission vers les plus grandes longueurs d'onde accompagné d'une diminution du temps de vie de fluorescence des QDs (figure.I.16.a,b).²⁹ Lorsque les QDs sont organisés en 3D dans une matrice par exemple, cela va influencer leur longueur d'onde d'émission. Etienne Henry a montré pendant sa thèse dans l'équipe¹³, un décalage vers les plus grandes longueurs d'ondes, accompagné d'une augmentation en intensité du spectre d'émission de fluorescence de QDs assemblé en 3D.

27. R. H. Dicke, Coherence in Spontaneous Radiation Processes. *Physical Review* **93**, 99-110 (1954).

28. M. Scheibner, T. Schmidt, L. Worschech, A. Forchel, G. Bacher, T. Passow, D. Hommel, Superradiance of quantum dots. *Nat Phys* **3**, 106-110 (2007).

29. Z. Tang, B. Ozturk, Y. Wang, N. A. Kotov, Simple Preparation Strategy and One-Dimensional Energy Transfer in CdTe Nanoparticle Chains. *The Journal of Physical Chemistry B* **108**, 6927-6931 (2004).

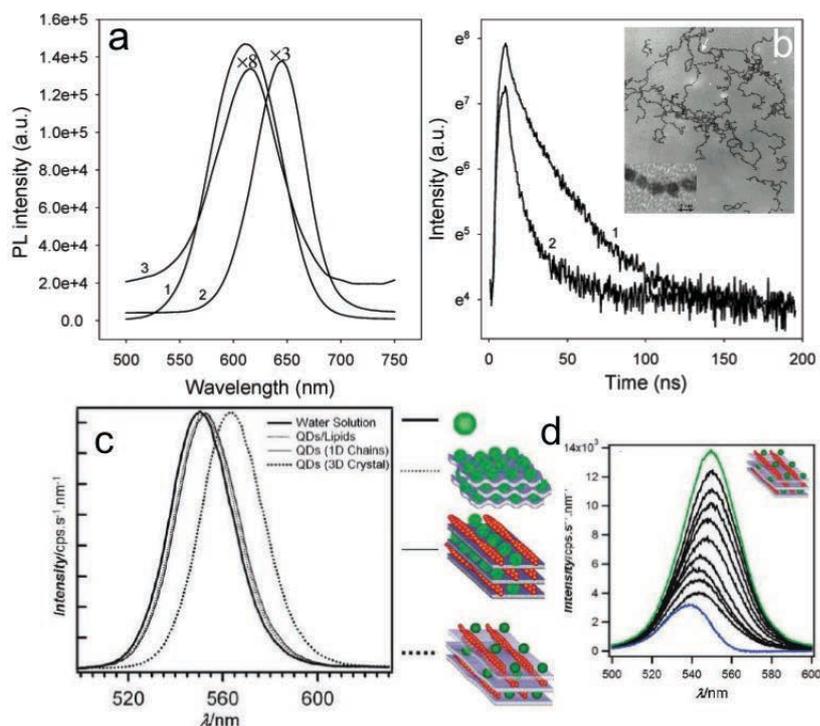


Figure.I.16. a) Spectre d'émission de QDs CdTe (1) libres, (2) chaînes cassées de QDs après sonication et (3) chaîne de QD. B) mesures de fluorescence résolue en temps (1) QDs seuls et (2) assemblé en chaînes (encart, image MEB des chaînes de QDs).¹⁹ c) spectres d'émission de fluorescence de QDs CdSe/ZnS organisés dans une matrice organique montrant un décalage du pic en fonction de la dimensionnalité du cristal et d) augmentation de l'intensité du pic d'émission de fluorescence accompagné du décalage dans des structures cristalline 3D.²¹

Il faut noter que dans le cas de structures 2D, aucune modification n'a été observée (figure.I.16.c,d).¹³

E. Optimisation du système colloïdal.

Nous avons présenté plusieurs systèmes colloïdaux dans le but de réaliser des assemblages à grande échelle de NPs cristallisées.

Dans un premier temps nous avons choisi des nanoparticules anisotropes car elles présentent des phases cristallines plus diversifiées que des particules sphériques lors de leur cristallisation. De plus, la présence de charges à la surface de ces particules va permettre de moduler les interdistances entre celles-ci au cours de la cristallisation.

Dans un deuxième temps, nous allons devoir obtenir des particules solubles dans l'eau afin de pouvoir introduire des charges à sa surface mais également de pouvoir utiliser des matériaux non résistants aux solvants organiques.

Enfin, si nous voulons étudier les propriétés optiques d'assemblages de NPs, celles-ci vont devoir posséder des propriétés optiques originales comme l'émission de fluorescence.

II. Propriétés des nanoparticules semi-conductrices anisotropes.

Un nombre important de nanoparticules est à notre disposition. Ces particules varient par leur composition, leur forme et leur taille. Dans ce large choix, les nanoparticules semi-conductrices anisotropes sont d'un intérêt particulier du fait de leur interaction avec la lumière.

A. Propriétés intrinsèques

Les nanoparticules semi-conductrices vont du fait de leur taille et de leur composition posséder des propriétés physico-chimiques et physiques inédites. Généralement, dans les structures semi-conductrices, l'absorption d'un ou plusieurs photons permet de créer des paires électrons-trous, ceux-ci sont appelés excitons. Dans un semi-conducteur nanométrique, les excitons restent confinés dans la particule compte tenu de sa taille. A cause de cet effet de confinement dans des nanoparticules de taille nanométrique, il y a apparition d'un phénomène appelé « confinement quantique ».³⁰ En raison de cet effet, la structure énergétique passe d'une structure en bandes à une structure en niveaux discrets (figure.I.17).

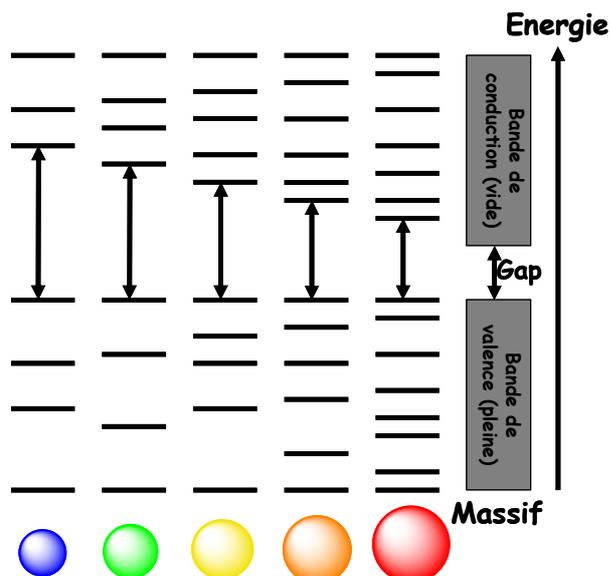


Figure.I.17. Diagramme simplifié des niveaux d'énergies des germes de CdSe en fonction de leur tailles.

Une diminution du diamètre du nanocristal entraîne une augmentation du gap entre la bande de conduction et la bande de valence et donc, lors de l'absorption d'un photon, et formation d'une paire électron-trou, qui génère via une recombinaison radiative une émission de photons de fluorescence dont la longueur d'onde est fonction du diamètre de la particule. La longueur d'onde d'émission de la fluorescence est inversement proportionnelle à la taille de la particule.

Dans la variété de nanoparticules semi-conductrices existantes, les Quantum Rods (QRs) constituent un choix intéressant. Ces particules sont de types II-IV cœur/coquille possédant un cœur de CdSe sphérique et une coquille de CdS en forme de bâtonnet. Les bâtonnets semi-conducteurs possèdent également une coquille comme les QDs. Il faut cependant noter que la coquille des QDs est généralement constituée de ZnS avec des cœurs en CdSe. Les QRs que nous utilisons, possèdent une coquille de CdS avec des cœurs de CdSe. La différence de composition de la coquille va jouer un rôle lors de la séparation de charge électron-trous. En effet, dans les QDs, l'exciton est confiné dans le cœur de CdSe, tandis que dans le cas des bâtonnets, l'électron peut être délocalisé dans la coquille de CdS et le trou reste confiné dans le cœur de CdSe.^{31, 32} La différence en énergie entre la bande de conduction du cœur et celle de la coquille est suffisamment faible pour que les électrons

30. M. G. Bawendi, M. L. Steigerwald, L. E. Brus, The Quantum Mechanics of Larger Semiconductor Clusters ("Quantum Dots"). *Annual Review of Physical Chemistry* **41**, 477-496 (1990).

31. C. Grivas, C. Li, P. Andreakou, P. Wang, M. Ding, G. Brambilla, L. Manna, P. Lagoudakis, Single-mode tunable laser emission in the single-exciton regime from colloidal nanocrystals. *Nat Commun* **4**, (2013).

32. Y. Luo, L.-W. Wang, Electronic Structures of the CdSe/CdS Core, Shell Nanorods. *ACS Nano* **4**, 91-98 (2009).

puissent y être délocalisés sous l'action de l'agitation thermique (0,09 eV). Les trous, quand à eux, ne peuvent pas passer de la bande de valence du cœur à celle de la coquille, l'énergie apportée par l'agitation thermique (0,09 eV) ne permet pas de passer un gap de 0,87 eV (figure.I.18.b). Les QDs, quand à eux, possèdent dans les deux cas une différence d'énergie trop forte pour permettre à la fois aux électrons et aux trous de se délocaliser (figure.I.18.a).

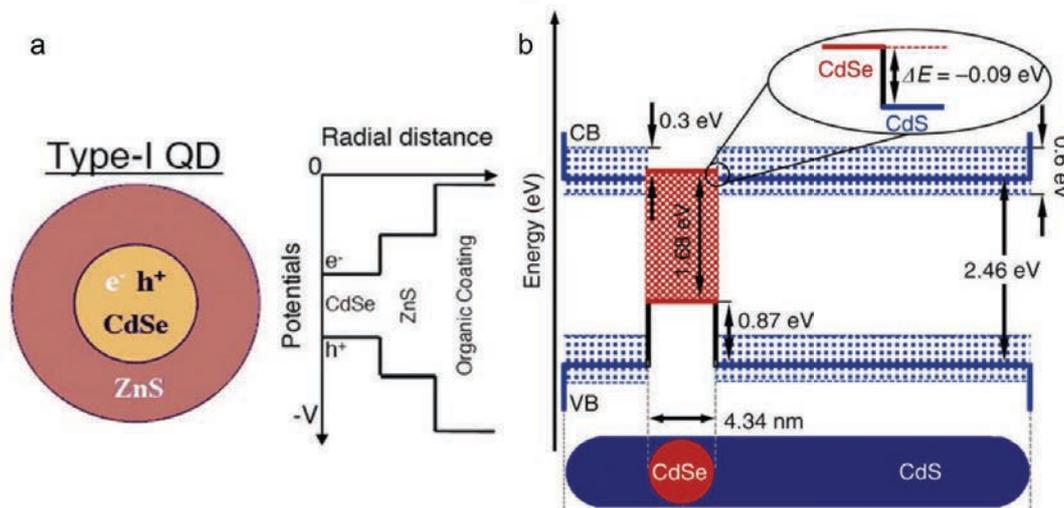


Figure.I.18. Schéma montrant les différences d'énergie de la bande de valence et la bande de conduction entre le cœur et la coquille des a) QDs CdSe/ZnS et b) QRs CdSe/CdS.

La délocalisation de l'électron le long du QR et le confinement du trou dans le cœur permettent l'obtention de propriétés nouvelles que ne possèdent pas une particule de type QD CdSe@ZnS. Notamment il est possible de réduire des sels métalliques à une extrémité du QRs,³³ ou d'effectuer la réduction d'une molécule organique d'un côté de la particule et une oxydation de l'autre côté de celle-ci. La durée de vie de l'exciton est compatible avec les temps caractéristiques d'une réaction d'oxydo-réduction à la surface des QRs.

B. Croissance anisotrope par épitaxie

La synthèse chimique des particules va permettre grâce au choix des matériaux utilisés et de la forme donnée à la particule d'obtenir les propriétés présentées ci-dessus. Elle permet également de fixer ses propriétés physiques et chimiques (taille, longueur d'onde d'émission de fluorescence, chimie de surface).

La synthèse de nanoparticules semi-conductrices est maintenant classique. Elle est très bien décrite dans la littérature depuis les années 1990 par les groupes de Bawendi³⁴, Alivisatos³⁵ etc. La synthèse des NPs semi-conductrices cœur/coquille est réalisée en deux étapes. Dans un premier temps le cœur est synthétisé, suivi dans un deuxième temps de la croissance de la coquille, à haute température dans un mélange de solvants coordinants.

33. L. Carbone, A. Jakab, Y. Khalavka, C. Soännichsen, Light-Controlled One-Sided Growth of Large Plasmonic Gold Domains on Quantum Rods Observed on the Single Particle Level. *Nano Letters* **9**, 3710-3714 (2009).

34. C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi, Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *Journal of the American Chemical Society* **115**, 8706-8715 (1993).

35. M. A. Olshavsky, A. N. Goldstein, A. P. Alivisatos, Organometallic synthesis of gallium-arsenide crystallites, exhibiting quantum confinement. *Journal of the American Chemical Society* **112**, 9438-9439 (1990).

La synthèse de bâtonnets semi-conducteurs est plus récente³⁶ et diffère légèrement de celle des QDs sous plusieurs aspects : les températures de réaction et la présence de nouveaux ligands. En effet, la température de réaction ainsi que certains ligands coordinants permettent de favoriser une forme cristalline particulière : la forme wurtzite (W), qui appartient au système hexagonale et au groupe d'espace $P6_3mc$ (figure.I.19.a). En effet, il existe une autre forme cristalline du CdSe, la forme zinc blende (ZB), qui appartient au système cubique et au système d'espace $F\bar{4}3m$ (figure.I.19.b).

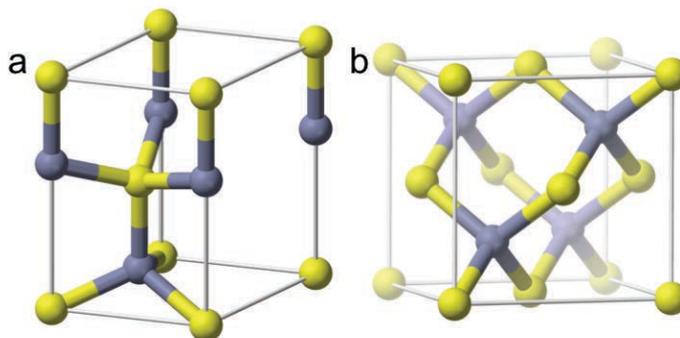


Figure.I.19. a) structure de la maille Wurtzite du CdSe et b) de la maille Zinc blende.

Lors de la synthèse de QD, particules sphériques, la phase cristalline du cœur n'est pas d'un intérêt particulier. Mais dans le cas de QRs, le fait de synthétiser les germes de CdSe à une température supérieure (ici 380 °C) permet alors de favoriser la forme wurtzite.³⁷ De plus, l'ajout d'un solvant coordinant de type acide phosphonique à longue chaîne est également favorable à la formation d'un cristal wurtzite en ralentissant de façon relative la réactivité des précurseurs de cadmium. Ce processus permet un arrangement des atomes de Cadmium et de sélénium plus fin.³⁸

La croissance de la coquille sur le germe de CdSe est anisotrope, c'est à dire que la croissance se fait préférentiellement dans une direction. Ce phénomène s'explique par plusieurs facteurs : la structure de type wurtzite et les ligands de surface de type acide phosphonique.

Premièrement, lors de l'injection le CdS « pousse » préférentiellement sur les germes de CdSe plutôt que de former des germes de CdS car l'énergie d'activation de la nucléation hétérogène est plus faible que celle de la nucléation homogène. De ce fait, tous les nanocristaux subissent le même début de croissance et cela permet d'obtenir des nanocristaux très monodisperses (en longueur et en largeur).³⁰

36. **a)** L. Manna, E. C. Scher, A. P. Alivisatos, Synthesis of Soluble and Processable Rod-, Arrow-, Teardrop-, and Tetrapod-Shaped CdSe Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **122**, 12700-12706 (2000); **b)** Z. A. Peng, X. Peng, Mechanisms of the Shape Evolution of CdSe Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **123**, 1389-1395 (2001); **c)** L. Carbone, C. Nobile, M. De Giorgi, F. D. Sala, G. Morello, P. Pompa, M. Hytch, E. Snoeck, A. Fiore, I. R. Franchini, M. Nadasan, A. F. Silvestre, L. Chiodo, S. Kudera, R. Cingolani, R. Krahné, L. Manna, Synthesis and Micrometer-Scale Assembly of Colloidal CdSe/CdS Nanorods Prepared by a Seeded Growth Approach. *Nano Letters* **7**, 2942-2950 (2007); **d)** D. V. Talapin, I. Mekis, S. Götzinger, A. Kornowski, O. Benson, H. Weller, CdSe/CdS/ZnS and CdSe/ZnSe/ZnS Core, àShell, àShell Nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry B* **108**, 18826-18831 (2004); **e)** D. V. Talapin, E. V. Shevchenko, C. B. Murray, A. Kornowski, S. Förster, H. Weller, CdSe and CdSe/CdS Nanorod Solids. *Journal of the American Chemical Society* **126**, 12984-12988 (2004).

37. J. J. Shiang, A. V. Kadavanich, R. K. Grubbs, A. P. Alivisatos, Symmetry of Annealed Wurtzite CdSe Nanocrystals: Assignment to the C_{3v} Point Group. *The Journal of Physical Chemistry* **99**, 17417-17422 (1995)

38. Z. A. Peng, X. Peng, Nearly Monodisperse and Shape-Controlled CdSe Nanocrystals via Alternative Routes: àà Nucleation and Growth. *Journal of the American Chemical Society* **124**, 3343-3353 (2002).

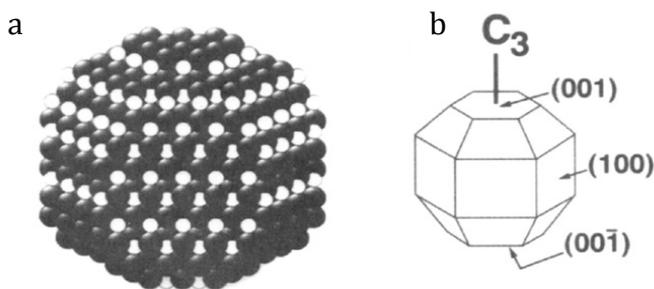


Figure.I.20. Schéma d'une nanoparticule de CdSe a) en montrant les atomes de Cd (noir) et de Se (blanc), montrant les couches d'empilement de ceux-ci. b) Schéma de la même nanoparticule montrant les plans cristallins principaux.

De plus, lors de cette croissance, les germes de CdSe se trouvant sous la forme wurtzite, possèdent comme le montre la figure.I.20, de façon simplifiée trois faces cristallines. Ces faces sont notées (001), (00 $\bar{1}$) et (100). Du fait de la structure wurtzite, la face (001) est composée de Cd seulement tandis que la face (00 $\bar{1}$) est composée de sélénium et la (100) d'une alternance de Cd-Se. Le Cadmium sur la face (001) possède 3 liaisons dites pendantes tandis que les atomes de sélénium n'en possèdent qu'une. La face (100) est passivée par les ligands coordinants et les atomes de cadmium ne possèdent qu'une liaison pendante. Nous pouvons donc dire que la face (001) va être la plus active des trois et donc permettre une croissance plus rapide. Il a été montré que la croissance va se faire par épitaxie du CdS sur le CdSe.³⁶ Le cristal CdS va donc se trouver sous la forme wurtzite. De façon évidente, les paramètres de maille des deux cristaux sont différents à cause de la taille relative du soufre et du sélénium. De ce fait il y a discordance des mailles cristallines à l'interface CdSe/CdS. Cette discordance va être plus forte sur deux faces cristallines des germes de CdSe, les faces (100) et (00 $\bar{1}$). Donc la face (001) va se retrouver une nouvelle fois favorisée pour permettre la croissance de la coquille selon l'axe C_3 du cœur.³⁹

De plus, afin de favoriser la croissance anisotrope, en gardant un cristal de type wurtzite, la synthèse se fait en présence de deux types d'acides phosphoniques : l'ODPA avec une longue chaîne carbonée et l'HPA avec une chaîne carbonée plus courte. Le rôle de l'HPA est de favoriser la croissance sur la face (001) du germe de façon relative par rapports aux autres faces. L'ODPA permet quand à lui de « ralentir » la synthèse et donc de permettre de garder le contrôle de la phase cristalline.³¹

39. D. V. Talapin, R. Koeppel, S. Gözinger, A. Kornowski, J. M. Lupton, A. L. Rogach, O. Benson, J. Feldmann, H. Weller, Highly Emissive Colloidal CdSe/CdS Heterostructures of Mixed Dimensionality. *Nano Letters* 3, 1677-1681 (2003).

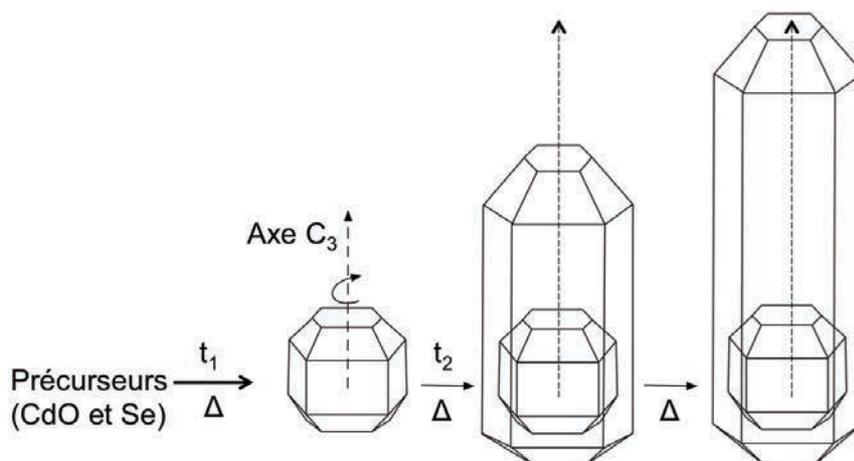


Figure.I.21. Schéma récapitulatif de la synthèse des QRs. À t_1 après mélange des précurseurs (CdO et Se) dans un mélange de solvants coordinants à haute température, les germes de CdSe sont synthétisés. À t_2 , après injection des précurseurs dans un mélange de solvants coordinants à haute température et des germes, la coquille va croître sur le germe par épitaxie et préférentiellement selon l'axe C_3 cela est dû à la structure particulière et à la couverture en ligands du germe.³⁶

C. Chimie de surface

1. Fonctionnalisation

La synthèse de nanoparticules semi-conductrices nécessite la présence de ligands de synthèse de type amine, phosphine, oxyde de phosphine, acide phosphonique à longues chaînes alkyles. La caractérisation après synthèse, montre la présence de molécules à longues chaînes alkyles à la surface des NPs.^{40,41} Celles-ci ne sont solubles que dans des solvants de type toluène ou chloroforme. Les chaînes alkyles ne permettent pas l'introduction de charges sur la particule et de plus il y a absence de groupes chimiques réactifs sur la couche externe de la particule. De ce fait, les possibilités d'interaction entre particules vont se limiter au modèle de sphères dures et toute fonctionnalisation simple après synthèse est impossible.

L'utilisation de nouveaux ligands peut apporter à la fois des charges, une réactivité à la surface des QRs et également permettre grâce à l'introduction de groupements chimiques hydrophiles de pouvoir travailler dans l'eau.

La fonctionnalisation de NPs par des ligands peut se présenter sous forme de deux techniques principales : l'encapsulation par des molécules amphiphiles et l'échange de ligands (figure.I.22).

Cette encapsulation par dépôt d'une monocouche de ligands amphiphile rend la particule hydrophile et donc soluble dans l'eau. La monocouche de molécules à la surface des particules se forme grâce aux interactions hydrophobes entre la partie hydrophobe des ligands amphiphile et les ligands initiaux hydrophobes (ligands phosphorés à longues chaînes alkyles). Cette technique permet également la fonctionnalisation des amphiphile par des biomarqueurs par exemple.

40. J. T. Kopping, T. E. Patten, Identification of Acidic Phosphorus-Containing Ligands Involved in the Surface Chemistry of CdSe Nanoparticles Prepared in Tri-N-octylphosphine Oxide Solvents. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 5689-5698 (2008).

41. R. Gomes, A. Hassinen, A. Szczygiel, Q. Zhao, A. Vantomme, J. C. Martins, Z. Hens, Binding of Phosphonic Acids to CdSe Quantum Dots: A Solution NMR Study. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 145-152.

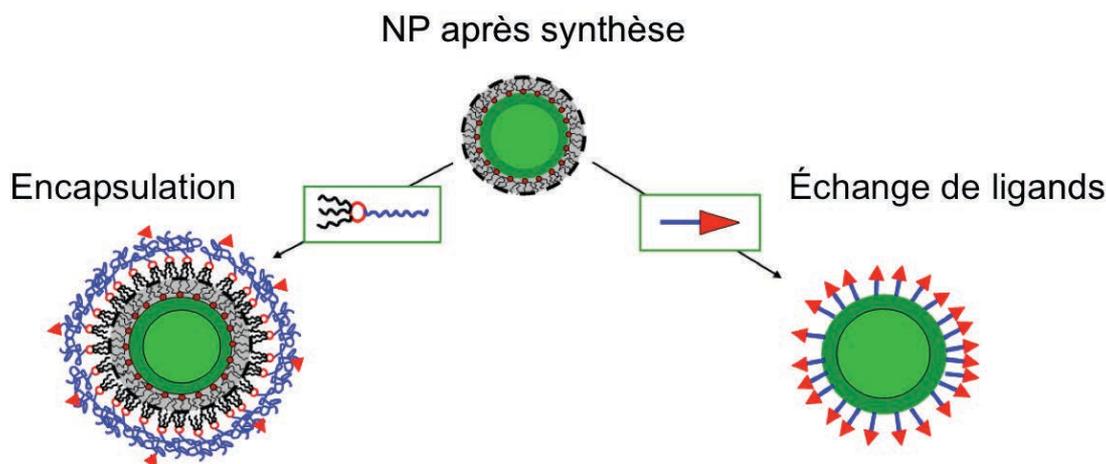


Figure.I.22. Schéma de la particule après synthèse fonctionnalisée par des ligands hydrophobes (ligands phosphorés à longues chaînes alkyles) et les deux types de fonctionnalisation des nanoparticules : l'encapsulation et l'échange de ligands.

Dans la deuxième approche, l'échange de ligands permet d'échanger les ligands présents après la synthèse par de nouveaux ligands plus affins pour la surface inorganique. Afin de réaliser cet échange les nouveaux ligands possèdent des fonctions permettant un fort « ancrage » à la particule, la solubilisation et la stabilisation dans le solvant organique ou aqueux.

2. Les ligands

Les ligands utilisés pour la fonctionnalisation des NPs doivent respecter les critères suivants : une forte affinité pour la surface de la particule, une forte stabilisation de la particule en suspension, la possibilité d'introduire des fonctions chimiques réactives et l'absence de modification des propriétés optiques.

Dans le cas des ligands amphiphiles, ceux-ci possèdent une partie hydrophobe et une partie hydrophile. La première est composée de chaînes alkyles et la deuxième d'un espaceur polyéthylène glycol (PEG). Les PEG peuvent également être fonctionnalisés par une biomolécule, un fluorophore. La présence de ces molécules augmentent le diamètre des particules^{34,35,42} et ces ligands ne seront pas liés fortement à la surface de celle-ci, nous ne choisirons donc pas ce système.

Les premiers ligands utilisés ont été des acides mercapto acétique (figure.I.23), permettant une accroche de la molécule par la fonction thiol et une solubilisation grâce à la fonction acide.⁴³

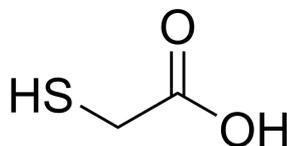


Figure.I.23. Formule développée de l'acide mercaptoacétique présentant une fonction thiol et une fonction acide carboxylique.

Ces ligands monothiol, ont du être amélioré, à cause d'une désorption de la surface des NPs lorsqu'on diminue l'excès de ce ligand dans la suspension. Afin d'empêcher cette désorption, des molécules possédant des fonctions dithiols à base d'acide lipoïque, ont été utilisées et se sont

42. F. Boulmedais, P. Bauchat, M. J. Brienne, I. Arnal, F. Artzner, T. Gacoin, M. Dahan, V. Marchi-Artzner, Water-Soluble Pegylated Quantum Dots: From a Composite Hexagonal Phase to Isolated Micelles. *Langmuir* **22**, 9797-9803 (2006).

43. W. C. W. Chan, S. Nie, Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science* **281**, 2016-2018 (1998); published online EpubSeptember 25, (1998).

montrées efficaces sauf dans des milieux très acide.⁴⁴ Afin d'obtenir des particules stabilisées dans des milieux variés et permettant également des réactions chimique après échange de ligand, Pinaud et al.⁴⁵ ont montré que l'utilisation de peptides possédant plusieurs cystéines permettent une stabilisation accrue des NPs dans divers milieux et permettent également des interactions biotine-streptavidine et même le marquage de tumeurs⁴⁶.

Nous avons également montré au laboratoire que l'utilisation de dérivés peptidiques courts possédant 3 cystéines comme séquences d'accroche sur les NPs apporte une très forte stabilité en solution, l'ajout d'un PEG, offre une bonne solubilité dans l'eau et enfin un acide aminé terminal de type acide aspartique permettant une fonctionnalisation après l'échange de ligands.⁴⁷

Les NPs sont aussi fonctionnalisables par de l'ADN, et permettent ainsi de lier fortement des NPs entre elles en maîtrisant leur interdistance et les structures cristallines ainsi formées. Cela permet également de faire interagir sélectivement avec un autre type de NP (comme des NPs d'or par exemple) fonctionnalisés par l'ADN complémentaire.¹³

D. Choix des ligands

Dans la partie **I.E** de ce chapitre, nous avons discuté de la conception du colloïde idéal pour ce travail. Dans cette partie II, nous avons décrit les propriétés des QRs et le fait de pouvoir les fonctionnaliser avec des ligands optimisés permettant une bonne stabilité colloïdale.

Nous nous trouvons maintenant en présence de nanoparticules fluorescentes anisotropes, qui peuvent être fonctionnalisées par des ligands peptidiques, permettant d'introduire des charges à la surface de la particule et apporte une bonne stabilité colloïdale. Les peptides utilisés dans notre travail possèdent une structure particulière décrite ci-dessous (figure.I.24).

44. H. Mattoussi, J. M. Mauro, E. R. Goldman, G. P. Anderson, V. C. Sundar, F. V. Mikulec, M. G. Bawendi, Self-Assembly of CdSe@ZnS Quantum Dot Bioconjugates Using an Engineered Recombinant Protein. *Journal of the American Chemical Society* **122**, 12142-12150 (2000).

45. F. Pinaud, D. King, H.-P. Moore, S. Weiss, Bioactivation and Cell Targeting of Semiconductor CdSe/ZnS Nanocrystals with Phytochelatin-Related Peptides. *Journal of the American Chemical Society* **126**, 6115-6123 (2004).

46. M. E. Åkerman, W. C. W. Chan, P. Laakkonen, S. N. Bhatia, E. Ruoslahti, Nanocrystal targeting in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**, 12617-12621 (2002).

47. A. Dif, F. Boulmedais, M. Pinot, V. Roullier, M. Baudy-Floc'h, F. M. Coquelle, S. Clarke, P. Neveu, F. Vignaux, R. L. Borgne, M. Dahan, Z. Gueroui, V. Marchi-Artzner, Small and Stable Peptidic PEGylated Quantum Dots to Target Polyhistidine-Tagged Proteins with Controlled Stoichiometry. *Journal of the American Chemical Society* **131**, 14738-14746 (2009).

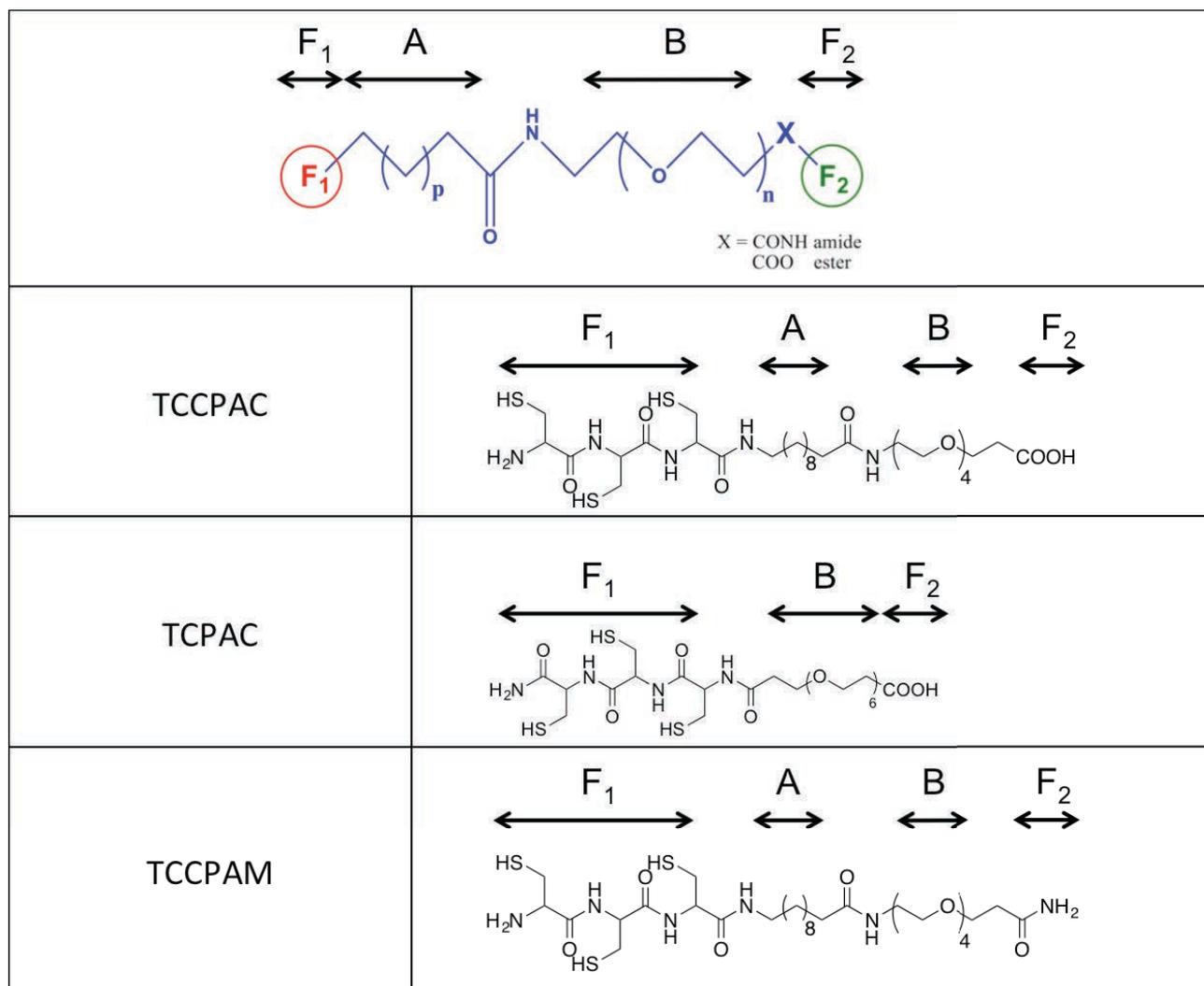


Figure.I.24. Structure générique des ligands peptidiques utilisés dans ce travail possédant 3 ou 4 parties distinctes permettant la fonctionnalisation, la solubilisation et la présence de charge sur la nanoparticule et structure moléculaire des 3 ligands peptidiques utilisé dans ce travail.

Les peptides sont composés de trois ou quatre parties distinctes dont deux fonctions particulières. La fonction F1 sert à accrocher le ligand sur la particule elle est composée de trois cystéines. La partie A est constituée d'un espaceur aliphatique permettant un meilleur arrangement à la surface de la NP. La partie B est composée d'un deuxième espaceur de type PEG avec 4 ou 6 unités de répétition, permettant la solubilité du peptide en milieu aqueux et donc de la NP. Enfin la fonction F2 permet l'introduction d'une fonction possédant une charge (TCCPAC et TCPAC) ou non (TCCPAM) et d'une fonction chimiquement réactive (TCCPAC et TCPAC) telle qu'un acide carboxylique.

III. Conclusion et plan de la thèse

Dans ce chapitre, nous avons introduit les critères qui nous ont permis d'orienter notre choix concernant: le système colloïdale (forme, propriétés) et la façon d'assembler les NPs. Nous nous sommes focalisés sur des particules semi-conductrices anisotropes cœur/coquille CdSe/CdS fonctionnalisées par des ligands peptidiques en milieu aqueux permettant une cristallisation colloïdale par interaction électrostatique. Le choix du système de structuration à grande échelle s'est porté sur l'utilisation d'un moule topographique.

L'objectif de cette thèse est de former des structures macroscopiques cristallines de nanoparticules anisotropes semi-conductrices de type CdSe/CdS permettant l'apparition de nouvelles propriétés optiques. Pour cela, des Quantum Rods sont synthétisés en phase organique puis fonctionnalisés afin d'obtenir une suspension colloïdale stable dans l'eau. Les différentes suspensions sont alors séchées lentement entre un substrat lisse et un moule microstructuré, permettant le confinement et la condensation des QRs dans une géométrie bien définie à des positions particulières. L'idée est de former un réseau cristallin à l'échelle macroscopique de quantum rods bien organisés.

Les méthodes de caractérisation et de synthèse des matériaux et des molécules obtenues sont décrites dans le deuxième chapitre.

Le chapitre 3 présente la synthèse de nanoparticules, leur caractérisation chimique, structurale et optique, ainsi que leur fonctionnalisation par des ligands peptidiques spécifiques et la caractérisation de cet échange de ligands. La synthèse de peptides est également incluse dans ce chapitre. Les propriétés optiques et colloïdales des nanoparticules hydrophiles sont enfin analysées.

L'étude des phases obtenues par séchage de particules anisotropes dans des capillaires sera décrite dans le chapitre 4. Nous étudierons les structures formées par les QRs. L'étude se fera en fonction de leur taille mais aussi avant et après échange de ligands. Dans un deuxième temps, les particules hydrophiles seront placées sous un moule de PDMS et les structures formées analysées par SEM et STEM.

Le chapitre 5 décrit la formation de structures hybrides par attraction électrostatique. Le premier type de structure étudiée concerne celles obtenues en utilisant un « template » organique constitué de phospholipides. Les phases obtenues seront analysées par SAXS. La deuxième approche repose sur l'utilisation de brins complémentaires d'ADN qui permettront de former par hybridation des structures mixtes entre des nanoparticules semi-conductrices anisotropes et des nanoparticules sphériques d'or. Les objets obtenus seront analysés par SEM et SAXS.

Enfin dans le chapitre 6 nous finirons par décrire la fluorescence (émission et temps de vie) de nanoparticules uniques, en suspension, après séchage sous un moule topographique mais aussi dans le cas des phases formés par le mélange de suspensions de QRs et de phospholipides et enfin dans le cas des phases mixtes QRs/NPsAu.

Références

1. S. Y. Lin, J. G. Fleming, D. L. Hetherington, B. K. Smith, R. Biswas, K. M. Ho, M. M. Sigalas, W. Zubrzycki, S. R. Kurtz, J. Bur, A three-dimensional photonic crystal operating at infrared wavelengths. *Nature* 394, 251-253 (1998).
2. D. J. Irvine, Drug delivery: One nanoparticle, one kill. *Nat Mater* 10, 342-343 (2011); published online Epub05/print (
3. M. Campbell, D. N. Sharp, M. T. Harrison, R. G. Denning, A. J. Turberfield, Fabrication of photonic crystals for the visible spectrum by holographic lithography. *Nature* 404, 53-56 (2000).
4. B. H. Cumpston, S. P. Ananthavel, S. Barlow, D. L. Dyer, J. E. Ehrlich, L. L. Erskine, A. A. Heikal, S. M. Kuebler, I. Y. S. Lee, D. McCord-Maughon, J. Qin, H. Rockel, M. Rumi, X.-L. Wu, S. R. Marder, J. W. Perry, Two-photon polymerization initiators for three-dimensional optical data storage and microfabrication. *Nature* 398, 51-54 (1999).
5. I. Y. Yang, S. Silverman, J. Ferrera, K. Jackson, J. M. Carter, D. A. Antoniadis, H. I. Smith. (AVS, Scottsdale, Arizona (USA), 1995), vol. 13, pp. 2741-2744.
6. R. D. Piner, J. Zhu, F. Xu, S. Hong, C. A. Mirkin, "Dip-Pen" Nanolithography. *Science* 283, 661-663 (1999); published online EpubJanuary 29, 1999 (10.1126/science.283.5402.661).
7. E. Dujardin, C. Peet, G. Stubbs, J. N. Culver, S. Mann, Organization of Metallic Nanoparticles Using Tobacco Mosaic Virus Templates. *Nano Letters* 3, 413-417 (2003); published online Epub2003/03/01 (10.1021/nl034004o).
8. G. M. Whitesides, B. Grzybowski, Self-Assembly at All Scales. *Science* 295, 2418-2421 (2002); published online EpubMarch 29, 2002 (10.1126/science.1070821).
9. M. Zavelani-Rossi, R. Krahne, G. Della Valle, S. Longhi, I. R. Franchini, S. Girardo, F. Scotognella, D. Pisignano, L. Manna, G. Lanzani, F. Tassone, Self-assembled CdSe/CdS nanorod micro-lasers fabricated from solution by capillary jet deposition. *Laser & Photonics Reviews* 6, 678-683 (2012)10.1002/lpor.201200010).
10. M. Zanella, R. Gomes, M. Povia, C. Giannini, Y. Zhang, A. Riskin, M. Van Bael, Z. Hens, L. Manna, Self-Assembled Multilayers of Vertically Aligned Semiconductor Nanorods on Device-Scale Areas. *Advanced Materials* 23, 2205-2209 (2011)10.1002/adma.201100539).
11. J. A. C. Veerman, D. Frenkel, Relative stability of columnar and crystalline phases in a system of parallel hard spherocylinders. *Physical Review A* 43, 4334 (1991).
12. P. Bolhuis, D. Frenkel, Tracing the phase boundaries of hard spherocylinders. *The Journal of Chemical Physics* 106, 666-687 (1997)10.1063/1.473404).
13. A. Kuijk, D. V. Byelov, A. V. Petukhov, A. van Blaaderen, A. Imhof, Phase behavior of colloidal silica rods. *Faraday Discussions* 159, 181-199 (2012)10.1039/c2fd20084h).
14. R. n. A. Alvarez-Puebla, A. Agarwal, P. Manna, B. P. Khanal, P. Aldeanueva-Potel, E. Carbo Argibay, N. Pazos-Pèrez, L. Vigderman, E. R. Zubarev, N. A. Kotov, L. M. Liz-Marzàn, Gold nanorods 3D-supercrystals as surface enhanced Raman scattering spectroscopy substrates for the rapid detection of scrambled prions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 8157-8161 (2011); published online EpubMay 17, 2011 (10.1073/pnas.1016530108).
15. C. Hamon, M. Postic, E. Mazari, T. Bizien, C. Dupuis, P. Even-Hernandez, A. Jimenez, L. Courbin, C. Gosse, F. Artzner, V. r. Marchi-Artzner, Three-Dimensional Self-Assembling of Gold Nanorods with Controlled Macroscopic Shape and Local Smectic B Order. *ACS Nano* 6, 4137-4146 (2012); published online Epub2012/05/22 (10.1021/nn3006027).
16. S. Y. Park, A. K. R. Lytton-Jean, B. Lee, S. Weigand, G. C. Schatz, C. A. Mirkin, DNA-programmable nanoparticle crystallization. *Nature* 451, 553-556 (2008)

17. D. Sun, O. Gang, Binary Heterogeneous Superlattices Assembled from Quantum Dots and Gold Nanoparticles with DNA. *Journal of the American Chemical Society* 133, 5252-5254 (2011); published online Epub2011/04/13 (10.1021/ja111542t).
18. C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *Nature* 382, 607-609 (1996); published online Epub08/15/print (
19. K. K. Caswell, J. N. Wilson, U. H. F. Bunz, C. J. Murphy, Preferential End-to-End Assembly of Gold Nanorods by Biotin,âßSßStreptavidin Connectors. *Journal of the American Chemical Society* 125, 13914-13915 (2003)10.1021/ja037969i).
20. E. Henry, Université de Rennes 1, (Thèse 2007).
21. E. Henry, A. I. Dif, M. Schmutz, L. Legoff, F. B. Amblard, V. Marchi-Artzner, F. Artzner, Crystallization of Fluorescent Quantum Dots within a Three-Dimensional Bio-Organic Template of Actin Filaments and Lipid Membranes. *Nano Letters* 11, 5443-5448 (2011); published online Epub2011/12/14 (10.1021/nl203216q).
22. C. D. Bain, G. M. Whitesides, Modeling Organic Surfaces with Self-Assembled Monolayers. *Angewandte Chemie International Edition in English* 28, 506-512 (1989)10.1002/anie.198905061).
23. J. D. Le, Y. Pinto, N. C. Seeman, K. Musier-Forsyth, T. A. Taton, R. A. Kiehl, DNA-Templated Self-Assembly of Metallic Nanocomponent Arrays on a Surface. *Nano Letters* 4, 2343-2347 (2004); published online Epub2004/12/01 (10.1021/nl048635+).
24. I. U. Vakarelski, D. Y. C. Chan, T. Nonoguchi, H. Shinto, K. Higashitani, Assembly of Gold Nanoparticles into Microwire Networks Induced by Drying Liquid Bridges. *Physical Review Letters* 102, 058303 (2009).
25. S.-W. Lee, S. C. Park, Y. Lim, B. Lee, S.-D. Lee, Polymorphic Meniscus Convergence for Construction of Quasi-Periodic Assemblies and Networks of Colloidal Nanoparticles. *Advanced Materials* 22, 4172-4175 (2010)10.1002/adma.201001336).
26. M. Postic, université de Rennes 1, Rennes (Thèse, 2012).
27. M. Grzelczak, J. Vermant, E. M. Furst, L. M. Liz-Marzàn, Directed Self-Assembly of Nanoparticles. *ACS Nano* 4, 3591-3605 (2010); published online Epub2010/07/27 (10.1021/nn100869j).
28. S. Noda, Seeking the Ultimate Nanolaser. *Science* 314, 260-261 (2006); published online EpubOctober 13, 2006 (10.1126/science.1131322).
29. V. I. Klimov, A. A. Mikhailovsky, S. Xu, A. Malko, J. A. Hollingsworth, C. A. Leatherdale, H.-J. Eisler, M. G. Bawendi, Optical Gain and Stimulated Emission in Nanocrystal Quantum Dots. *Science* 290, 314-317 (2000); published online EpubOctober 13, 2000 (10.1126/science.290.5490.314).
30. M. Kazes, D. Y. Lewis, Y. Ebenstein, T. Mokari, U. Banin, Lasing from Semiconductor Quantum Rods in a Cylindrical Microcavity. *Advanced Materials* 14, 317-321 (2002)10.1002/1521-4095(20020219)14:4<317::aid-adma317>3.0.co;2-u).
31. J. N. Cha, M. H. Bartl, M. S. Wong, A. Popitsch, T. J. Deming, G. D. Stucky, Microcavity Lasing from Block Peptide Hierarchically Assembled Quantum Dot Spherical Resonators. *Nano Letters* 3, 907-911 (2003); published online Epub2003/07/01 (10.1021/nl034206k).
32. R. H. Dicke, Coherence in Spontaneous Radiation Processes. *Physical Review* 93, 99-110 (1954).
33. M. Scheibner, T. Schmidt, L. Worschech, A. Forchel, G. Bacher, T. Passow, D. Hommel, Superradiance of quantum dots. *Nat Phys* 3, 106-110 (2007)http://www.nature.com/nphys/journal/v3/n2/supinfo/nphys494_S1.html).
34. Z. Tang, B. Ozturk, Y. Wang, N. A. Kotov, Simple Preparation Strategy and One-Dimensional Energy Transfer in CdTe Nanoparticle Chains. *The Journal of Physical Chemistry B* 108, 6927-6931 (2004); published online Epub2004/06/01 (10.1021/jp049038e).

35. M. G. Bawendi, M. L. Steigerwald, L. E. Brus, The Quantum Mechanics of Larger Semiconductor Clusters ("Quantum Dots"). *Annual Review of Physical Chemistry* 41, 477-496 (1990)doi:10.1146/annurev.pc.41.100190.002401).
36. C. Grivas, C. Li, P. Andreakou, P. Wang, M. Ding, G. Brambilla, L. Manna, P. Lagoudakis, Single-mode tunable laser emission in the single-exciton regime from colloidal nanocrystals. *Nat Commun* 4, (2013)10.1038/ncomms3376).
37. Y. Luo, L.-W. Wang, Electronic Structures of the CdSe/CdS Core, Shell Nanorods. *ACS Nano* 4, 91-98 (2009); published online Epub2010/01/26 (10.1021/nn9010279).
38. L. Carbone, A. Jakab, Y. Khalavka, C. Soñnichsen, Light-Controlled One-Sided Growth of Large Plasmonic Gold Domains on Quantum Rods Observed on the Single Particle Level. *Nano Letters* 9, 3710-3714 (2009)10.1021/nl9017918).
39. C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi, Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E = sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *Journal of the American Chemical Society* 115, 8706-8715 (1993); published online Epub1993/09/01 (10.1021/ja00072a025).
40. M. A. Olshavsky, A. N. Goldstein, A. P. Alivisatos, Organometallic synthesis of gallium-arsenide crystallites, exhibiting quantum confinement. *Journal of the American Chemical Society* 112, 9438-9439 (1990); published online Epub1990/12/01 (10.1021/ja00181a080).
41. L. Manna, E. C. Scher, A. P. Alivisatos, Synthesis of Soluble and Processable Rod-, Arrow-, Teardrop-, and Tetrapod-Shaped CdSe Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* 122, 12700-12706 (2000)10.1021/ja003055+).
42. Z. A. Peng, X. Peng, Mechanisms of the Shape Evolution of CdSe Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* 123, 1389-1395 (2001); published online Epub2001/02/01 (10.1021/ja0027766).
43. L. Carbone, C. Nobile, M. De Giorgi, F. D. Sala, G. Morello, P. Pompa, M. Hytch, E. Snoeck, A. Fiore, I. R. Franchini, M. Nadasan, A. F. Silvestre, L. Chiodo, S. Kudera, R. Cingolani, R. Krahne, L. Manna, Synthesis and Micrometer-Scale Assembly of Colloidal CdSe/CdS Nanorods Prepared by a Seeded Growth Approach. *Nano Letters* 7, 2942-2950 (2007)10.1021/nl0717661).
44. D. V. Talapin, I. Mekis, S. Götzinger, A. Kornowski, O. Benson, H. Weller, CdSe/CdS/ZnS and CdSe/ZnSe/ZnS Core,àíShell,àíShell Nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry B* 108, 18826-18831 (2004)10.1021/jp046481g).
45. D. V. Talapin, E. V. Shevchenko, C. B. Murray, A. Kornowski, S. Förster, H. Weller, CdSe and CdSe/CdS Nanorod Solids. *Journal of the American Chemical Society* 126, 12984-12988 (2004)10.1021/ja046727v).
46. J. J. Shiang, A. V. Kadavanich, R. K. Grubbs, A. P. Alivisatos, Symmetry of Annealed Wurtzite CdSe Nanocrystals: Assignment to the C_{3v} Point Group. *The Journal of Physical Chemistry* 99, 17417-17422 (1995)10.1021/j100048a017).
47. Z. A. Peng, X. Peng, Nearly Monodisperse and Shape-Controlled CdSe Nanocrystals via Alternative Routes:àí Nucleation and Growth. *Journal of the American Chemical Society* 124, 3343-3353 (2002)10.1021/ja0173167).
48. D. V. Talapin, R. Koeppel, S. Götzinger, A. Kornowski, J. M. Lupton, A. L. Rogach, O. Benson, J. Feldmann, H. Weller, Highly Emissive Colloidal CdSe/CdS Heterostructures of Mixed Dimensionality. *Nano Letters* 3, 1677-1681 (2003)10.1021/nl034815s).
49. J. T. Kopping, T. E. Patten, Identification of Acidic Phosphorus-Containing Ligands Involved in the Surface Chemistry of CdSe Nanoparticles Prepared in Tri-N-octylphosphine Oxide Solvents. *Journal of the American Chemical Society* 130, 5689-5698 (2008)10.1021/ja077414d).
50. R. Gomes, A. Hassinen, A. Szczygiel, Q. Zhao, A. Vantomme, J. C. Martins, Z. Hens, Binding of Phosphonic Acids to CdSe Quantum Dots: A Solution NMR Study. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 145-152 10.1021/jz1016729).

51. B. Dubertret, P. Skourides, D. J. Norris, V. Noireaux, A. H. Brivanlou, A. Libchaber, In Vivo Imaging of Quantum Dots Encapsulated in Phospholipid Micelles. *Science* 298, 1759-1762 (2002); published online Epub November 29, 2002 (10.1126/science.1077194).
52. V. Roullier, F. Grasset, F. Boulmedais, F. Artzner, O. Cador, V. Marchi-Artzner, Small Bioactivated Magnetic Quantum Dot Micelles. *Chemistry of Materials* 20, 6657-6665 (2008); published online Epub 2008/11/11 (10.1021/cm801423r).
53. F. Boulmedais, P. Bauchat, M. J. Brienne, I. Arnal, F. Artzner, T. Gacoin, M. Dahan, V. Marchi-Artzner, Water-Soluble Pegylated Quantum Dots : From a Composite Hexagonal Phase to Isolated Micelles. *Langmuir* 22, 9797-9803 (2006); published online Epub 2006/11/01 (10.1021/la061849h).
54. W. C. W. Chan, S. Nie, Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science* 281, 2016-2018 (1998); published online Epub September 25, 1998 (10.1126/science.281.5385.2016).
55. H. Mattoussi, J. M. Mauro, E. R. Goldman, G. P. Anderson, V. C. Sundar, F. V. Mikulec, M. G. Bawendi, Self-Assembly of CdSe/ZnS Quantum Dot Bioconjugates Using an Engineered Recombinant Protein. *Journal of the American Chemical Society* 122, 12142-12150 (2000); published online Epub 2000/12/01 (10.1021/ja002535y).
56. F. Pinaud, D. King, H.-P. Moore, S. Weiss, Bioactivation and Cell Targeting of Semiconductor CdSe/ZnS Nanocrystals with Phytochelatin-Related Peptides. *Journal of the American Chemical Society* 126, 6115-6123 (2004) 10.1021/ja031691c).
57. M. E. Åkerman, W. C. W. Chan, P. Laakkonen, S. N. Bhatia, E. Ruoslahti, Nanocrystal targeting in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 12617-12621 (2002); published online Epub October 1, 2002 (10.1073/pnas.152463399).
58. A. Dif, F. Boulmedais, M. Pinot, V. Roullier, M. Baudy-Floc'h, F. M. Coquelle, S. Clarke, P. Neveu, F. Vignaux, R. L. Borgne, M. Dahan, Z. Gueroui, V. Marchi-Artzner, Small and Stable Peptidic PEGylated Quantum Dots to Target Polyhistidine-Tagged Proteins with Controlled Stoichiometry. *Journal of the American Chemical Society* 131, 14738-14746 (2009); published online Epub 2009/10/21 (10.1021/ja902743u).

Chapitre II: Techniques et méthodes

Techniques et méthodes	31
I. Synthèse chimique	34
A. Synthèse sur support solide des peptides.	35
B. Couplage de l'ADN sur les QRs-peptide	37
C. Synthèse de nanobâtonnets semi-conducteurs (QRs)	38
1. Synthèse des Germes de CdSe	38
2. Synthèse de la coquille de CdS	39
II. Techniques de caractérisation chimique	39
A. Spectrométrie de masse	39
B. Technique d'analyse par HPLC	40
C. RMN	41
1. Technique d'enregistrement des spectres	41
a) Proton ^1H	41
b) Carbone ^{13}C	42
c) Phosphore ^{31}P	42
2. Préparation des échantillons à analyser	43
a) Enregistrement d'un spectre	43
b) Préparation du dosage	43
III. Caractérisation colloïdale	43
A. Détermination de la taille par diffusion dynamique de la lumière (DLS)	43
B. Détermination de la charge par zétamétrie	44
C. Caractérisation chimique de la couche organique de ligand par FTIR.	44
IV. Techniques optiques	45
A. Spectroscopie UV-visible	45
B. Microscopie optique	45
C. Fluorescence	45
1. Fluorimétrie sur un ensemble de NPs	45
2. Micro-spectrométrie de fluorescence ponctuelle	46
a) Montage au laboratoire (IPR)	46
b) Montage optique à Brookhaven National Laboratory	46
V. Microscopies électroniques	47
A. Microscopie électronique à transmission (TEM et HRTEM/STEM)	47
VI. Technique des Rayons X	48
A. Préparation des échantillons	49
B. Les différentes lignes	49
C. Synchrotron Soleil, ligne SWING.	49
D. Au laboratoire (IPR).	49
E. Intégrations et interprétation des résultats.	49

VII. Préparation d'échantillons	50
A. Vesicules	50
1. LUV (Large Unilamellar Vesicles).....	50
2. SUV (Small Unilamellar Vesicles).....	51
B. Formation du réseaux de murs de QR.....	51
1. PDMS.....	51
2. Formation du réseau de mur	52
Références	54

Ce chapitre permet d'introduire les différentes méthodes de synthèse et de préparation d'échantillon ainsi que les techniques de caractérisation utilisées lors de cette thèse. Pour cela, nous allons décrire dans une première partie la synthèse de peptides sur support solide, le couplage de l'ADN sur les peptides QRs et la synthèse des QRs. Ces étapes sont importantes à décrire car elles permettent d'obtenir les objets qui vont servir comme base pour cette thèse.

La deuxième présente les techniques de caractérisation « chimique », utilisées classiquement dans la caractérisation de peptides, comme la chromatographie en phase liquide sous haute pression (HPLC), la spectrométrie de masse et la RMN du proton, qui vont permettre une caractérisation simple de molécules organiques. Puis nous présentons les techniques utilisées en RMN du proton, du carbone et du phosphore, ainsi que les détails de la préparation des échantillons.

La caractérisation colloïdale de nos objets est effectuée par DLS, Zétamétrie. La spectroscopie infra-rouge est utilisée pour connaître les ligands de surface.

Concernant les propriétés optiques, les techniques de mesures de la fluorescence sont détaillées ainsi que les différents « setups » utilisés.

Nous détaillerons également les différentes techniques de microscopie électronique tel que le TEM, le SEM, le HRTEM et le STEM.

Les techniques de mesure et d'observation optique seront décrites dans la partie 6 de l'absorption UV-Vis aux observations en microscopie optique.

Nous introduirons ensuite la diffusion des rayons X aux petits et grands angles (SAXS, WAXS), techniques de choix pour caractériser nos matériaux cristallins. Nous décrirons les différentes lignes de lumière utilisées sur synchrotron et au laboratoire, ainsi que la préparation des échantillons et le traitement des données brutes.

Enfin nous détaillerons la préparation des moules permettant l'auto-assemblage des nanoparticules.

I. Synthèse chimique

Cette partie va permettre de décrire et de donner des détails sur la synthèse organique de peptides et sur la synthèse de nanoparticules. La synthèse de peptides, est expliquée même si elle est largement répandue. En effet, les peptides utilisés et synthétisés, sont spécifiques à nos études, ils ne comportent que trois acides aminés et des chaînes polyéthylène glycol ou alkyle. Ils seront donc appelés ligands peptidiques. Le couplage d'ADN amine 3' sur les particules fonctionnalisées avec un peptide possédant une fonction acide carboxylique libre sera également décrit.

Nous continuerons par la synthèse en solution des nanoparticules en décrivant les étapes suivies.

A. Synthèse sur support solide des peptides.

La synthèse peptidique sur support solide (SPPS) est basée sur des couplages successifs d'acides aminés sur un support de type polymérique (résine) insoluble dans le solvant de synthèse. La figure.II.1 en montre le schéma de principe :

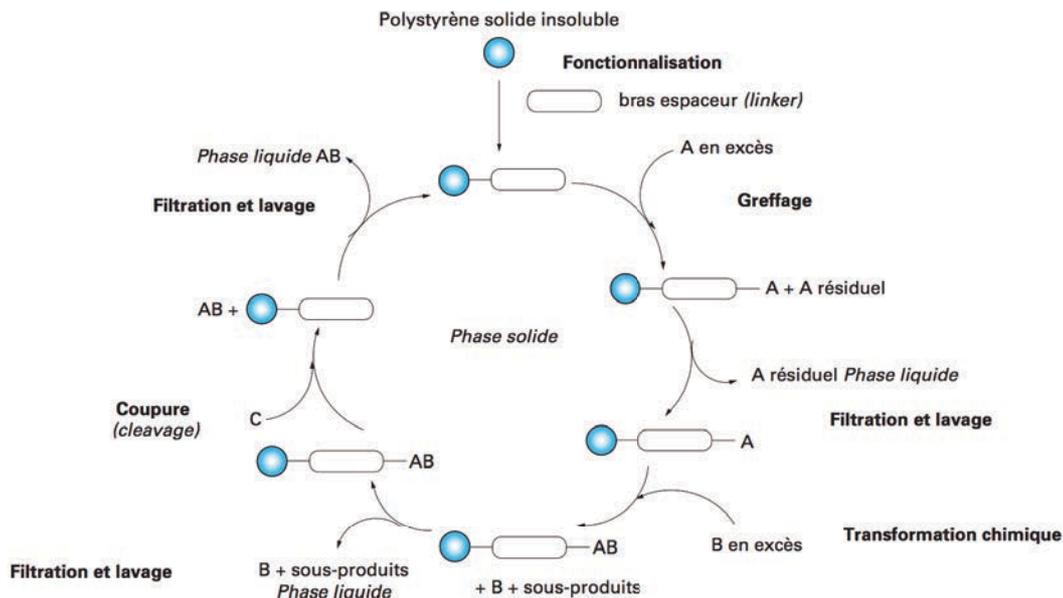


Figure.II.1. Schéma type de synthèse sur support solide.

La synthèse du peptide dépend du choix de la résine mais se fait généralement et dans notre cas de droite à gauche de la séquence, du résidu C-terminal au résidu N-terminal. Le lien qui va se former entre deux acides-aminés (AA), se fait à travers la formation d'une liaison amide. Cette liaison amide provient de la réaction entre la fonction amine de l'AA1 et la fonction acide carboxylique de l'AA2. (figure.II.2)

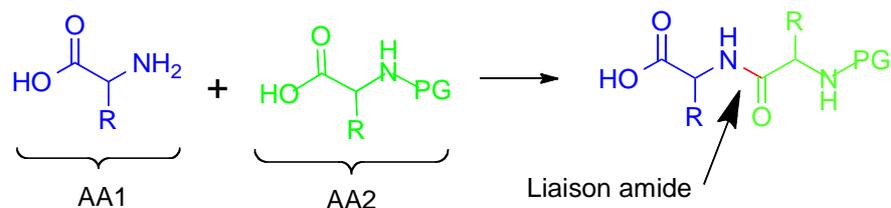


Figure.II.2. Formation d'une liaison amide entre la fonction amine de l'AA1 et la fonction acide de l'AA2

Lors de la synthèse de peptides sur support solide, il est nécessaire de prendre des précautions afin d'optimiser au maximum chaque réaction de couplage et ainsi éviter toute réaction secondaire ou non réaction. Dans le cas d'une synthèse classique, dans notre cas, chaque AA est protégé en fonction de la stratégie utilisée. L'AA voit sa fonction amine protégée par un groupement protecteur et également la fonction chimique se trouvant sur la chaîne latérale si nécessaire. Ayant choisi la stratégie Fmoc (Chlorure de Fluorenylméthoxy-carbonyle), et une résine de type rink amide, la fonction amine est protégée par des groupes Fmoc et la chaîne latérale par des groupe trityle (pour les thiols) ou tBu (tert-butyle ester) pour les acides carboxyliques.

La SPPS, étant une synthèse multi-étape, nécessite de très bons rendements à chaque étape. De ce fait, de nombreux agents de couplage ont été développés pour améliorer ces rendements.

Notre choix s'est porté sur le tandem *N,N*-diisopropyléthylamine (DIPEA) et le (2-(6-Chloro-1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylammonium hexafluorophosphate) (HCTU). La DIPEA, étant une base, elle permet de déprotoner la fonction acide carboxylique de l'AA, l'HCTU est ensuite attaqué par les électrons libres de cet ion carboxylate pour former un ester activé. Cet ester est attaqué à son tour par le doublet non liant de l'azote de la fonction amine d'un AA ou de la résine et se décompose en triazole et en un dérivé de l'urée. Le premier AA est alors couplé à la résine. (figure.II.3)

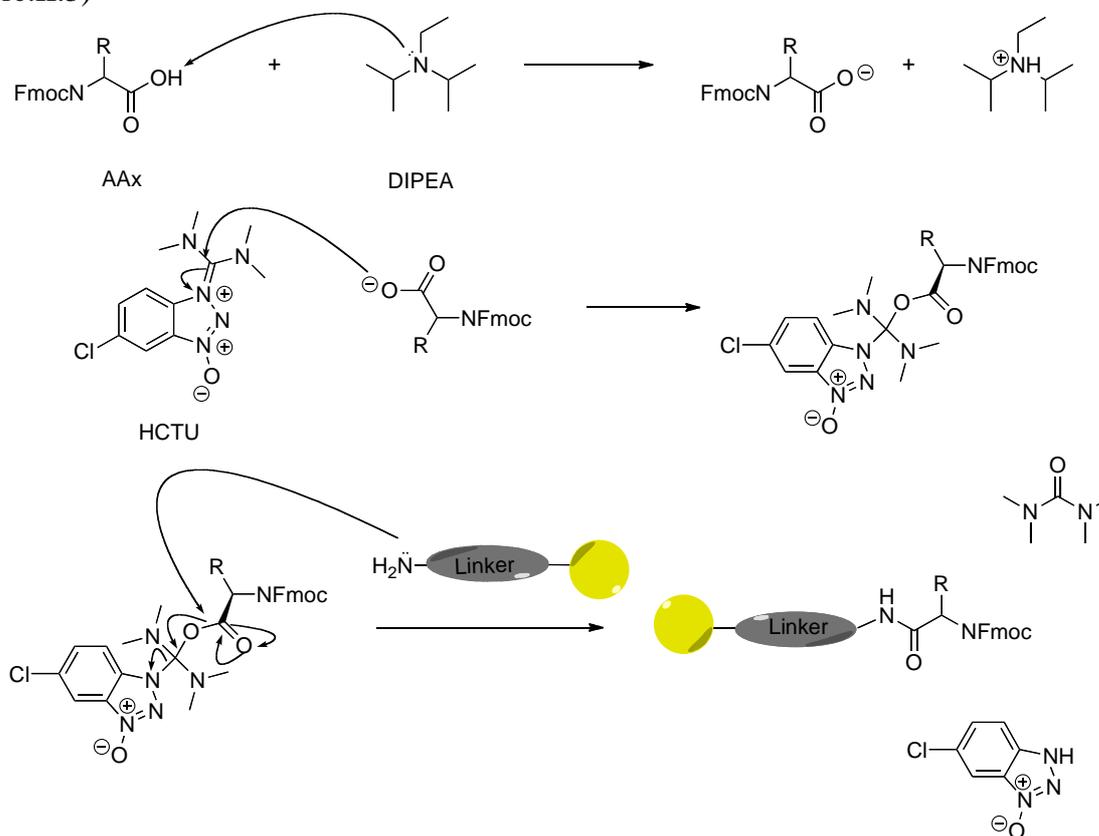


Figure.II.3. Schéma synthétique de l'activation du premier AAX par la DIPEA puis par l'agent de couplage HCTU pour lier chimiquement le premier AAX à la résine.

La résine, est protégée par le groupement Fmoc. La première étape de la synthèse est de gonfler la résine afin que l'espaceur se solvate correctement dans le solvant. Pour cette étape, un mélange de solvants est utilisé : dichlorométhane (DCM)/*N*-méthylpyrrolidinone (NMP). Après deux heures, le groupement Fmoc des sites actifs de la résine est clivé dans un mélange de pipéridine à 20 % dans la NMP.

Pour vérifier l'efficacité de la déprotection, un test à l'acide sulfonique trinitrobenzène (TNBS)¹ est réalisé à chaque couplage et déprotection. En effet, en fonction de la présence ou absence de fonctions NH₂, la résine change de couleur. En présence de TNBS et de DIPEA, si les sites actifs de la résine sont libres (amine primaire) elle devient rouge et lorsque la résine reste incolore, les sites actifs sont toujours protégés.

Les réactions de couplage peptidique se font en présence de base, la *N,N*-diisopropylethylamine (DIPEA) et d'un agent de couplage, le 2-(6-Chloro-1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylammonium hexafluorophosphate (HCTU) dans la NMP sous atmosphère inerte.

1. W. S. Hancock, J. E. Battersby, A new micro-test for the detection of incomplete coupling reactions in solid-phase peptide synthesis using 2,4,6-trinitrobenzene-sulphonic acid. *Analytical biochemistry* **71**, 260 (1976).

Une fois que tous les AA composant notre peptide sont ajoutés il reste à déprotéger les fonctions latérales puis à cliver le peptide de la résine comme le montre la figure.II.4.

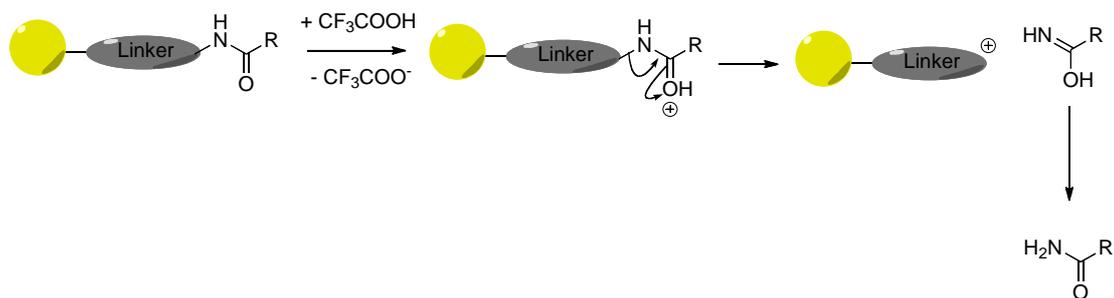


Figure.II.4. Clivage du peptide synthétisé de la résine par ajout d'acide trifluoro-acétique.

Cette étape se fait dans des conditions acides en présence d'un mélange d'acide trifluoroacétique (TFA) 95 %, d'eau et d'un réducteur l'éthane-dithiol (EDT) (95 :2.5 :2.5). Le clivage a lieu entre le CH benzylique et le NH de la résine pour avoir ainsi une fonction amide en position C terminale du peptide et éviter d'avoir des fonctions acides réactives pouvant engendrer des réactions secondaires type inter et intramoléculaires. Le mélange acide ajouté à la résine est agité pendant 4h sous argon. L'ajout de l'EDT permet d'éviter d'une part l'oxydation des thiols en ponts disulfures et, d'autre part, il permet de piéger les radicaux et les cations formés lors du clivage de la résine. Le peptide est récupéré par rinçage de la résine avec du TFA puis du DCM. Le mélange de solvants est ensuite évaporé afin d'éliminer l'EDT et le TFA. Le peptide obtenu est dissout dans un minimum de DCM puis précipité dans l'éther froid. Le peptide est alors centrifugé, le surnageant éliminé et de l'éther froid est rajouté sous agitation, afin d'éliminer les impuretés résiduelles dues au clivage, l'étape de centrifugation et d'élimination du surnageant est répétée trois fois. Le peptide obtenu est alors séché sous vide pendant 24 heures. Enfin, il est solubilisé dans de l'eau ultra-pure et lyophilisé.

B. Couplage de l'ADN sur les QRs-peptide

Le couplage de type peptidique entre les brins d'ADN (voir tableau.II.1) et les QRs fonctionnalisés avec les peptides possédant une fonction à la surface de type acide carboxylique s'effectue entre la fonction acide carboxylique C-terminale du peptide présent sur les QRs et la fonction amine présente sur les brins d'ADN.

Noms	Séquences
1A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₁₅ -NH ₂ -3'
1B	5'-ATT GGA TTG GAA GTA (T) ₁₅ -NH ₂ -3'
3A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₃₀ -NH ₂ -3'
3B	5'-ATT GGA TTG GAA GTA (T) ₃₀ -NH ₂ -3'
5A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₄₅ -NH ₂ -3'
5B	5'-ATT GGA TTG GAA GTA (T) ₄₅ -NH ₂ -3'

Tableau.II.1. Liste des brins d'ADN utilisé pour la fonctionnalisation des QRs

Les brins d'ADN ont été achetés chez IDT Inc., sous forme de poudre et ensuite solubilisés dans de l'eau millipore.

La fonctionnalisation a été adaptée du protocole décrit par Sun et al.² et se déroule de la façon suivante : Les QRs-peptides (0,6 μ M, 40 μ L) sont dilués dans un tampon borate à pH 7,1 (200 μ L, 50 mM) dans un ballon de 10 mL sous agitation. Rapidement, l'EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide), qui active l'acide carboxylique du peptide, et le sulfo-NHS, (*N*-Hydroxysulfosuccinimide) qui active la fonction amine présente sur l'ADN, sont ajoutés à la solution de QRs en très large excès (10000 équivalents) et enfin la solution d'ADN (300 mM, 100 équivalents) est ajoutée. Le mélange réactionnel est laissé à température ambiante pendant 24 heures.

La solution est alors centrifugée pour éliminer les agrégats formés lors du couplage (5000 rpm 5 minutes) puis le surnageant est récupéré et filtré par centrifugation (6000 RPM, 10 minutes) sur un filtre correspondant à un poids moléculaire seuil de 100 kDa. Ce filtre permet d'éliminer l'ADN en excès ainsi que les agents d'activation. Après la première filtration, la solution restante de QRs-DNA toujours présente au dessus du filtre, est diluée dans un tampon borate à pH 8,5 (200 μ L, 50 mM) et est à nouveau centrifugée (6000 RPM, 10 minutes). Ce cycle est répété 3 fois.

Après les étapes de filtration, les QRs-DNA sont récupérés. Leur concentration est déterminée par spectroscopie UV-Visible. Ils sont stockés avant usage au réfrigérateur.

C. Synthèse de nanobâtonnets semi-conducteurs (QRs)

1. Synthèse des Germes de CdSe

Produit	TOPO	ODPA	CdO	TOP (1)	TOP (2)	Se
m (g)	1,5	0,140	0,030			0,116
V (ml)				0,866	0,866	

Tableau.II.2. Masse et volume de produits utilisés pour synthétiser les germes

Le TOPO, l'ODPA et le CdO sont pesés et mélangés dans un ballon tricol de 50 mL sous agitation magnétique. Le mélange est chauffé et lorsque les réactifs sont sous forme liquide (environ autour de 50°C), le mélange est mis sous vide et est chauffé jusqu'à 150°C pendant une heure.

En parallèle le Se est solubilisé dans 0,866 mL de TOP (2) dans un Schlenk, sous agitation magnétique, le chauffage et la sonication de la solution de TOP Se peut être nécessaire.

Après une heure, le mélange TOPO, ODPA et CdO est porté à environ 320°C, sous flux d'argon, afin de pouvoir dissocier CdO. La réaction s'accomplit entre 10 et 30 minutes, et elle est totale lorsque la couleur du milieu réactionnel a disparu. Du TOP (1) est alors injecté rapidement et le milieu réactionnel est porté à la température voulue. Lorsque cette température est atteinte, le mélange TOP (2) : Se est injecté rapidement. Plus le temps de réaction est long, plus la taille du cœur augmente et plus la longueur d'onde d'émission augmente. La réaction est stoppée en retirant le ballon du chauffe ballon.

Afin de pouvoir utiliser les cœurs pour la synthèse des QRs, Les cœurs de CdSe, sont lavés par précipitation en utilisant un mélange Toluène : MeOH 1 :2, suivi d'une centrifugation à 5000 rpm pendant 6 min et ceci 3 fois consécutives. Une petite fraction des germes est prélevée afin de déterminer leur concentration par spectrométrie UV-Visible. Le spectre recueilli ne doit pas avoir

2. D. Sun, O. Gang, Binary Heterogeneous Superlattices Assembled from Quantum Dots and Gold Nanoparticles with DNA. *Journal of the American Chemical Society* **133**, 5252 (2011/04/13, 2011).

une absorption au pic excitonique à 350 nm supérieure à 0,1 afin d'éviter les erreurs dans le calcul de la concentration. Une fois la concentration des germes connue, une solution de ceux-ci à 400 μM est préparée dans le TOP. Cette solution est utilisable au moins pour 12 synthèses de QRs.

2. Synthèse de la coquille de CdS

De même que la synthèse du cœur, la synthèse de la coquille se fait en deux étapes parallèles.

Dans le cas de la première étape, le TOP, l'ODPA, l'HPA et le CdO sont mélangés dans un ballon tricol de 50 mL sous agitation magnétique. Le mélange est chauffé à 150°C et lorsqu'il devient liquide, le milieu réactionnel est mis sous vide pendant une heure.

La deuxième étape, se fait parallèlement à la première. TOP (2) et S sont mélangés dans un Schlenk sous forte agitation magnétique et chauffage si nécessaire.

Après une heure, le mélange TOP, ODPA HPA et CdO, est porté à 320°C sous flux d'argon, jusqu'à la dissociation complète de CdO (disparition de la couleur jaune orangé du milieu réactionnel). A ce stade, le TOP (1) (1,64 mL) est injecté puis la température est augmentée jusqu'à celle requise par l'utilisateur (380 °C). Le TOP (2) (1,64 mL de TOP): S : germes (200 μl à 400 μM) sont alors ajoutés et le mélange est laissé à réagir pendant 8 minutes. La réaction est stoppée en retirant le ballon du chauffe ballon et en réalisant une trempe thermique.

Comme pour les germes de CdSe, les bâtonnets, sont lavés par précipitation en utilisant un mélange toluène : MeOH 1 :2, suivi d'une centrifugation à 5000 rpm pendant 5 min, 3 fois de suite. Les QRs sont stockés dans le toluène et conservés au froid.

II. Techniques de caractérisation chimique

Les techniques de caractérisation chimique sont, dites de routine pour la chimie organique. Nous y présentons la spectrométrie de masse utilisée pour la caractérisation de peptides tout comme l'HPLC et la RMN. La partie traitant des techniques de RMN est plus développée, en effet nous avons effectué des mesures non classiques comme du DOSY, des dosages etc...

A. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet de détecter une ou des molécules en fonction de leurs masses. Le principe est basé sur l'ionisation de ces molécules qui en phase gazeuse permet de les séparer en fonction du rapport masse/charge (m/z). Il existe plusieurs techniques de spectrométrie de masse, mais la technique privilégiée pour les peptides ou molécules « naturelles » est la désorption-ionisation laser assistée par matrice ou MALDI. Cette méthode consiste à ioniser de façon douce, les molécules à analyser qui se trouvent co-cristallisées dans une matrice (figure.II.5.a). L'ionisation se fait par laser, les ions observés après cette étape sont dits quasi-moléculaires (figure.II.5.b).

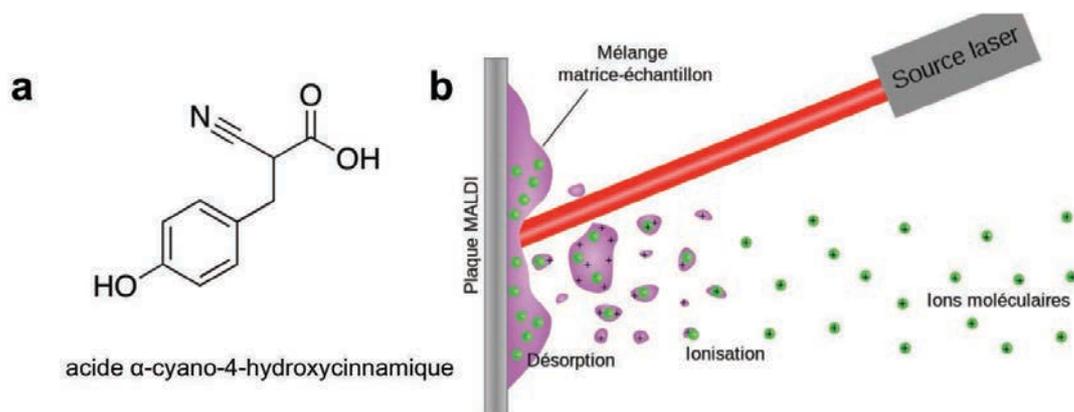


Figure.II.5. (a) résine α -ciano utilisée comme matrice pour l'analyse en spectrométrie de masse et (b) schéma de l'ionisation par laser des molécules à analyser.

L'ionisation se fait par l'addition d'un proton $[M+H]^+$, ou d'un autre cation, par exemple l'ion sodium $[M+Na]^+$, potassium $[M+K]^+$ ou encore par l'élimination d'un proton $[M-H]^-$. Il faudra donc en tenir compte dans le ratio m/z détecté par la machine.

Le détecteur est de type TOF, détecteur à temps de vol. Celui-ci permet d'accélérer les ions obtenus par la technique MALDI sous un champ électrique de valeur connue. Comme la vitesse d'un ion dépend du rapport masse/charge, on mesure le temps mis par l'ion pour atteindre le détecteur qui se trouve à une distance connue.

La préparation des échantillons se fait de la manière suivante : La résine, est dissoute dans un mélange H_2O à 0,1 % de TFA et d'acétonitrile (ACN). L'échantillon de molécules à analyser sous forme solide (après lyophilisation), en très faible quantité va être mélangé à quelques gouttes du précédent mélange (1 à 2 mg et 5 μL). Une goutte est alors déposée sur le support métallique permettant de jouer le rôle de cible. Les solvants sont évaporés à température ambiante et l'échantillon se retrouve co-cristallisé dans la matrice. Le porte-échantillon est inséré dans l'appareil, le vide est effectué et l'échantillon est ionisé par laser. La mesure étant quasi-directe, les pics peuvent être interprétés directement.

B. Technique d'analyse par HPLC

La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), est une technique de séparation et de préparation qui est basée dans notre étude sur la possibilité de séparer des molécules en fonctions de leur hydrophobicité.

Les peptides synthétisés, sont analysés sur un système ÄKTA-purifier-10 (GE Healthcare), en utilisant le logiciel de contrôle Unicorn Manager 5.1. La boucle d'injection peut contenir 10 μL . La colonne utilisée est une microsorb-MV-1005-C18 (phase inverse, CV = 4.115 mL), avec un débit de 0.5 $mL \cdot min^{-1}$. Les phases mobiles nommées A et B, sont les suivante A) 0,1% TFA dans de l'eau millipore et B) 0,08% TFA dans de l'acétonitrile (HPLC grade). Les mesures d'absorbance sont réalisées à 214, 280 et 340 nm. Les échantillons sont préparés à 5 $mg \cdot mL^{-1}$ dans l'éluant A. la macro suivante est préparée pour l'injection et l'analyse des peptides :

- lavage des pompes A et B.
- Equilibration de la colonne 5 CV(CV étant le volume mort de la colonne) par l'éluant A.
- Injection et remise à zéro des détecteurs et de la ligne de base.
- 100% d'éluant A pendant 2.5 CV
- gradient linéaire de 0 à 70% de l'éluant B (10 CV)

- maintien de 70% d'éluant B pendant 1 CV
- 100% d'éluant B pendant 2.5 CV
- retour à 0% d'éluant B et 100% d'éluant A pendant 5 CV

Les spectres alors enregistrés sont analysés et l'aire sous les pics est déterminée par le logiciel Unicorn permettant alors la détermination de la pureté du peptide.

C. RMN

La RMN est une technique qui exploite les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques qui possèdent un spin nucléaire. Les noyaux que nous allons étudier seront l'hydrogène ^1H , le carbone ^{13}C et le phosphore ^{31}P . Lorsque ces atomes sont soumis à un rayonnement électromagnétique, ils peuvent absorber l'énergie du rayonnement et la relâcher lors d'une étape de résonance dite de relaxation. L'énergie alors dissipée correspond à une fréquence très précise. Cette fréquence caractéristique du noyau est dépendante du champ magnétique et de l'environnement du noyau étudié. Connaissant le champ magnétique appliqué, nous pouvons étudier l'environnement des noyaux présents dans notre molécule. De plus, le signal détecté est proportionnel au nombre de noyaux.

Lors de la caractérisation de peptides, nous allons utiliser de la RMN 1D et 2D. La RMN 1D, nous permet de voir la fréquence à laquelle un seul de type de noyau répond ; ^1H par exemple. Nous allons alors observer un spectre qui montre l'intensité du signal vs le déplacement chimique (le déplacement chimique étant la fréquence de résonance d'un noyau par rapport à un standard). Cette technique est limitée si il y a un nombre important de protons qui possèdent un environnement différent. La RMN 2D permet de palier à cette limitation. Cette technique permet de coupler deux axes de fréquences. Il est possible d'effectuer un couplage homo-nucléaire mais aussi hétéro-nucléaire. Dans le premier cas, nous regardons les couplages proton-proton et dans le deuxième cas des couplages proton-carbone. Plusieurs techniques de RMN 2D existent. Dans notre étude nous avons utilisé deux techniques de corrélation appelée : Total Correlation Spectroscopy (TOCSY) et COrrélation Spectroscopy (COSY). La première permet de voir le couplage entre protons non consécutif. Tandis que la seconde permet de corréler les protons consécutifs. La technique utilisée en couplage hétéro-nucléaire : Heteronuclear Single-Quantum Correlation spectroscopy (HSQC) permet de regarder les couplages entre noyaux différents sur la même liaison chimique. Cette méthode va nous donner une réponse par couple de noyaux, dans notre cas ^1H et ^{13}C .

Une dernière technique a permis de mesurer le coefficient de diffusion des molécules. La Diffusion-ordered spectroscopy (DOSY) est un enregistrement en 2D, une des dimension correspond au déplacement chimique classique tandis que l'autre correspond aux coefficients de diffusions. Cette technique permet donc de séparer différentes espèces chimiques en fonction de leur coefficient de diffusion. Le procédé est le suivant, une série de spectres est enregistrée à différentes puissances de gradient de champ pulsé. La diminution des signaux enregistrée est analysée pour en extraire les coefficients de diffusion à l'aide du logiciel Topspin.

1. Technique d'enregistrement des spectres

a) Proton ^1H

Les spectres RMN proton et carbone ont été effectués sur un Ultrashield Bruker Avance opérant à 500 MHz possédant une cryo-sonde triple résonance TXI inverse de 5 mm.

Dans le cas des spectres proton 1D, une fenêtre spectrale de 12 ppm centré sur la résonance de l'eau a été utilisée. La suppression du pic de l'eau a été réalisée de deux façons, soit par présaturation de l'eau ou par gradient.^{3,4}

Dans le cas de la RMN 2D, les spectres ont été réalisés selon les séquences classiques fournies par le constructeur (Bruker). Les acquisitions ont été réalisées dans un mode écho-anti-écho avec sélection en Z-gradients. Les temps de mélange ont été de 100 ms pour le TOCSY et de 250 ms pour le COSY.^{4,5}

Pour le DOSY, les mesures ont été réalisées en utilisant la séquence Stejskal-Tanner PFGSE.⁶ 16 acquisitions ont été enregistrées en augmentant à chaque fois la puissance du gradient de champ le long du tube RMN, tandis que les autres paramètres sont gardés constants (3s de délais de relaxation, 8 scans, domaine de temps de 16 K). Les impulsions de gradient étaient de 5ms avec 150 ms de délais entre chaque impulsion.

b) Carbone ¹³C

Les spectres carbone /proton 2D ont été effectués sur le même appareil que les spectres protons. Le but de ces enregistrements de spectre 2D hétéro-nucléaire est de déterminer quel proton est sur tel carbone. Nous avons utilisé la technique dite HSQC seulement ici. Cette technique ne permet pas de déterminer quel carbone est quaternaire.

Les spectres carbones/protons dans notre cas, se sont effectués dans l'eau, les enregistrements se sont fait par double transfert INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer) ; qui permet d'augmenter l'intensité des pics du carbone ;en utilisant un gradient sélectif écho/anti-écho TPPI avec découplage durant l'acquisition. Les impulsions sont de types trim en mode de transfert INEPT. Les enregistrements sur la fréquence f2 sont effectués par des « shaped pulses » pour toutes les impulsions à 180 degrés complétées par des gradients dit « back-INEPT ». Cela permettant de supprimer le pic de l'eau (spectre du proton). Les paramètres d'acquisition sont : fenêtres spectrales de 10 ppm pour ¹H centré sur 4,7 ppm et de 160 ppm pour le ¹³C centré sur 75 ppm, domaine de temps de 2K x 320 points, 16 « dummy » scans et 8 scans d'enregistrement.^{7, 8, 9}

c) Phosphore ³¹P

Les spectres de ³¹P ont été enregistrés sur un Bruker Avance opérant à 500 MHz, équipé d'une sonde HR-MAS à triple résonance de 5 mm. La largeur spectrale utilisée est de 100 KHz centré à -15,6 ppm. Les spectres ont été enregistrés de la façon suivante : une séquence 1D, à découplage énergie-dépendant utilisant un angle d'inversion de 30° a été appliquée à l'échantillon. Les paramètres d'acquisition sont les suivants : un domaine de temps de 32K points, 2 secondes délais de relaxation, 2 « dummy » scans et 240 à 5000 scans par spectres enregistrés. Les spectres ont été ensuite transformés avec 16000 points.

3. T. L. Hwang, A. J. Shaka, Water Suppression That Works. Excitation Sculpting Using Arbitrary Wave-Forms and Pulsed-Field Gradients. *Journal of Magnetic Resonance, Series A* **112**, 275 (1995).

4. V. Sklenar, M. Piotto, R. Leppik, V. Saudek, Gradient-Tailored Water Suppression for 1H-15N HSQC Experiments Optimized to Retain Full Sensitivity. *Journal of Magnetic Resonance, Series A* **102**, 241 (1993).

5. M. Piotto, V. Saudek, V. Sklenar, Gradient-tailored excitation for single-quantum NMR spectroscopy of aqueous solutions. *J Biomol NMR* **2**, 661 (1992).

6. E. O. Stejskal, J. E. Tanner, Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *The Journal of Chemical Physics* **42**, 288 (1965).

7. A. G. Palmer III, J. Cavanagh, P. E. Wright, M. Rance, Sensitivity improvement in proton-detected two-dimensional heteronuclear correlation NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **93**, 151 (1991).

8. L. Kay, P. Keifer, T. Saarinen, Pure absorption gradient enhanced heteronuclear single quantum correlation spectroscopy with improved sensitivity. *Journal of the American Chemical Society* **114**, 10663 (1992).

9. J. Schleucher *et al.*, A general enhancement scheme in heteronuclear multidimensional NMR employing pulsed field gradients. *J Biomol NMR* **4**, 301 (1994).

2. Préparation des échantillons à analyser

a) Enregistrement d'un spectre

Les enregistrements des spectres RMN « classiques » proton, carbone et phosphore se font dans des tubes RMN classique (volume de 700 μL) ou des micro-tubes (200 μL). Les échantillons sont solubilisés dans des solvants deutérés. Pour les molécules hydrophobes, les solvants utilisés sont le chloroforme deutéré (CDCl_3) ou le toluène deutéré ($\text{C}_6\text{D}_5\text{CD}_3$), dans lesquels, environ 5-10 mg de produits sont dissous. Dans le cas des molécules hydrophiles, les échantillons sont solubilisés dans l'eau deutérée (D_2O), soit 100% D_2O ou un mélange $\text{H}_2\text{O} / \text{D}_2\text{O}$ 90:10.

b) Préparation du dosage

Dans le cas du dosage, des QRs-peptides par des peptides ou inversement, les échantillons sont solubilisés dans de l'eau deutérée en présence d'un tampon. Le peptide est directement solubilisé dans le tampon deutéré. Dans le cas des QRs, l'échange va se faire en présence du peptide dans de l'eau deutérée, mais sans tampon. Le tampon deutéré est lui ajouté lors du lavage des QRs par chromatographie d'exclusion stérique.

Une fois, les deux solutions préparées à concentration connue, un premier tube de RMN (700 μl) est rempli d'une solution à 1 mM d'acide Triméthylsilyle propanoïque (TMSP) dans D_2O (400 μl). Un deuxième tube contenant l'échantillon à doser (200 μl) y est inséré (tube RMN dont le bas a été affiné et permet d'avoir la solution de TMSP autour comme le montre la figure.II.6). Connaissant la concentration du TMSP et celle-ci n'étant pas touchée par la titration, le TMSP va servir de référence externe, ce qui va permettre de déterminer la concentration de produit titré.

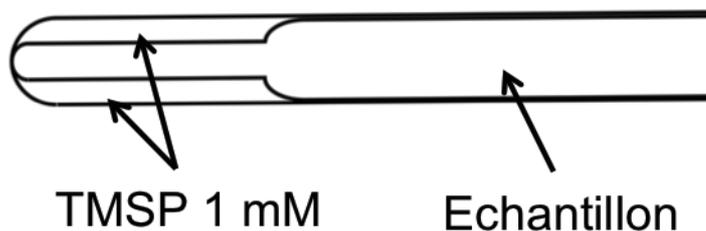


Figure.II.6. Schéma explicatif des tubes RMN utilisés pour le dosage.

III. Caractérisation colloïdale

Cette partie de la caractérisation se porte sur l'aspect colloïdal du projet, l'ensemble particule-ligands. Pour cela, des mesures de Diffusion dynamique de la lumière permettant l'estimation de la taille des colloïdes ainsi que des mesures de potentiel Zéta donnant une mesure indirecte de la charge ont été effectuées. Enfin, la FTIR permet de déterminer la nature chimique des ligands sur les particules.

A. Détermination de la taille par diffusion dynamique de la lumière (DLS)

Cette technique est basée sur une diffusion dynamique de la lumière par des colloïdes en solution. Cette diffusion va permettre de mesurer le diamètre hydrodynamique des colloïdes ; ce diamètre inclut la particule physique ainsi que plusieurs couches d'hydratation dont l'épaisseur dépend des ligands de surface, de la force ionique et du solvant. Il est alors possible de suivre l'évolution de la taille de ces colloïdes en fonction du temps afin d'évaluer leur stabilité contre l'agrégation.

Les mesures sont effectuées par un Zétasizer Nano_ZS ZEN 3600 (Malvern Instruments). Le mode de fonctionnement est le suivant : un laser ($\lambda = 633$ nm) illumine l'échantillon dans une cuvette, les photons diffusés sont collectés par le détecteur (un photomultiplicateur) avec un angle de 173° (par rapport au faisceau laser).

Les échantillons, doivent avant analyse, être dilués très fortement ($\times 5000$) dans des cuves jetables en PMMA par de l'eau millipore préalablement filtrée (pores de $0,2 \mu\text{m}$, Millec GV, Sigma-Aldrich). L'échantillon dans la cuve fermée, est inséré dans l'appareil et 3 mesures de 10 scans chacune sont effectuées.

B. Détermination de la charge par zétamétrie

Les mesures de potentiel Zéta, se font sur le même appareil que les mesures de DLS. La zétamétrie permet de mesurer la mobilité électrophorétique de colloïdes en solution. Cette mobilité est reliée au potentiel Zéta par :

$$\mu = H(\kappa a) \frac{2\varepsilon\zeta}{3\eta}$$

ε est la constante diélectrique du solvant, $1/\kappa$ la longueur de Debye (fixé ici à 1.35 nm, a le rayon de la particule, η la viscosité du solvant (celui de l'eau dans l'étude : $0,89$ CP à 25°C) et $H(\kappa a)$ est la fonction de Henry.

La mesure du potentiel Zéta, dépend des espèces présentes en solution. En effet il est pondéré par l'espèce la plus chargée et la plus diffusante pour la lumière. Dans le cas de nos mesures sur un mélange de NPs et de petites vésicules uni-lamellaires (SUV), les QRs diffusent plus fortement la lumière que les SUV et sont aussi plus mobiles. Les mesures vont donc être pondérées par les QRs seuls lors de la formation de complexes par les QRs-/SUV+, cela à cause de leur densité électronique élevée.

Les solutions de QRs- (2.5×10^{-8} M) et de SUV (20 mg.ml^{-1}) sont injectées dans des cuvettes en forme de U, ($400 \mu\text{L}$, Malvern), et en fonction du dosage effectué puis une solution de SUV ou de QRs est ajoutée au fur et à mesure en petite quantité. 3 mesures de 10 scans sont effectuées pour chaque échantillon lors du dosage

C. Caractérisation chimique de la couche organique de ligand par FTIR.

Les spectres infrarouge des molécules organiques seules et de celles à la surface des nanoparticules se font à l'aide d'un spectromètre Varian 640-IR en mode ATR (attenuated total reflectance). L'utilisation du mode ATR permet de préparer des échantillons plus facilement et de travailler avec de plus faible quantité de produit.

Les échantillons sont préparés de deux façons : lorsqu'il s'agit de poudres celles-ci sont déposées sur le cristal et pressées, et dans le cas de liquides quelques gouttes sont déposées. Les ligands utilisés dans cette étude, se trouvant sous forme de poudre, sont pressés (peptides et ligands phosphorés) sauf le TOP qui lui est liquide, il est simplement déposé et analysé. Dans le cas des NPs hydrophiles ou hydrophobes, après élimination des ligands en excès, celles-ci sont lyophilisées puis déposées comme une poudre sur le cristal d'ATR et pressées.

L'enregistrement des spectres se fait de 500 à 4000 cm^{-1} . Le nombre de scan par échantillon dépend de la quantité de matériel. Par exemple, dans le cas des ligands, pour avoir une bonne précision, 250 scans sont effectués. Par contre, pour les QRs, 4000 scans sont nécessaires pour avoir le meilleur ratio signal/bruit.

IV. Techniques optiques

Dans ce travail, les techniques optiques classiques ont été utilisées : la spectroscopie UV-Visible, la microscopie optique et la spectroscopie de fluorescence.

A. Spectroscopie UV-visible

Les mesures des spectres d'absorption UV-Visible dans tous les cas, sont effectuées avec appareil Varian Cary 100 Scan double faisceau. Les spectres sont enregistrés entre 300 et 700 nm dans des cuvettes en quartz de 1 cm de longueur.

Les échantillons sont préparés de façon à obtenir une absorbance comprise entre 0,1 et 0,01. Pour se faire les échantillons sont dilués jusqu'à obtenir une absorption inférieure à 0,1. Dans le cas des échantillons absorbant dans le visible, ils apparaîtront légèrement colorés.

Les cuvettes utilisées sont deux de volumes différents, 600 μ l et 130 μ l. Le choix de la cuve dépend de la quantité d'échantillons disponible.

Le calcul de la concentration en QRs se fait en utilisant la formule suivante ¹⁰:

$$A_{350} = \epsilon_{350} \times C \times l$$

Avec :

ϵ_{350} (coefficient d'absorption) qui est calculé à partir de $\epsilon_{350} = (0,38 \times 10^{26}) \times V$. V est ici le volume du QRs, obtenu en connaissant la taille des QRs dans l'échantillon.

A_{350} : absorption à 350 nm

l est la longueur de la cuvette par laquelle passe le faisceau de lumière

B. Microscopie optique

Les observations en lumière blanche ou par lampe à vapeur mercure U-RFL-T et encore en micro-spectrométrie de fluorescence ponctuelle, sont réalisées sur un microscope inversé Olympus IX-71. Le microscope est équipé de 3 objectifs : x5, x10 et x20. La platine motorisée (voir 1.1.2.B) permet de contrôler le déplacement par ordinateur ou manuellement avec un joystick.

Le microscope est également équipé d'un appareil photo (Olympus Camedia 50-60WZ, 5.1Mpixels), permettant de photographier les échantillons regardés en lumière blanche, ou en fluorescence provenant d'une excitation laser ou par lampe à mercure et enfin en lumière polarisée.

C. Fluorescence

1. Fluorimétrie sur un ensemble de NPs

Les spectres d'émission de fluorescence sont enregistrés sur un Fluorolog-3 (fluorimeter Horiba-Joba Yvon). La source est une lampe xénon de 450W. Lors de la mesure, l'intensité est collectée à 90° par rapport à la source. Des fentes permettent de moduler l'intensité de flux lumineux incident et réémis par l'échantillon (généralement la largeur des fentes est de 3 millimètres).

Les échantillons par défaut sont analysés auparavant par spectrométrie UV-Visible (la préparation est donc identique). Les spectres d'émission sont enregistrés à partir de $\lambda = \lambda_{ex} + 20$ nm d'excitation jusqu'à 700 nm (λ_{ex} désignant la longueur d'onde d'excitation). Par exemple, pour des QRs ayant un pic excitonique à 490 nm, l'excitation se fait à 490 nm et le spectre de fluorescence est enregistré entre 510 et 700 nm. La longueur d'onde d'excitation dans le cas des

10. R. Alam, D. M. Fontaine, B. R. Branchini, M. M. Maye, Designing Quantum Rods for Optimized Energy Transfer with Firefly Luciferase Enzymes. *Nano Letters* **12**, 3251 (2012).

QRs correspond au maximum excitonique et dans le cas de fluorophore organique à leur maximum d'absorption.

Les spectres sont exportés directement sous le programme Origin, et traités.

La détermination du rendement quantique de fluorescence se fait de la façon suivante : Une solution de QRs possédant une absorption inférieure à 0,05 (à la longueur d'absorption du maximum du pic excitonique), est comparé à un fluorophore organique dont le rendement quantique est connu, la Rhodamine 6G (RH6G, Sigma-Aldrich) dans notre cas. La solution de ce fluorophore se prépare de la même façon que les QRs, en vérifiant que son maximum d'absorption est bien inférieur à 0,05. Lorsque les spectres de fluorescence et d'absorption UV-visible sont enregistrés, la formule suivante est appliquée :

$$\Phi = \Phi_R \frac{I}{I_R} \times \frac{OD_R}{OD} \times \frac{n^2}{n_R^2}$$

Equation.2. 1, Equation permettant le calcul du rendement quantique de fluorescence d'un chromophore organique ou d'un lot de particule fluorescente.¹¹

Où, n désigne l'indice de réfraction de la solution de l'échantillon, n_R celui de la référence ; OD est la densité optique (OD celle de l'échantillon et OD_R celle de la référence) ; I est l'aire sous la courbe de fluorescence (I celle de l'échantillon et I_R celle de la référence) ; et enfin, Φ_R le rendement quantique de la rhodamine 6G qui est égal ici à 0.96 et Φ celui de l'échantillon.¹¹

2. Micro-spectrométrie de fluorescence ponctuelle

a) Montage au laboratoire (IPR)

Cet aspect de mesure de fluorescence a été développé par Etienne Henry lors de sa thèse. La spectroscopie de fluorescence classique se fait en cuvette, sur une solution et dans un « grand volume ». Dans le cas d'une mesure de fluorescence sur un objet après séchage ou alors en un point précis, les appareils classiques de fluorescence ne sont pas utilisables. Le montage optique effectué va nous permettre grâce au couplage entre un laser, un microscope et un spectromètre, de mesurer en un point défini par le grossissement de l'objectif du microscope, l'intensité et la longueur d'onde d'émission de fluorescence de l'objet choisi. Le grossissement utilisé et généralement x20 et permet une résolution latérale de 5 μm . L'enregistrement des spectres se fait par série de 100 acquisitions de temps variable en fonction de l'intensité de fluorescence émise par l'échantillon. Un logiciel développé par Etienne Henry sous Labview permet le contrôle des paramètres d'enregistrement. Le traitement des données se fait a posteriori avec Igor Pro.

La source excitatrice est un laser continu ou pulsé à diode (Coherent cube-405C, raie à 405 nm, puissance modulable entre 0 et 50 mW). L'échantillon atteint par le faisceau laser peut être déplacé par une platine motorisée (Märzhäuser Ltype). L'émission de fluorescence est récupérée par une fibre optique ($\varnothing=200 \mu\text{m}$, N.A.=0,8) et relié à un spectromètre (Avantes, Avaspec-2048).¹²

b) Montage optique à Brookhaven National Laboratory

Les études de spectroscopie résolue en temps et sur particule unique ont été réalisées au Center for Functional Nanomaterials à Brookhaven National Laboratory Long Island USA, dans le laboratoire de Mircea Cotlet.

11. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence spectroscopy*. (Springer, 2006).

12. E. Henry, Université de Rennes 1 (Thèse 2007).

L'analyse se fait sur un microscope Olympus IX81 inversé possédant un objectif à huile x100 de forte ouverture numérique ($N.A. = 1.40$). Les échantillons sont déposés sur une platine piézo-électrique permettant un positionnement de résolution nanométrique (Physics instrument 100x100 microns). Quatre photodiodes à avalanche (temps de réponse 100 picosecondes) permettent d'enregistrer le signal ainsi qu'un système de corrélation temporelle de comptage de photon unique basé sur le système PicoHarp300. Les spectres d'émission de fluorescence sont enregistrés par un système Acton SP2300i combiné avec une caméra CCD PIXIS 100 rétro-éclairé d'efficacité quantique de 90 %.

La source d'excitation est un laser femto seconde (400nm) à fréquence de répétition variable.

Les paramètres que nous avons utilisés sont les suivants :

- puissance lasers : 80 % de sa puissance maximum sur particule unique et 18% sur les assemblages ou particules concentrés.
- temps d'accumulation des spectres de 60s pour les mesures résolues en temps et de 100 ms pour les spectres d'émission de fluorescence.

Les traitements post-analyse se font sur le logiciel SymPhoTime.

V. Microscopies électroniques

Nous allons développer dans cette partie, l'utilisation des appareils de microscopie électronique ainsi que la préparation des échantillons

A. Microscopie électronique à transmission (TEM et HRTEM/STEM)

La microscopie électronique utilise une source d'électrons à la place de photons utilisés en microscopie optique. Un système de lentilles magnétiques permet de manipuler le faisceau d'électrons et de le focaliser sur échantillon extrêmement fin. Le faisceau d'électrons devra lors traverser l'échantillon pour en obtenir une image. Il faudra donc travailler avec des échantillons peu épais.

Le TEM sert ici au contrôle de la morphologie des nanoparticules et ainsi à mesurer efficacement leur dimension. Ces analyses sont effectuées sur un JEOL 1400 opérant à 120 kV, équipé d'une caméra ORIUS 1000. Le TEM est piloté par un ordinateur et les images sont visualisées sur un logiciel digital Micrograph. Ces analyses sont réalisées à la plateforme Mric TEM Biosit de l'université de Rennes 1. Les échantillons de nanoparticules sont préparés en diluant celle-ci 1000x à partir d'une solution post-synthétique. De façon simple, l'échantillon doit être très légèrement coloré. Cette dilution permet de ne pas surcharger la grille de formvar (Agar Scientifique) sur laquelle l'échantillon va être déposé (1 à 2 gouttes). Si la dilution est efficace, la grille ne portera qu'une seule couche de NPs éparpillées. Les images enregistrées sont alors analysées avec le logiciel ImageJ, qui permet entre autre de mesurer les tailles de façon automatisée.

Le HRTEM, TEM haute résolution, permet également d'étudier la morphologie des QRs, mais au niveau d'un QR unique. Il est possible d'observer les atomes de surface. Les observations sont faites sur un JEOL 2200FS possédant un correcteur d'aberration opérant à 200 kV. Cet appareil possède de plus un mode STEM-HAADF, qui permet de contraster les atomes en fonction de leur numéro atomique. De ce fait il est alors possible au sein d'une particule, si les atomes possèdent une masse atomique élevée, de les différencier. En effet, Nos particules sont constitué de cadmium, sélénium et de soufre. Le cadmium et le sélénium possèdent un numéro atomique élevé et peuvent être directement observé en HRTEM. De plus le sélénium et le cadmium possèdent un numéro atomique assez différent pour permettre leur différenciation. Les particules sont déposées

sur une membrane en nitrure de silicium, (50 nm d'épaisseur) et sont insérées sous vide sous le faisceau d'électrons.

Les clichés obtenus par cette méthode permettent également grâce au logiciel ImageJ, de faire des transformées de Fourier (FFT) des images d'une NP et donc de déterminer si la particule est cristalline ou non. Les FFT étant faites sur des clichés haute résolution, nous pouvons en déduire les différents réseaux cristallins présents dans une particule.

Afin d'observer l'intérieur des murs résultant du séchage sous une surface microstructurée, les structures ont été dans un premier temps protégées par déposition i) de carbone (500 nm) dans un Q150T ES coating system (Quorum Technologies) ii) puis par 1 à 2 μm de platine par craquage de $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{Pt}$ dans un STRADA DB 235 Focus Ion Beam (FIB) (FEI). Les structures ont ensuite été découpées perpendiculairement à la crête du mur par un FIB de Gallium, extraites avec un micromanipulateur, amincies jusqu'à une transparence électronique et enfin nettoyées à faible voltage.

B. Microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB) est effectuée sur un FEI Magellan 400L équipé d'un canon à émission de champ, et fonctionnant à la tension d'accélération de 15 kV et 0,2 nA de courant de sonde.

Les échantillons sont préparés sur une surface conductrice (silicium ou ITO) et sont séchés suivant le protocole de séchage (décrit plus bas), puis insérés dans l'appareil. Le vide est effectué et les échantillons sont observés.

VI. Technique des Rayons X

Les Rayons X sont des ondes électromagnétiques dont la longueur d'onde est de l'ordre de l'Angström. Ils peuvent être générés de plusieurs façons, par exemple par l'impact d'électrons sur un métal ou par rayonnement synchrotron.

Les Rayons X du fait de leurs longueurs d'ondes, peuvent être utilisés pour sonder la matière ordonnée dont les paramètres géométriques sont du même ordre de grandeur que la radiation. Les Rayons X interagissent avec la matière au niveau électronique et peuvent être absorbés puis réémis par les atomes sous deux formes de rayonnements (électrons ou rayonnement X de fluorescence) ; Le rayon peut également être dévié de sa trajectoire avec une perte d'énergie (effet Compton). Il peut également être simplement dévié sans perte d'énergie (diffusion).

Le principe de la mesure est le suivant : un faisceau de longueur d'onde fixée (λ) d'incidence θ est diffracté par des plans réticulaires dans une structure périodique. Ces plans sont espacés d'une distance d . Si le faisceau est diffracté selon la loi de Bragg, il est dévié d'un angle 2θ par rapport au faisceau incident (figure.II.7.a et b). Nous obtenons l'équation suivante : $2d \sin\theta = n\lambda$.

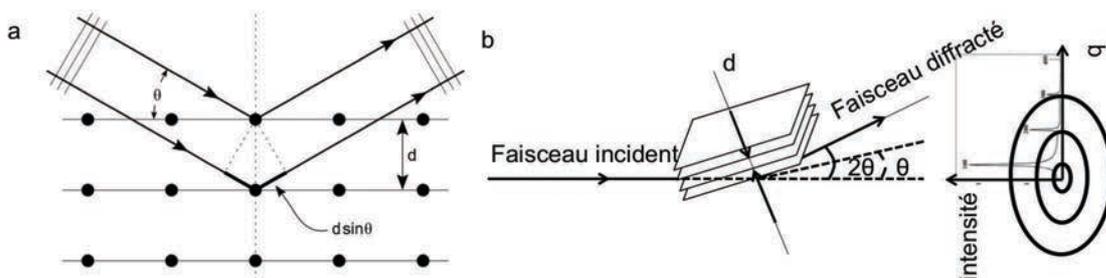


Figure.II.7. a) diffraction de rayons X sur un réseau cristallin b) principe de la diffraction sur un échantillon lamellaire.

Dans le cas où les distances sondées sont grandes (dans notre cas de 50 à 4 nm), les angles de diffractions 2θ sont petits. On parle alors de diffraction de rayons X aux petits angles (SAXS). Dans notre travail nous allons travailler dans l'espace réciproque q , qui est lié à d par l'équation suivante : $q = \frac{2\pi}{d} = \frac{4\pi \sin \theta}{\lambda}$

Dans le cas où nos échantillons ne sont pas des monocristaux, mais des poudres, les figures de diffraction obtenues après analyse ne sont plus des points mais des cercles concentriques formés d'un ensemble de points.

A. Préparation des échantillons

Pour les échantillons en solution, les capillaires sont scellés après injection de l'échantillon. Pour ceux que l'on souhaite sécher, le capillaire non scellé est placé sous vide seulement pour les suspensions en solvant organique et en présence de P_2O_5 pour les suspensions aqueuses pendant une semaine. Puis ils sont scellés pour éviter la réhydratation par l'humidité de l'air.

B. Les différentes lignes

Lors de cette thèse, nous avons effectué des mesures sur différents montages et sources de SAXS. Les sources doivent pouvoir fournir un faisceau faiblement divergeant qui permet avec une grande distance échantillon détecteur de séparer le faisceau direct du faisceau diffracté.

Du fait de la distance échantillons détecteur, l'air va diffuser le faisceau de rayon X. Pour éviter la diminution du signal et l'augmentation du bruit, une chambre à vide est généralement placée entre les échantillons et le détecteur.

C. Synchrotron Soleil, ligne SWING.

Le rayonnement synchrotron provient de l'accélération d'électrons par différents éléments (booster, groupeur...) avant le transfert dans un anneau de stockage (dans ce cas de 354 m). Cet anneau est une succession de virages et de lignes droites où sont placés les éléments magnétiques d'insertion et de réglage du faisceau.

Le rayonnement provient du déplacement non rectiligne et non uniforme des électrons, qui sous accélération perdent de l'énergie sous forme de photons. Cette perte d'énergie est compensée ensuite par deux cavités accélératrices.

La ligne SWING est dédiée à la matière molle, aux matériaux composites et à la conformation des macromolécules en solution. Cette ligne permet des observations dans des gammes d'énergie 5 à 17 KeV. La distance détecteur échantillons est variable entre 0,5 et 8 mètre et la taille du faisceau est généralement de $200 \times 40 \mu\text{m}$.

D. Au laboratoire (IPR).

Le laboratoire possède son propre montage. La source est une micro source GeniX 3D de Xenocs ($30 \mu\text{m}$). Cette source émet une radiation ($\text{Cu K}\alpha$) à $1,54 \text{ \AA}$ (8 KeV). Un montage à deux fentes permet d'obtenir un montage sans forte divergence du faisceau. Le détecteur est un Pilatus 300K de Dectris possédant une technologie de pixels hybrides. Cela permet de compter les photons un par un et donc d'éliminer le bruit du détecteur et le courant d'obscurité.

E. Intégrations et interprétation des résultats.

Après avoir analysé un échantillon, nous obtenons une image d'anneaux concentriques (figure.II.7.b). Ces images sont étudiées en intégrant radialement la figure de diffraction par le logiciel FIT2D ou par un programme élaboré au laboratoire. Le graphique : $I(q)$ est ensuite tracé il consiste à tracer l'intensité du signal en fonction de q (distance dans l'espace réciproque par rapport

au faisceau direct). Il permet d'obtenir si il existe des pics de Bragg dont les positions les un par rapport aux autres sont reliées par des facteurs de proportionnalité directement dépendant des paramètres cristallographique de Miller (h, k, l). Ainsi on peut déduire les distances caractéristiques et identifier la maille du cristal.

VII. Préparation d'échantillons

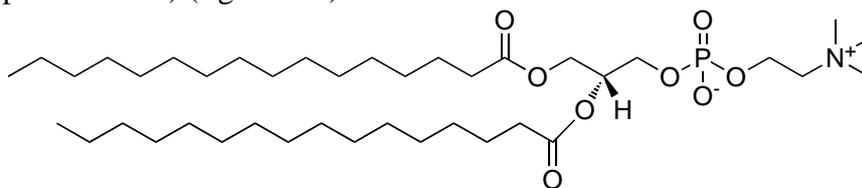
La préparation d'échantillons permet de présenter la préparation des « moules » qui vont utilisés pour former des réseaux de particules cristallisées. Nous montrons dans la première partie la formation de vésicules LUV et SUV, neutres ou chargés et dans une deuxième partie la préparation de moule de PDMS possédant un motif de répétition en forme de plot.

A. Vesicules

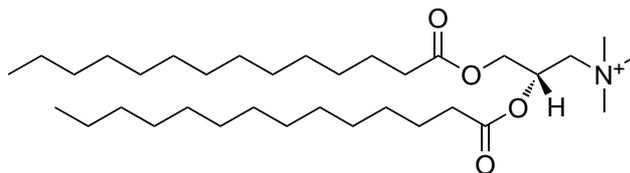
1. LUV (Large Unilamellar Vesicles)

Les LUV, sont des vésicules dont le diamètre est compris entre 0,1 et plusieurs centaines de nanomètre. Ces vésicules sont synthétisées par extrusion.

Deux lots de LUV de compositions lipidiques différentes ont été préparés au laboratoire, un lot donne des vésicules de charge globalement neutre, le second donne des vésicules chargées positivement en surface à partir d'un mélange de DMPC (lipide zwitterionique) et de DMTAP (lipide chargé positivement) (figure.II.8).



1,2-Dimyristoyl-*sn*-Glycero-3-Phosphocholine (DMPC)



1,2-ditetradecanoyl-3-trimethylammonium-propane (DMTAP)

Figure.II.8. Formule développée des deux phospholipides DMPC et DMTAP utilisé dans la formation de SUV et de LUV.

Les LUV sont préparés à une concentration massique de 20 mg.mL^{-1} dans le chloroforme. Des lots de vésicules composées de 100% DMPC ($29,5 \mu\text{mol}/200 \mu\text{L}$) et (80/20)(DMPC : DMTAP, $21,05 \mu\text{mol}/5,27 \mu\text{mol}$) sont préparées.

Après l'homogénéisation des solutions le solvant est évaporé sous vide. Un film lipidique se forme alors sur les parois du ballon (50 mL). Ce film est mis en contact avec 1 mL d'une solution aqueuse (sucrose/ NaCl/NaN₃, 30 mM : 10 mM : 100 μmol). La solution est alors soumise à 5 cycle congélation (Azote liquide)/décongélation (eau tiède) afin de décoller le film lipidique. La suspension turbide est alors extrudée (thermobarrel extrudeur, lipex Membrane) à travers une membranes de pores calibrés en taille (100 nm) sous pression d'azote (20-25 bar). Cette étape est répétée 10 fois afin d'obtenir des LUV bien monodisperses en taille. Les LUV sont alors calibrées en taille ce qui est vérifié par DLS.

2. SUV (Small Unilamellar Vesicles)

Les SUV, possèdent un diamètre compris entre 20 et 100 nm et donc un fort rayon de courbure. Les SUV sont synthétisées au laboratoire par sonication à partir des molécules DMPC et DMTAP. Des lots de vésicules composées de DMPC : DMTAP (80 : 20) : 28,55 μmol /5,53 μmol et DMPC : DMTAP (50 : 50) : 22,31 μmol /11,77 μmol sont préparés dans le chloroforme.

Après l'homogénéisation des solutions le solvant est évaporé sous vide. Un film lipidique se forme alors sur les parois du ballon (50 mL). Le film est alors mis en contact avec 1 mL d'eau millipore afin de décoller le film lipidique. Les films vont s'hydrater et sont ensuite soumis à 2 cycles chaud (étuve à 50 °C)/ froid (réfrigérateur 4 °C) de 30 minutes chacun. Les solutions sont vortexées de temps en temps pour homogénéiser le milieu. La suspension de vésicules multi lamellaires est soumise une sonde à ultrasons (sonicateur Microson Ultra Sonic Cell Disruptor XL, sonde titane de 5 mm, puissance 2-3) pour former les SUV. Afin d'éviter tout échauffement, le ballon est placé dans un bain de glace et la sonication se fait par séquences de 15 à 20 secondes, pendant 15 minutes. Lorsque la solution est devenue limpide, la sonication est arrêtée, elle est transférée dans des eppendorfs et centrifugée à 20000 g afin d'éliminer les résidus de titane provenant de la sonde. La taille des SUV est déterminée par DLS. La suspension de SUV est utilisé moins de 24h après préparation.

B. Formation du réseaux de murs de QR

1. PDMS

Afin de former un réseau macroscopique de mur, un moule en PDMS a été fabriqué. La première étape est la préparation du moule en silicium (négatif) possédant le motif désiré. Cela est réalisé par des techniques de lithographie dites douces.

Une fois le moule réalisé, il faut préparer le PDMS. Le PDMS est à température ambiante un liquide visqueux. Pour pouvoir réaliser un moule « dur », un agent de réticulation y est ajouté dans un rapport 1/9. Ce mélange après agitation manuelle, est dégazé. Lorsque le mélange ne présente plus de bulle, le vide est cassé et le mélange peut être utilisé directement ou conservé sous cloche (sans vide). Le moule est alors lavé et séché et le mélange peut y être versé. Après une heure à 65 °C, ce qui permet la réticulation du PDMS (figure.II.9.a), nous obtenons un élastomère transparent, qui est facilement décollé du silicium. Les moules de PDMS utilisés présentent alors les caractéristiques montrées figure.II.9.b.¹³

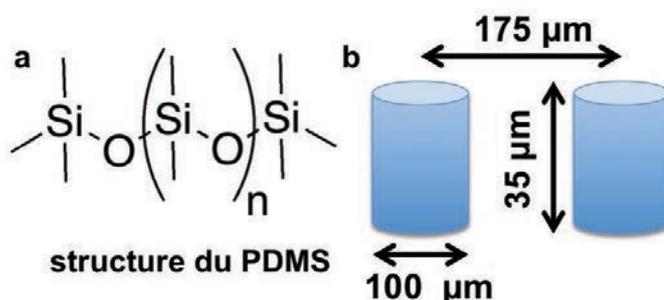


Figure.II.9. Structure chimique du PDMS après réticulation (a) et paramètre de taille des moules de PDMS alors formés (b).

13. M. Postic, université de Rennes 1 (Thèse, 2012).

2. Formation du réseau de mur

Les NPs en suspension dans de l'eau millipore (3 μL) à 3 μM , sont mélangés à une solution de Tween 20 (20 CMC) dans le but d'obtenir une CMC finale de 1.3 (10,4 10^{-5} M) en y ajoutant le plus faible volume possible. Par la suite, un volume de 2 μL de cette solution fraîchement préparée, est déposé sur le substrat choisi (Verre, Silicium, ITO). Le moule de PDMS est alors appliqué, et l'échantillon est mis à sécher pendant 12 heures. Le moule de PDMS est enlevé doucement et les murs sont analysables par différentes techniques spectroscopiques spectroscopie de fluorescence, MEB...

Références

1. W. S. Hancock, J. E. Battersby, A new micro-test for the detection of incomplete coupling reactions in solid-phase peptide synthesis using 2,4,6-trinitrobenzene-sulphonic acid. *Analytical biochemistry* **71**, 260 (1976).
2. D. Sun, O. Gang, Binary Heterogeneous Superlattices Assembled from Quantum Dots and Gold Nanoparticles with DNA. *Journal of the American Chemical Society* **133**, 5252 (2011/04/13, 2011).
3. T. L. Hwang, A. J. Shaka, Water Suppression That Works. Excitation Sculpting Using Arbitrary Wave-Forms and Pulsed-Field Gradients. *Journal of Magnetic Resonance, Series A* **112**, 275 (1995).
4. V. Sklenar, M. Piotto, R. Leppik, V. Saudek, Gradient-Tailored Water Suppression for ¹H-¹⁵N HSQC Experiments Optimized to Retain Full Sensitivity. *Journal of Magnetic Resonance, Series A* **102**, 241 (1993).
5. M. Piotto, V. Saudek, V. Sklenar, Gradient-tailored excitation for single-quantum NMR spectroscopy of aqueous solutions. *J Biomol NMR* **2**, 661 (1992/11/01, 1992).
6. E. O. Stejskal, J. E. Tanner, Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *The Journal of Chemical Physics* **42**, 288 (1965).
7. A. G. Palmer III, J. Cavanagh, P. E. Wright, M. Rance, Sensitivity improvement in proton-detected two-dimensional heteronuclear correlation NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* **93**, 151 (1991).
8. L. Kay, P. Keifer, T. Saarinen, Pure absorption gradient enhanced heteronuclear single quantum correlation spectroscopy with improved sensitivity. *Journal of the American Chemical Society* **114**, 10663 (1992/12/01, 1992).
9. J. Schleucher *et al.*, A general enhancement scheme in heteronuclear multidimensional NMR employing pulsed field gradients. *J Biomol NMR* **4**, 301 (1994/03/01, 1994).
10. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence spectroscopy*. (Springer, 2006).
11. E. Henry, Université de Rennes 1 (Thèse 2007).
12. R. Alam, D. M. Fontaine, B. R. Branchini, M. M. Maye, Designing Quantum Rods for Optimized Energy Transfer with Firefly Luciferase Enzymes. *Nano Letters* **12**, 3251 (2012/06/13, 2012).
13. M. Postic, université de Rennes 1 (Thèse, 2012).

Chapitre III: Synthèses des partenaires et fonctionnalisations.

Synthèses des partenaires et fonctionnalisations.	56
I. Synthèse des ligands peptidiques.....	58
A. Synthèse.....	58
1. Choix de la stratégie.....	58
2. Exemple de synthèse d'un peptide.....	59
V. Caractérisation des peptides.....	60
1. Spectrométrie de masse.....	60
2. Détermination de la pureté par HPLC	61
3. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	61
II. Synthèse de nanocristaux semi-conducteurs anisotropes.....	63
A. Synthèse du germe/cœur des Quantum Rods.	64
B. Synthèse de la coquille de CdS.	64
C. Caractérisation des particules.....	65
1. Caractérisation des germes de CdSe	65
2. Caractérisations des QRs hydrophobes.....	66
a) Suivit de la croissance de la coquille.....	66
b) spectroscopie	67
c) détermination de la taille	68
d) Cristallinité.....	68
3. Caractérisation de la chimie de surface.	70
a) Spectroscopie Infrarouge.....	71
b) RMN du phosphore 31	72
III. Echange de ligands.	73
A. L'échange de ligands.	73
B. Caractérisation des QRs hydrophiles	73
1. RMN du phosphore et du proton	74
2. Propriétés optiques en solution	78
3. Propriétés colloïdales.....	79
C. Fonctionnalisation avec de l'ADN.....	82
1. Protocole.	83
2. Caractérisation	83
IV. Conclusion et discussion.....	84
Références	87

Ce chapitre traite de la synthèse des QRs, des ligands peptidiques, ainsi que de la fonctionnalisation des QRs. Dans une première partie la synthèse des ligands peptidiques est décrite puis la fonctionnalisation des nanoparticules hydrophobes.

La deuxième partie concerne la synthèse chimique des QRs qui se fait par la croissance d'une coquille de CdS sur un cœur de CdSe par épitaxie et de façon anisotrope. Après la synthèse, les QRs sont caractérisés d'un point de vue spectroscopique (absorption UV-visible et émission de fluorescence) et cristallographique. Nous décrivons également leur état chimique de surface.

Enfin l'étape de l'échange des ligands, est décrite afin de solubiliser les QRs dans l'eau. L'état de la surface des QRs est analysé chimiquement pendant et après l'échange de ligands par différentes techniques spectroscopiques notamment par RMN. Leurs propriétés colloïdales dans l'eau et de leurs propriétés optiques sont ensuite présentées. Le dernier point concerne le greffage d'ADN par réaction chimique sur les ligands peptidiques des QRs hydrophiles.

Toutes ces étapes étant caractérisées par différentes méthodes, celles-ci sont décrites dans le chapitre matériel et méthode.

I. Synthèse des ligands peptidiques

La méthode de synthèse peptidique sur support solide est suivie selon la stratégie FMOC. Ce type particulier de synthèse est utilisé pour la préparation des ligands peptidiques dédiés à la fonctionnalisation chimiques des NPs. La synthèse du peptide TCPD est décrite comme exemple typique.

A. Synthèse

1. Choix de la stratégie.

Nous avons choisi la stratégie qui implique l'utilisation du groupe Fmoc (9-fluorenylméthylloxycarbonyl)¹ (figure.III.1.b) comme groupe protecteur de la fonction amine. Cette méthode est basée sur des étapes de protection/déprotection orthogonales des acides aminés mis en jeux dans la synthèse. Elle présente plusieurs avantages : les rendements de synthèse sont élevés, les conditions de déprotection sont douces. De plus, il est possible de suivre les cycles de réaction par spectroscopie UV-Visible. La résine choisie est de type Rink-amide. Cette résine conçue pour la stratégie Fmoc permet à la dernière étape de la synthèse de déprotéger les groupes latéraux des acides aminés tout en détachant le peptide de la résine. De plus, le peptide ainsi obtenu présente en position C-Terminal une fonction amide inerte chimiquement, qui résulte du clivage du support solide.²

1. L. A. Mitscher, *Solid-Phase Synthesis. A Practical Guide* Edited by S. A. Kates (Consensus Pharmaceuticals, Inc.) and F. Albericio (University of Barcelona, Spain). Marcel Dekker, Inc., New York, NY. 2000. *Journal of Natural Products* **64**, 142-142 (2001).
2. J. J. Jones, *Amino Acid and Peptide Synthesis*. (Oxford University Press, 2002).

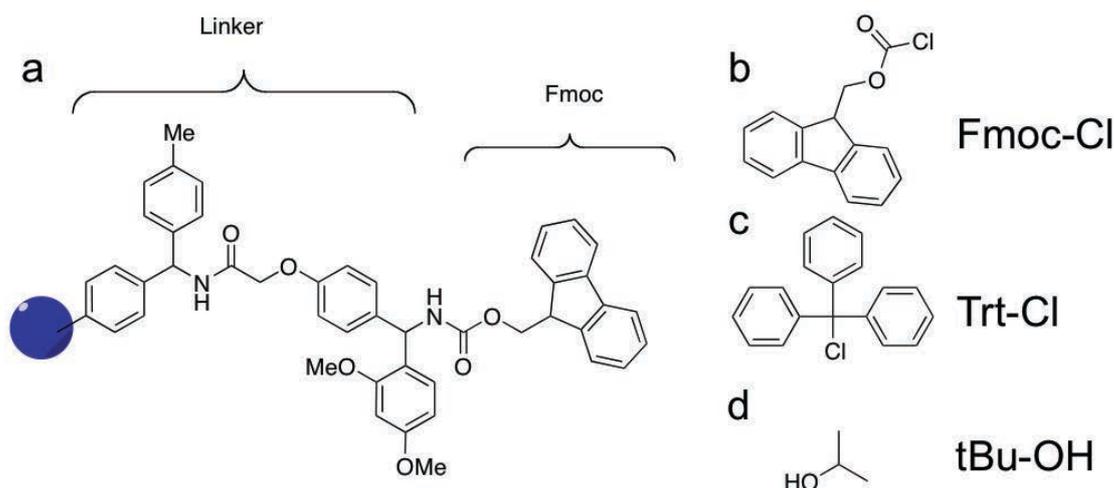


Figure.III.1. la résine de type Rink Amide MBHA (a), va servir de support solide, (b) le groupement Fmoc-Cl va permettre de protéger les fonctions amines des acides aminé, (c) le groupement trytile protégera les cystéines et le (d) tBu les fonctions acide carboxylique portés par les chaines latérales.

La figure.III.1 présente la résine Rink-Amide MBHA ainsi que les groupes de protection utilisés dans la synthèse de peptides. Le groupement trityle (figure.III.1.c), permet la protection des fonctions thiols tandis-que le groupement ter-butyle (figure.III.1.d), protège les fonctions acides carboxyliques présentes sur les chaines latérales. La déprotection du groupement Fmoc s'effectue en milieu basique en présence de pipéridine et le clivage/déprotection de chaines latérales se fait en milieu acide en présence d'acide Tri-fluoroacétique.

2. Exemple de synthèse d'un peptide.

La figure.III.2, montre la voie de synthèse du peptide TCPAC. Dans un premier temps, la fonction Fmoc présente sur la résine amide MBHA est clivée en milieu basique (pipéridine) puis après lavage, le premier acide aminé est ajouté au milieu réactionnel ainsi que les agents de couplages (DIPEA et HCTU). Après deux heures de réaction, le milieu est lavé avant de déprotéger la fonction Fmoc de l'acide aminé. La déprotection se fait en présence d'une base (pipéridine). Puis les étapes réactionnelles sont répétées tant que tous les acides aminés ne sont pas greffés. Enfin, lorsque le peptide désiré est obtenu mais toujours attaché à la résine, celui-ci est clivé en milieu acide (acide tri-fluoroacétique) ce qui permet également de déprotéger les groupes protecteurs des chaines latérales. Le peptide est alors récupéré par précipitation dans l'éther froid.

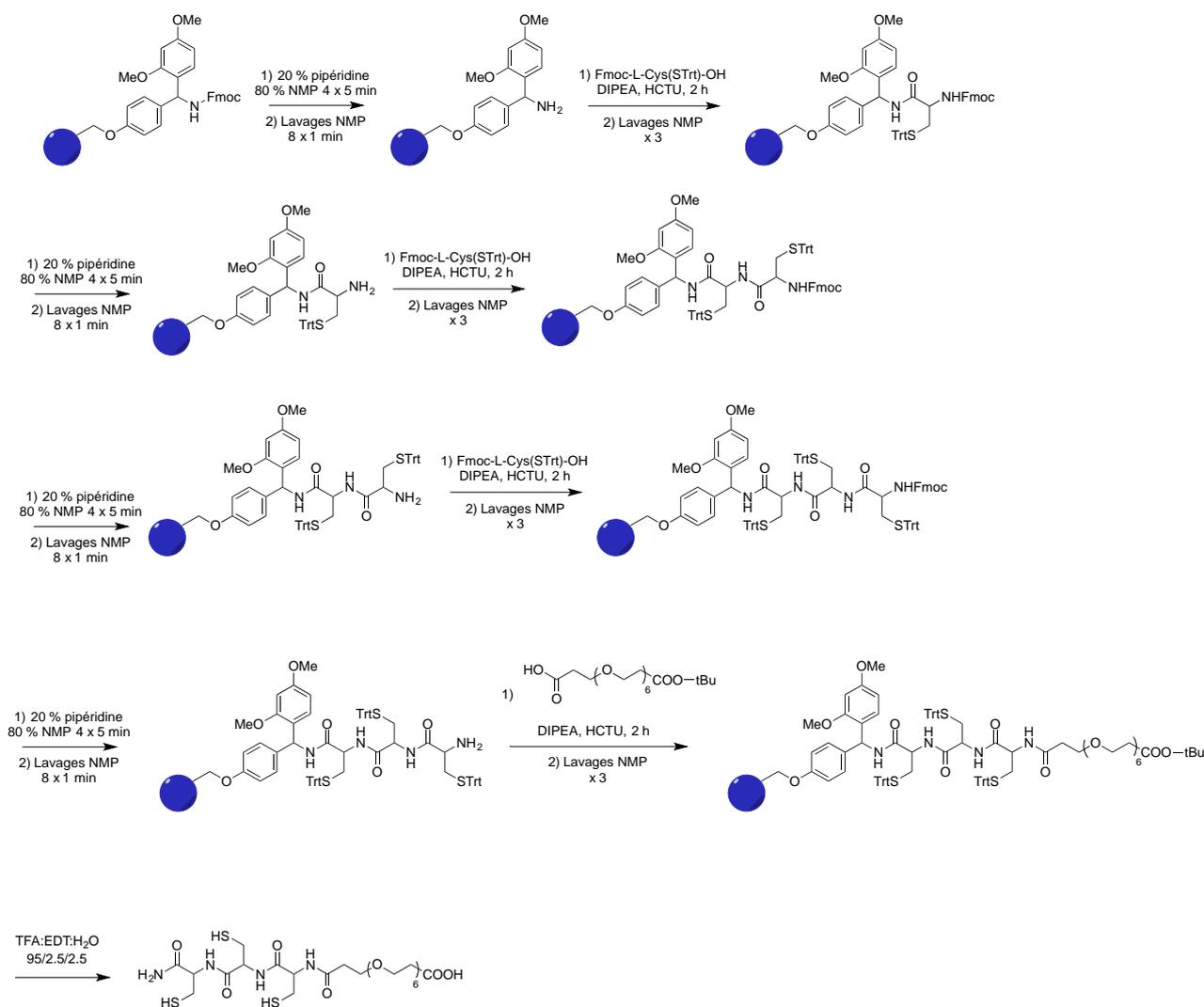


Figure.III.2. Synthèse totale du peptide TCPAC sur support solide, le rendement total étant de 90 %.

La synthèse de ce ligand peptidique sur support solide permet d'augmenter le rendement de la réaction jusqu'à 90 % pour cette synthèse.

V. Caractérisation des peptides.

1. Spectrométrie de masse.

Les peptides synthétisés ou achetés, sont caractérisés de la même façon soit au laboratoire soit par le fournisseur. La première étape consiste à vérifier la masse molaire du peptide par rapport à la masse molaire théorique, suivi de la détermination de son degré de pureté. Cela est effectué par spectrométrie de masse par la technique MALDI-TOF et par HPLC (Chapitre II). Les échantillons sont préparés de la façon suivante : le mélange de 1 mg de peptide et de la résine « α -cyano » (2 μ l) est déposé sur une plaque métallique. Dès que l'échantillon est sec, la plaque est introduite dans le spectromètre de masse et sous excitation laser, l'échantillon est ionisé et vaporisé. Le spectre de masse est alors visible directement et nous pouvons donc contrôler la masse du peptide.

2. Détermination de la pureté par HPLC

Dans le cas de la HPLC, une solution à 2 mg.ml^{-1} est préparée dans le solvant utilisé comme phase mobile, ici une solution d'eau millipore à 1% TFA. L'HPLC est programmée selon la molécule à analyser. Dans notre cas pour un peptide, nous utiliserons le programme décrit dans la partie précédente (chapitre II).

3. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Après avoir vérifié que les peptides ont la masse molaire attendue par spectrométrie de masse et une pureté suffisante ($>80\%$) par HPLC, il faut maintenant vérifier qu'ils possèdent la bonne structure par RMN. Pour cela des spectres des peptides en 1D (proton) et en 2D sont enregistrés en utilisant deux types de couplages mononucléaires, proton-proton, techniques TOCSY et COSY.

Nous allons étudier ici le peptide TCCPAC, peptide qui est utilisé majoritairement dans cette thèse. Ce peptide n'est pas synthétisé au laboratoire, en effet, la synthèse présente des étapes longues qui donnent de faibles rendements (fonctionnalisation du PEG₄ et de la chaîne alkyle et leurs couplages). Ce peptide est acheté chez polypeptide avec une pureté supérieure à 80%.

Les échantillons de RMN ont été préparés de la façon suivante : une solution de TCCPAC (10 mM, 200 μl) dans 100% D₂O (figure.III.3), et une solution de TCCPAC (10 mM, 200 μl) dans 10% D₂O dans de l'eau ultra-pure (figure.III.4). L'utilisation d'un échantillon préparé dans 10% D₂O/ 90% H₂O permet de détecter les groupes -NH₂ et -NH-, mais les pics présents sous le pic de l'eau situé vers 4.65 ppm sont masqués. Ces pics sont visibles pour le spectre enregistré dans la solution à 100% D₂O.

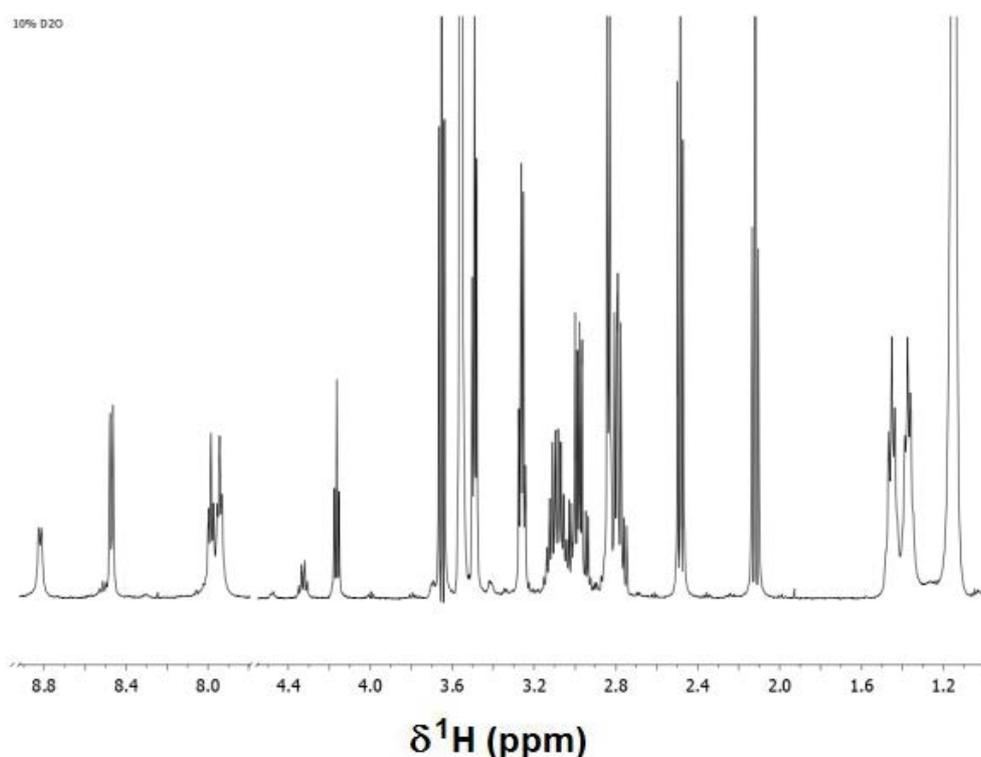


Figure.III.3. Spectre RMN proton du peptide TCCPAC dans un mélange 10% D₂O dans H₂O, permettant de détecter les protons présents sur les groupements amide et ou amine (de 8 à 8,9 ppm).

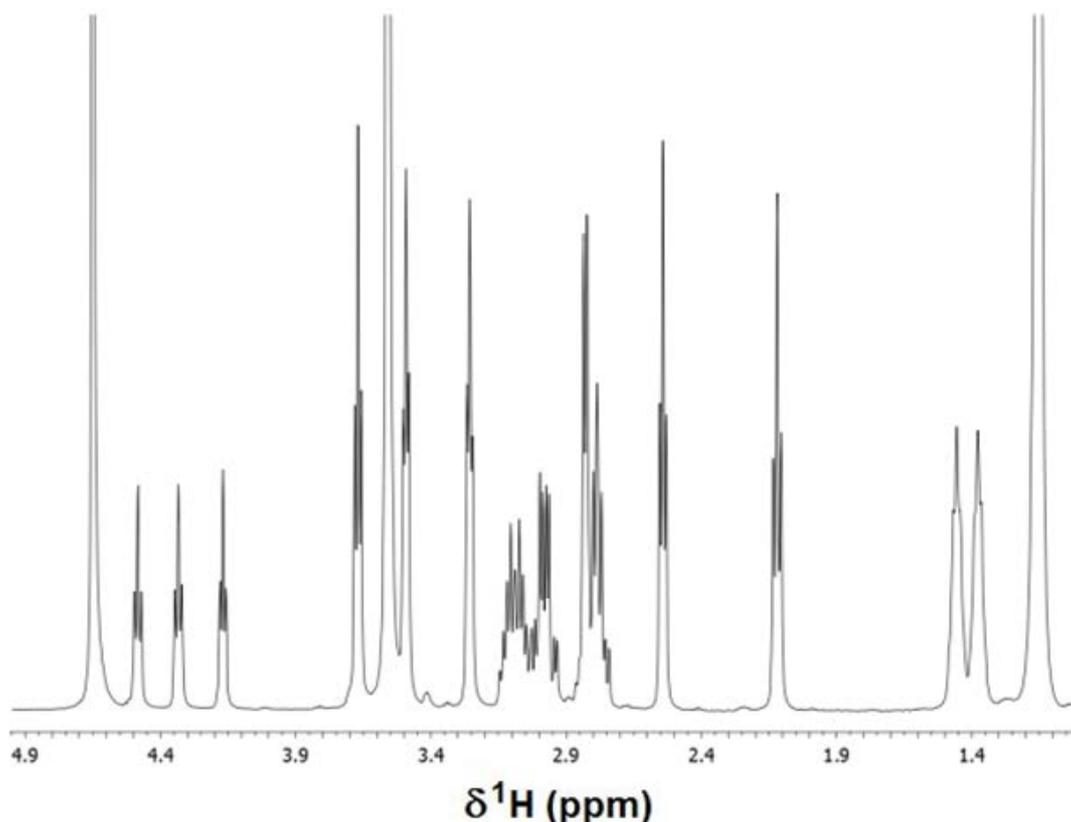


Figure.III.4. Spectre RMN proton du peptide TCCPAC dans 100% D₂O, permettant de voir les protons β des cystéines (de 4.1 à 4.5 ppm).

Grâce à ces deux spectres nous pouvons commencer à attribuer les pics. Pour les pics isolés présentant un grand nombre de protons correspondant par exemple à une chaîne PEG ou une chaîne alkyle, l'attribution ne pose pas de problème. Afin de compléter l'analyse, les spectres TOCSY et COSY ont été enregistrés et comparés (figure.III.5).

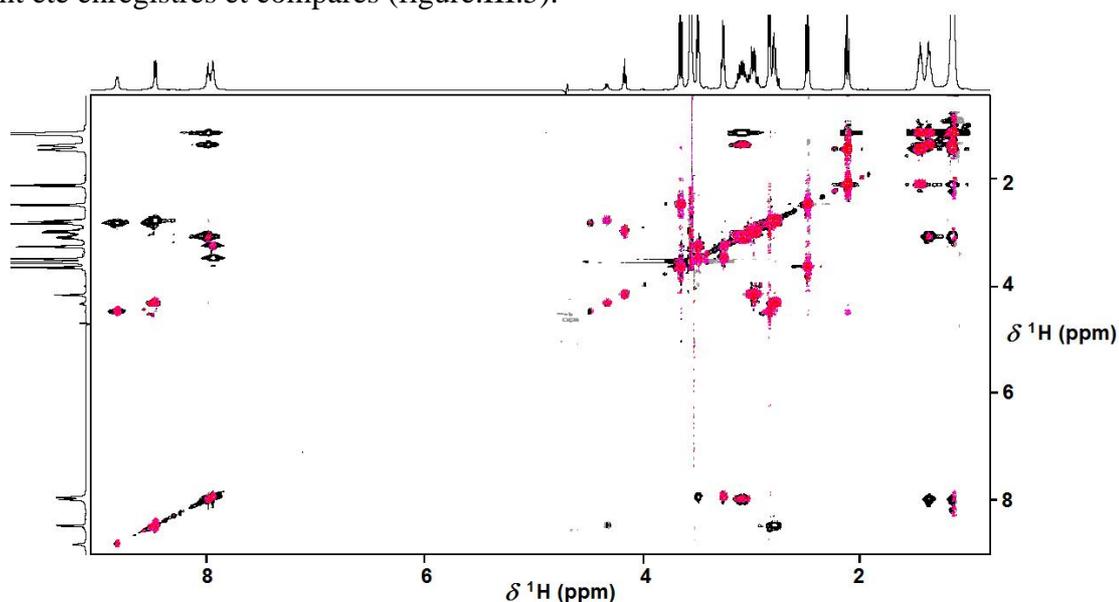


Figure.III.5. Superposition des spectres 2D Proton du peptide TCCPAC dans 10% D₂O à pH 7. Le spectre COSY en rose et TOCSY en noir montrent les couplages courte et longue distance des protons respectivement.

Ces spectres 2D et 1D permettent alors d'attribuer les pics du ligand peptidique TCCPAC :

^1H NMR (500 MHz, 90 % H_2O / 10% D_2O , 298 K, pH 7.0)
 δ 8.82 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H, 20), 8.47 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, 19), 7.99 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, 18), 7.94 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, 17), 4.47 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H, 16), 4.33 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H, 15), 4.16 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H, 14), 3.65 (t, $J = 3.5$ Hz, 3H, 13), 3.56 (s, $J = 3.5$ Hz, 14H, 12), 3.49 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H, 11), 3.26 (q, 2H, 10), 3.09 (dtd, 1H, 9), 3.03 – 2.91 (m, 2H, 8), 2.85 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H, 7), 2.82 – 2.68 (m, 2H, 6), 2.49 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, 5), 2.12 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, 4), 1.52 – 1.41 (m, 2H, 3), 1.41 – 1.30 (m, 2H, 2), 1.15 (s, 14H, 1).

Dans le cas précis du peptide TCCPAC, nous nous sommes intéressés principalement aux protons 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 15 et 16 comme le montre la formule développée du peptide (figure.III.6). Les protons sont numérotés directement sur les carbones qui les portent et ne sont pas montrés.

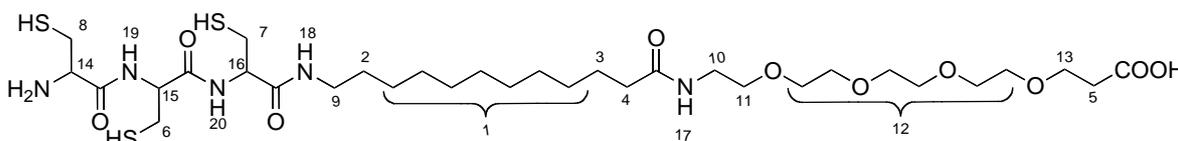


Figure.III.6. Formule développée du peptide TCCPAC la position exacte des protons a été confirmée par RMN ^1H 1D et 2D.

Des spectres ont également été enregistrés à pD 9. Ce choix de pD étant nécessaire pour des dosage dont nous aurons l'utilité plus loin dans ce chapitre. En comparant les spectres obtenus à pD 9 (100% D_2O), les pics de certains protons sont déplacés : les protons 15 (4.33 ppm) et 16 (4.47 ppm) bien séparé à pH 7, sont confondus dans un même pic large (de 4.39 et 4.22 ppm) à pD 9. Les autres pics quand à eux ne bouge pas.

II. Synthèse de nanocristaux semi-conducteurs anisotropes.

La synthèse de QRs est réalisée en deux étapes (figure.III.7). La première étape consiste à préparer des germes cristallins de CdSe par nucléation à partir de précurseurs organométalliques. La seconde étape s'effectue par croissance épitaxiale et de façon anisotrope sur le germe de CdSe pour obtenir une coquille de CdS.

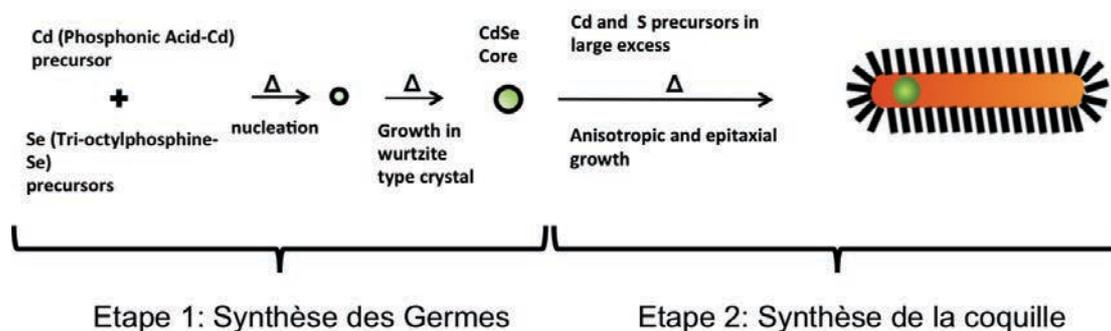


Figure.III.7. Synthèse en deux étape d'un QR cœur/coquille CdSe/CdS

Après avoir décrit la synthèse, les QRs obtenus, sont caractérisés par spectroscopie (UV-Visible et d'émission de fluorescence) puis leurs propriétés cristallographiques par HRTEM et diffusion des rayons X aux grands angles (WAXS). Enfin, l'état de surface des QRs est analysé par Infra-rouge et RMN.

A. Synthèse du germe/cœur des Quantum Rods.

La synthèse des germes de CdSe s'effectue en préparant en parallèle une solution du précurseur de cadmium et une solution du précurseur du sélénium. Cette synthèse a été développée par le groupe de Manna³ et adaptée au laboratoire pour obtenir des QRs de six tailles différentes.

L'oxyde de cadmium (CdO), est introduit dans un mélange de solvants coordinants : l'oxyde de tri-n-octyl phosphine (TOPO) et l'acide octadécyl phosphonique (ODPA). Le mélange est mis à dégazer pendant une heure à 150 °C.

Pendant ce temps, le sélénium (sous forme métallique) est solubilisé dans la tri-n-octyl phosphine (TOP) (liquide) dans un Schlenk sous agitation et est purgé pendant trente minutes.

Au bout d'une heure, le mélange est porté à 310°C afin de dissocier le CdO; la solution initialement d'une couleur rouge ocre devient translucide. On y ajoute une petite quantité de TOP afin d'éviter la précipitation de la solution de sélénium. La température est alors augmentée jusqu'à la température requise pour l'injection de la solution de TOP-Se (350 °C). L'injection faite, la température est remontée à 350 °C en moins de 30 secondes et la réaction est arrêtée par trempage thermique dans l'eau après le temps voulu de réaction (t_0 = injection de la solution de Se-TOP). Par exemple, pour de petits germes (2-3 nm), on laisse le milieu réagir pendant 30 secondes au maximum.

Une fois la trempage thermique effectuée, on récupère les germes dans le toluène et on mesure leur concentration par spectroscopie UV-visible.^{4,5} Une fois la concentration déterminée, on évapore le toluène et on prépare une solution de germe à 400 µM dans le TOP qui permet de protéger les germes du milieu extérieur et de les stabiliser.

B. Synthèse de la coquille de CdS.

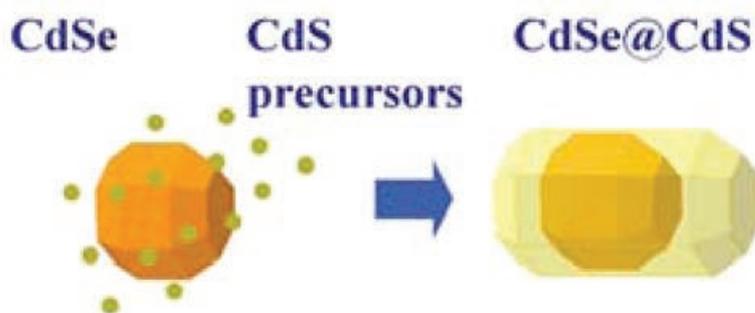


Figure.III.8. Croissance anisotrope d'une coquille de CdS sur un cœur de CdSe.³

La synthèse des bâtonnets comme pour les germes s'effectue en préparant deux solutions en parallèle (figure.III.8).

La première partie se déroule exactement de la même façon que pour les germes, le CdO est introduit dans un mélange de solvants coordinants : TOPO, ODPA et l'acide hexylphosphoniques

3. L. Carbone, C. Nobile, M. De Giorgi, F. D. Sala, G. Morello, P. Pompa, M. Hych, E. Snoeck, A. Fiore, I. R. Franchini, M. Nadasan, A. F. Silvestre, L. Chiodo, S. Kudera, R. Cingolani, R. Krahné, L. Manna, Synthesis and Micrometer-Scale Assembly of Colloidal CdSe/CdS Nanorods Prepared by a Seeded Growth Approach. *Nano Letters* **7**, 2942-2950 (2007)

4. C. A. Leatherdale, W. K. Woo, F. V. Mikulec, M. G. Bawendi, On the Absorption Cross Section of CdSe Nanocrystal Quantum Dots. *The Journal of Physical Chemistry B* **106**, 7619-7622 (2002).

5. W. W. Yu, L. Qu, W. Guo, X. Peng, Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. *Chemistry of Materials* **15**, 2854-2860 (2003).

(HPA) puis il est chauffé pour dissocier l'oxyde de cadmium qui ainsi libéré est complexé aux ligands phosphorés.

Pendant ce temps, le soufre (solide) est dissous sous agitation dans le TOP et une quantité connue de germes est injectée.

Une fois que le mélange réactionnel (Cd/TOPO, TOP, ODPA et HDA) a atteint la température requise (380°C), on y injecte rapidement le TOP-S et les germes. La croissance des particules se fait alors pendant 6 à 8 minutes, puis une trempe thermique est effectuée pour arrêter la réaction.

Les QRs synthétisés, sont ensuite caractérisés par différentes techniques physiques et chimiques.

C. Caractérisation des particules

1. Caractérisation des germes de CdSe

Même si cette étape ne concerne pas les QRs directement, elle est importante car elle permet de connaître la taille des germes et de vérifier leurs propriétés optiques. Si ces propriétés sont satisfaisantes, alors la croissance en bâtonnet pourra être effectuée. La figure III.9.b montre le spectre (en noir) d'absorption UV-Visible et présente le spectre d'émission de fluorescence (en rouge)

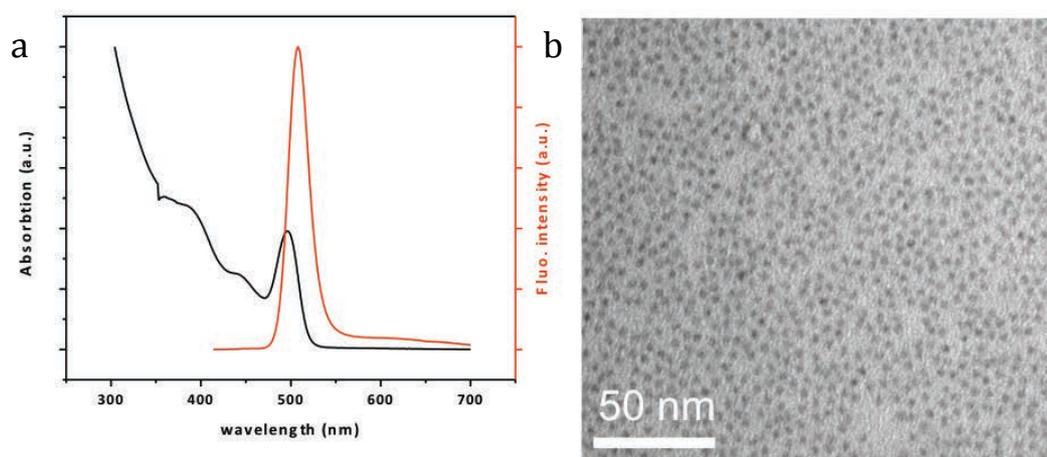


Figure.III.9. (a) spectre d'absorption UV-Visible (en noir) et d'émission de fluorescence (rouge) et (b) photo TEM des germes de CdSe.

Le spectre de fluorescence présente un pic fin, avec une largeur à mi-hauteur inférieure à 50 nm, ce qui traduit que les particules sont bien monodisperses en tailles.

Le spectre UV-visible (figure.III.9.b) présente le pic excitonique du CdSe vers 490 nm, ce pic correspond à la transition excitonique/formation de paire électron-trous dans les QRs par absorption d'une onde lumineuse. De plus, d'autres bandes d'absorption du CdSe (440 et 390 nm) apparaissent. Ces bandes d'absorption sont des fonctions d'ondes correspondant à des combinaisons linéaires des orbitales 4p du sélénium et 5s du cadmium.⁶

La figure.III.9.b, montre une photo en TEM des germes de CdSe dont il est possible de déterminer la taille. Ici nous présentons des germes de $2 \pm 0,2$ nm.

6. J. J. Shiang, A. V. Kadavanich, R. K. Grubbs, A. P. Alivisatos, Symmetry of Annealed Wurtzite CdSe Nanocrystals: Assignment to the C_{3v} Point Group. *The Journal of Physical Chemistry* **99**, 17417-17422 (1995)

2. Caractérisations des QRs hydrophobes

L'objectif de cette étape de caractérisation est de vérifier les propriétés suivantes des QRs en termes de cristallinité, propriétés optiques et chimie de surface.

a) Suivit de la croissance de la coquille

L'évolution des spectres d'absorption et de fluorescence nous informe sur la cinétique de la réaction résultant de la formation de nanobâtonnets CdSe/CdS. La croissance de la coquille anisotrope peut alors se suivre par spectroscopie UV-Visible comme le montre la figure.III.10.a, et par spectroscopie de fluorescence figure.III.10.b.

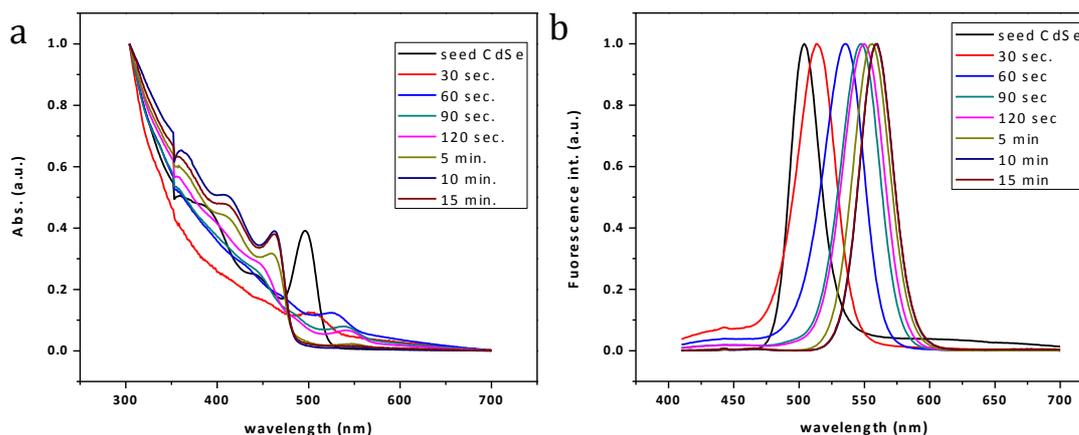


Figure.III.10. Evolution de la croissance de la coquille de CdS sur le germe de CdSe suivit dans le temps par spectroscopie UV-Visible (a) et par émission de fluorescence (b).

Les courbes noires correspondent sur les figures aux germes avant croissance de la coquille. Dès l'injection, en spectroscopie UV-Visible, on observe que le pic excitonique (490 nm) s'éteint tout en se déplaçant jusqu'à un temps réactionnel de 120 secondes de réaction. Pendant le même temps, on observe la croissance du pic de CdS à 545 nm qui se stabilise après 6 à 8 minutes de réaction. Les autres piques présents (471 nm et 421 nm) correspondent aux interactions entre CdSe et CdS et au CdS.^{3,6} Le temps normal de réaction est de 8 minutes. Afin d'observer si des changements sont perceptibles après 8 minutes de réaction, nous avons continué l'enregistrement des spectres jusqu'à 15 minutes. Nous n'observons alors aucun changement dans les propriétés optiques des QRs. Cela veut dire que la réaction doit être totale après 8 minutes de réaction.

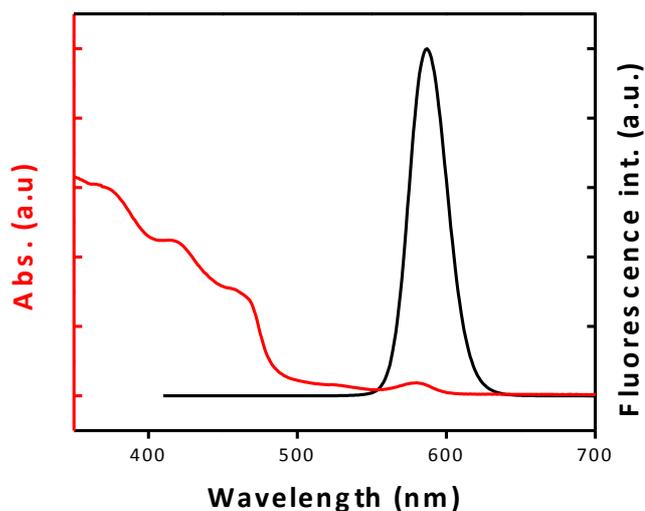
b) spectroscopie

Figure.III.11. spectre d'absorption UV-Visible (rouge) et d'émission de fluorescence (noir) typique de QRs hydrophobes après synthèse.

Après chaque synthèse, une solution diluée de QRs hydrophobes dans le toluène est analysée par spectroscopie UV-Visible afin de confirmer la présence de CdS et de déterminer la position du pic « excitonique ». La figure.III.11, montre les différentes longueurs d'ondes d'absorption des QRs (spectre rouge). Le pic excitonique dans le cas de ces QRs analysés ici, se trouve vers 480 nm. Cette mesure va nous servir à évaluer le rendement quantique de fluorescence ainsi que de déterminer la longueur d'onde d'excitation pour l'enregistrement d'un spectre d'émission de fluorescence. On mesure également pour chaque lot de QRs, l'absorbance à 350 nm pour pouvoir calculer la concentration (calcul qui sera fait après détermination de la taille des QRs dans le lot par TEM).⁷

Le spectre noir nous montre un seul pique d'émission de fluorescence, avec une largeur à mi-hauteur inférieure à 50 nm, ce qui montre une monodispersité très forte des nanoparticules. La longueur d'onde d'émission de fluorescence est comme on peut le voir, très proche de la longueur d'onde du maximum d'absorption du pic excitonique (figure.III.11).

7. R. Alam, D. M. Fontaine, B. R. Branchini, M. M. Maye, Designing Quantum Rods for Optimized Energy Transfer with Firefly Luciferase Enzymes. *Nano Letters* **12**, 3251-3256 (2012).

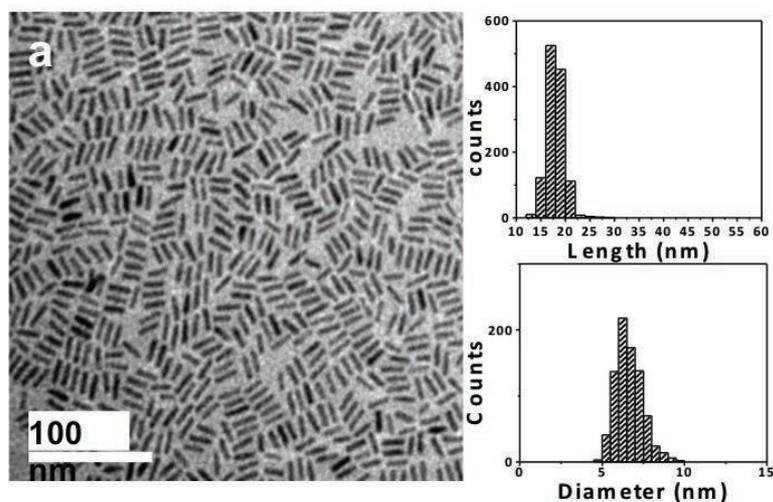
c) *détermination de la taille*

Figure.III.12. Exemple de caractérisation morphologique de QRs par TEM (a) et leurs tailles après analyse avec imageJ.

La caractérisation de chaque lot de QRs par Microscopie Electronique à transmission (TEM), permet de confirmer la morphologie en forme de bâtonnet des nanoparticules synthétisées et ensuite de déterminer leurs tailles (longueur et diamètre) en prenant le plus grand nombre de photos pour améliorer la statistique de la mesure. La figure.III.12 montre une image TEM de QRs dont la longueur et le diamètre sont estimés grâce au logiciel ImageJ. Dans ce cas des bâtonnets de 17.6 x 6.8 nm sont mesurés. Nous pouvons ensuite déterminer leur rapport d'aspect en divisant la longueur du bâtonnet par son diamètre.

d) *Cristallinité*

Après avoir caractérisé les bâtonnets en taille et morphologie, il est intéressant et nécessaire de confirmer leur structure cristalline et l'anisotropie de la particule. Cela peut se faire de plusieurs façons par diffusion des rayons X aux grands angles (WAXS), par diffraction des rayons X ou encore par microscopie à transmission haute résolution couplée à un détecteur High-Angle Annular Dark Field (HAADF).⁸

8. D. E. Jesson, S. J. Pennycook, Incoherent Imaging of Crystals Using Thermally Scattered Electrons. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A: Mathematical and Physical Sciences* **449**, 273-293 (1995).

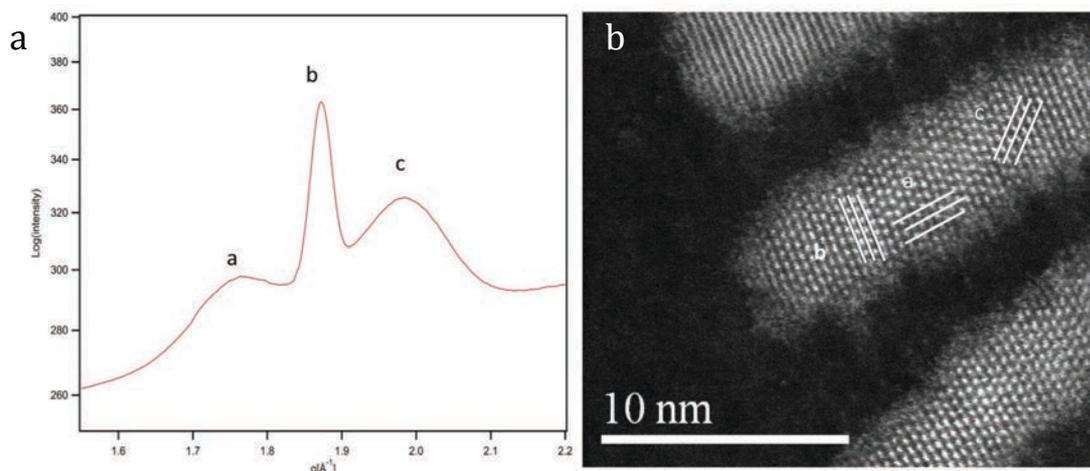


Figure.III.13. Spectre WAXS des QRs en solution (a) et photo HRTEM (b) montrant la correspondance des interdistances obtenues par WAXS sur les plans cristallins des QRs.

Le spectre obtenu par WAXS nous permet d’observer les trois premiers paramètres de la structure cristalline des bâtonnets (figure.III.13.a). La figure III.13.b, présente des plans cristallins sur la particule. En comparant les interdistances obtenues en WAXS et les celles trouvées sur les cartes ASTM, nous retrouvons bien celles de la structure wurtzite du CdS comme le montre le tableau suivant :

CdS wurtzite	h k l	q (Å ⁻¹)(theo.)	q (Å ⁻¹) (exp.)
a	1 0 0	1,7536	1,76
b	0 0 2	1,8715	1,87
c	1 0 1	1,9875	1,98

Tableau.III.1. Comparaison entre les mesures effectuées par WAXS et les valeurs des paramètres de maille du CdS wurtzite données par les cartes de l’ American Society for Testing and Materials,

En utilisant la technique STEM-HAADF, la structure des bâtonnets peut être étudiée très précisément. En effet la technique HAADF permet de contraster les atomes en fonction de leur numéro atomique et donc de différencier le CdSe du CdS. De plus le HRTEM offre une résolution excellente jusqu’au niveau atomique. Ainsi en effectuant des transformés de Fourier sur les images des QRs, nous sommes capables de mesurer les paramètres de maille du CdS et du CdSe (figure.III.14).

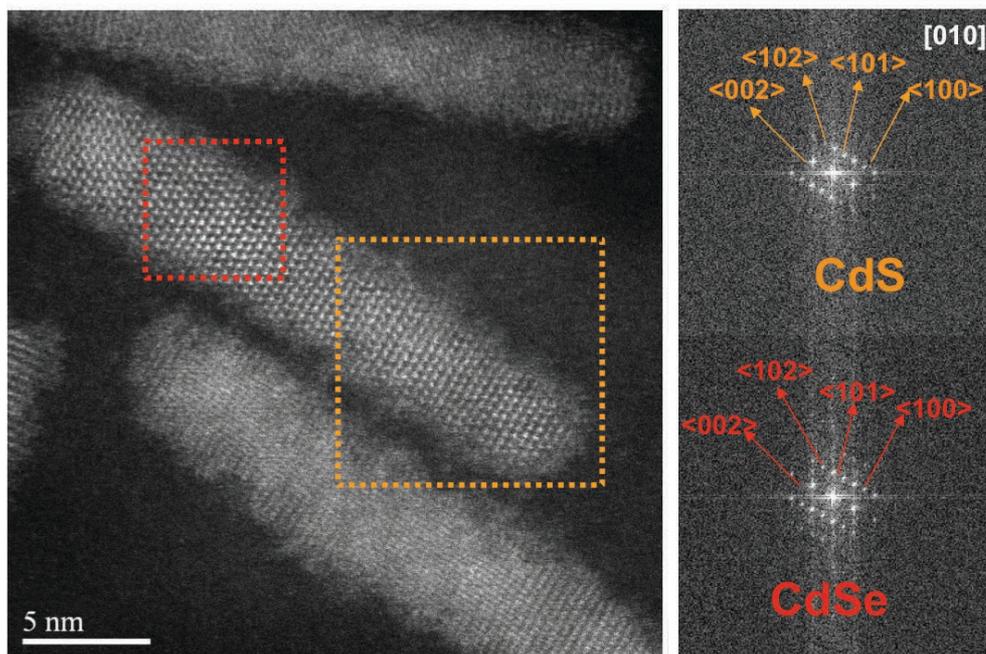


Figure.III.14. Photo HRTEM-HAADF des QRs, permettant de différencier le CdS du CdSe, et les transformés de Fourier leur correspondant.

Les interdistances données par les transformées de Fourier, et celles des cartes ASTM du CdS et du CdSe wurtzite, sont très concordantes. De plus, nous voyons que le germe de CdSe est bien d'un côté du bâtonnet, ce qui confirme la croissance asymétrique de la nanoparticule (tableau.III.2).

(h, k, l)	Distance interplanaire (nm)			
	CdSe		CdS	
	mesure	Carte ASTM	mesure	Carte ASTM
(1, 0, 0)	0.371	0.372	0.357	0.358
(0, 0, 2)	0.349	0.351	0.330	0.336
(1, 0, 1)	0.333	0.329	0.325	0.316
(1, 0, 2)	0.252	0.255	0.239	0.245
(1, 0, 0)	0.371	0.372	0.357	0.358

Tableau.III.2. Comparaison entre les mesures effectuées sur les transformés de Fourier et les valeurs des distances interplanaires du CdSe et du CdS wurtzite données par les cartes de l' American Society for Testing and Materials,

Nous avons donc bien synthétisé des nanobâtonnets cristallins de type wurtzite composés de CdSe/CdS cœur/coquille anisotrope.

3. Caractérisation de la chimie de surface.

Après avoir confirmé la morphologie, les propriétés optiques et la cristallinité, nous nous sommes intéressés à la chimie de surface de ces QRs hydrophobes. En effet, lors de la synthèse, beaucoup de ligands sont ajoutés dans le milieu, il est intéressant de savoir lesquels se trouvent sur

les particules et savoir de plus s'il est possible dans la solution de QRs par lavages successifs d'éliminer le plus de ligands libres.

Pour y parvenir, nous avons utilisé des techniques telle que la spectroscopie infrarouge et la RMN du Phosphore 31.

a) Spectroscopie Infrarouge

Les spectres infra-rouge des ligands présents lors de la synthèse ont été enregistrés puis celui des QRs après synthèse. Ces QRs ont été lavés plusieurs fois par précipitation/centrifugation/re-suspension. Le chloroforme a été utilisé pour solubiliser les QRs car il s'évapore plus rapidement que le toluène. Le méthanol a été utilisé pour précipiter les QRs avant centrifugation. Ces lavages ont été effectués 3 fois.

L'enregistrement des spectres se fait en déposant les ligands sur un cristal ATR (Attenuated Total Réflectance) ce qui évite la préparation d'une pastille ou solubilisation dans le nujol. Les ligands solides à température ambiante ont été compressés sur le cristal (cas du TOPO, HPA et ODPA) le TOP liquide a été déposé en goutte liquide. Les QRs quand à eux, ont été déposés sous forme de suspension dans le chloroforme qui s'évapore en quelques minutes.

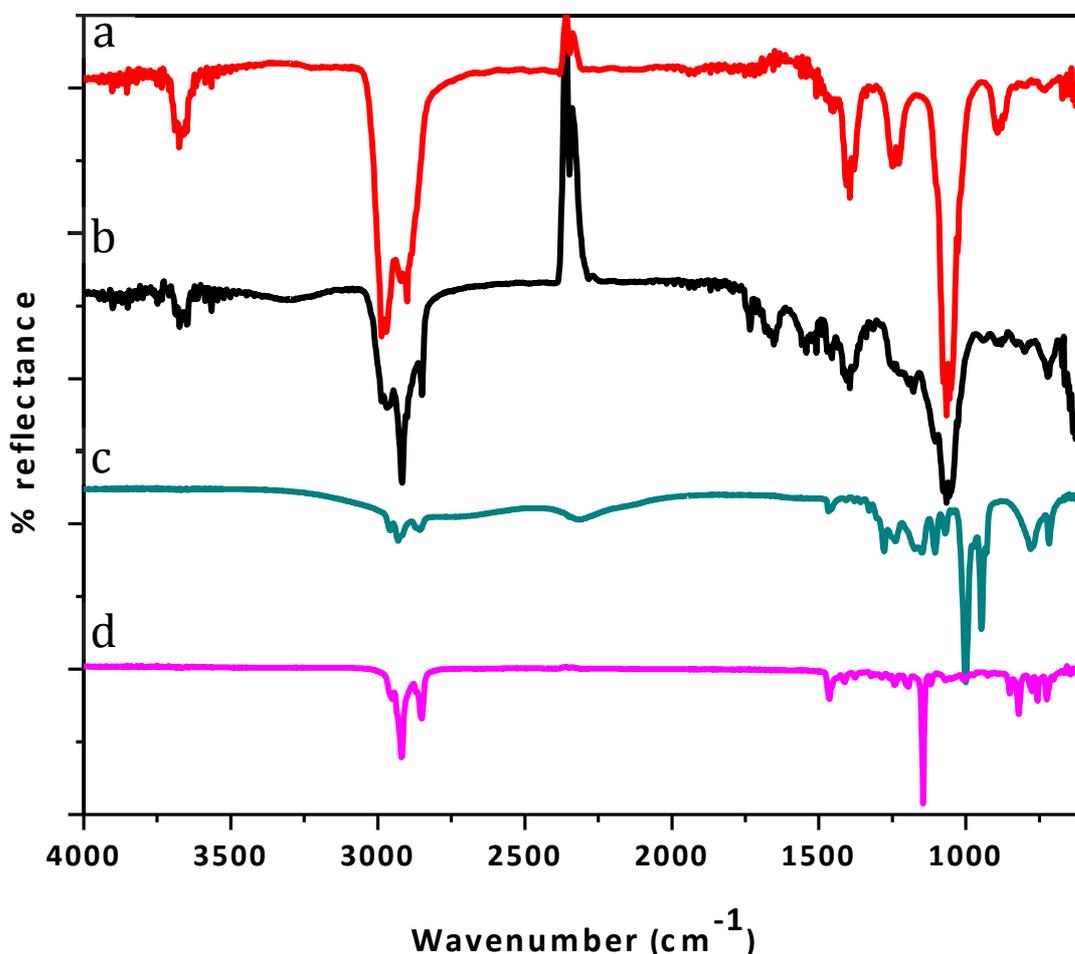


Figure.III.15. Superposition des spectres infra-rouge de 3 ligands phosphorés utilisés pendant la synthèse des QRs e (a) le TOPO, (b) le TOP, (c) l'ODPA et (d) les QRs hydrophobes

La figure.III.15, montre les spectres de trois ligands purs, (L'HPA ayant un spectre similaire à celui de ODPA), et des QRs hydrophobes (d) On peut observer pour les ligands TOP (b) et TOPO (a) et ODPA (c), la bande correspondante à la fonction P-CH₂-R vers 1411 cm⁻¹. Cette bande

caractéristique se retrouve également sur le spectre des QRs hydrophobes. La fonction P=O, est quant à elle, observée vers 1145 cm^{-1} . De plus, dans le cas de l'ODPA, on peut observer vers 1008 cm^{-1} la bande correspondante à la fonction $\text{RP}(=\text{O})(\text{OH})_2$, bande qui se retrouve également sur les QRs. Nous pouvons donc confirmer la présence de ligand de type acide phosphonique à la surface des QRs, sans pouvoir préciser s'il s'agit de l'ODPA ou de l'HPA.

b) RMN du phosphore 31

La RMN du Phosphore (^{31}P) est une technique de choix pour déterminer quels ligands se trouvent à la surface des QRs. Afin de pouvoir comparer les QRs hydrophobes lavés, nous avons enregistré les spectres de tous les ligands sauf de celui l'ODPA qui n'est pas soluble dans le chloroforme deutéré mais qui possède sensiblement le même que celui de l'HPA (figure.III.16). Nous avons pu comparer alors les différents spectres et déduire dans un premier temps que le TOP et le TOPO ne sont pas des ligands de surface des bâtonnets, mais que ce sont les acides phosphoniques (figure.III.16.a) qui sont présent. En effet, pour le spectre correspondant aux QRs lavés, nous pouvons voir un très large pic (figure.III.16.c) correspondant aux acides phosphoniques comme le montre la référence. Ce pic large et légèrement décalé, indique que les ligands sont bien sur la particule. En effet l'élargissement et le décalage du pic, est dû à la multiplicité des environnements du phosphore à la surface des QRs.⁹ Lorsque l'HPA (figure.III.16.b) est ajouté sur les QRs, on observe que le pic large augmente en intensité et se réduit en largeur et surtout qu'il n'y a pas d'apparition d'autre pic correspondant à un autre type d'atome de phosphore.¹⁰

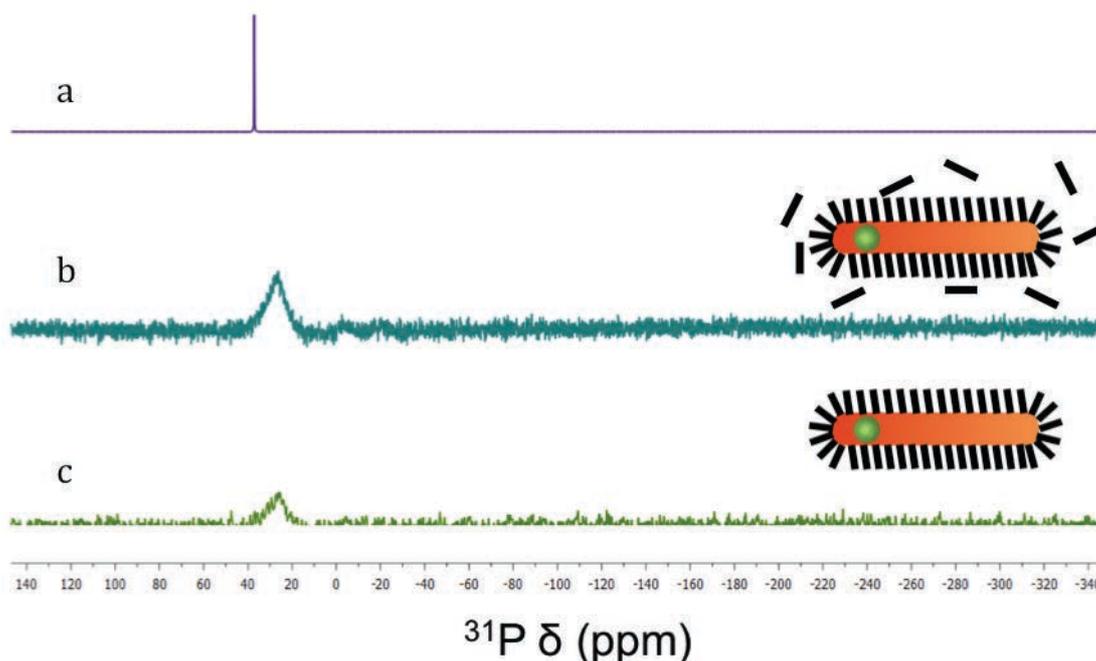


Figure.III.16. Spectre RMN Phosphore de a) l'HPA, des QRs c) après synthèse, b) après ajout d'HPA dans le milieu.

En conclusion, ce sont les acides phosphonique HPA et ODPA qui sont les ligands de surfaces des QRs. Nous avons donc au cours de cette partie montré que les QRs sont bien des

9. J. S. Owen, J. Park, P.-E. Trudeau, A. P. Alivisatos, Reaction Chemistry and Ligand Exchange at Cadmium, Selenide Nanocrystal Surfaces. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 12279-12281 (2008).

10. H. Liu, J. S. Owen, A. P. Alivisatos, Mechanistic Study of Precursor Evolution in Colloidal Group II, VI Semiconductor Nanocrystal Synthesis. *Journal of the American Chemical Society* **129**, 305-312 (2006).

nanoparticules cristallines, anisotropes, possédant des ligands de surface de type acide phosphonique (HPA et ODPA) et qu'ils sont hydrophobes.

III. Echange de ligands.

L'échange de ligands permet de remplacer les ligands hydrophobes issus de la synthèse par des ligands hydrophiles choisis. Cette partie décrit dans un premier temps l'échange de ligand, qui sera dans ensuite analysé par RMN du proton et du phosphore. Nous continuons cette partie par l'étude de la chimie de surface de ces QRs hydrophiles, suivie de leurs propriétés optiques dans l'eau et enfin de leur stabilité colloïdale. Dans une deuxième partie, nous discuterons de la fonctionnalisation des QRs hydrophobes par de l'ADN.

A. L'échange de ligands.

L'échange de ligands se fait dans tous les cas de la même façon, comme le présente la figure.III.17.

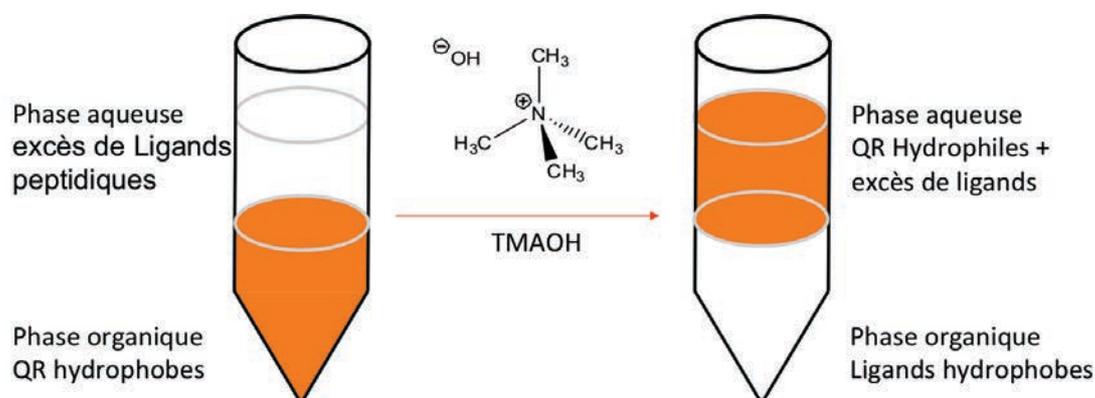


Figure.III.17. Schéma simple du procédé utilisé pour échanger les ligands phosphorés contre les peptides désirés.

Une suspension de QRs (10 mg.ml^{-1}) dans le chloroforme est mise en présence d'une solution de ligands peptidiques (20 mM) dans l'eau millipore. Ce ligand peptidique est en très large excès (20 équivalents), dans le cas décrit ici, le peptide est TCCPAC. Un agent de transfert de phase, l'hydroxyde de tétraméthyl-ammonium (TMAOH) est ajouté au milieu. Cet agent permet de déprotoner les cystéines présentes sur le peptide et aussi de faire passer les QRs hydrophobes à l'interface solvant organique/solvant aqueux.^{11, 12} Une fois que la phase organique devient translucide et que la phase aqueuse est fluorescente, la phase organique est aspirée manuellement à l'aide d'une micropipette puis les traces de solvants organiques résiduelles sont éliminées par évaporation. Ainsi il en résulte la phase aqueuse contenant les QRs dont la concentration est ensuite estimée par spectroscopie UV-visible.

B. Caractérisation des QRs hydrophiles

Une fois l'échange de ligand effectué, les QRs hydrophiles sont purifiés. Afin d'éliminer le large excès de ligands, il va falloir les enlever pour mieux contrôler le milieu dans lequel se trouve les QRs. Une chromatographie d'exclusion stérique sur gel est réalisée (cette technique permet de

11.F. Pinaud, D. King, H.-P. Moore, S. Weiss, Bioactivation and Cell Targeting of Semiconductor CdSe/ZnS Nanocrystals with Phytochelatin-Related Peptides. *Journal of the American Chemical Society* **126**, 6115-6123 (2004).

12. A. Dif, F. Boulmedais, M. Pinot, V. Roullier, M. Baudy-Floc'h, F. M. Coquelle, S. Clarke, P. Neveu, F. Vignaux, R. L. Borgne, M. Dahan, Z. Gueroui, V. Marchi-Artzner, Small and Stable Peptidic PEGylated Quantum Dots to Target Polyhistidine-Tagged Proteins with Controlled Stoichiometry. *Journal of the American Chemical Society* **131**, 14738-14746 (2009).

séparer en fonction de leurs rayons hydrodynamiques des macromolécules). Le gel est constitué d'un polymère possédant des pores de taille connue qui laisse rentrer les molécules jusqu'à une taille limite définie par leur masse molaire. Le gel que nous utilisons est de type sephadex[®] DNA G-25, il possède une taille de pore de 1500 Daltons. Ce seuil de rétention est supérieur à la masse des ligands peptidiques mais très largement inférieur à la taille des QRs. L'éluant utilisé dépend des techniques utilisées par la suite. Par exemple, pour la RMN, nous utilisons une solution de D₂O à pD 9 pour fixer le pH tout en évitant la présence des protons de l'eau et dans le cas des SAXS de l'eau millipore.

Lors de la chromatographie sur gel d'exclusion stérique, les QRs fonctionnalisés sont déposés dans la colonne préalablement équilibrée. Le suivi de l'éluion se fait sous lampe UV, et la phase fluorescente est récupérée. Il sera nécessaire de le faire deux fois.

Cette étape de purification constitue une preuve indirecte de la fonctionnalisation de nos QRs par les ligands peptidiques.

Les étapes suivantes consistent dans un premier temps à caractériser la chimie de surface des QRs puis à vérifier leurs propriétés optiques et étudier leurs propriétés colloïdales.

1. RMN du phosphore et du proton

Afin de démontrer que l'échange des ligands phosphorés par des ligands peptidiques est totale, des expériences de RMN du phosphore et du proton ont été réalisées.

Après avoir lavé les QRs par gel d'exclusion stérique, suite à l'échange de ligands, la première étape consiste à suivre la perte du signal du phosphore en RMN. La figure III.18, montre en vert le spectre des QRs hydrophobes et en rouge des QRs hydrophiles.

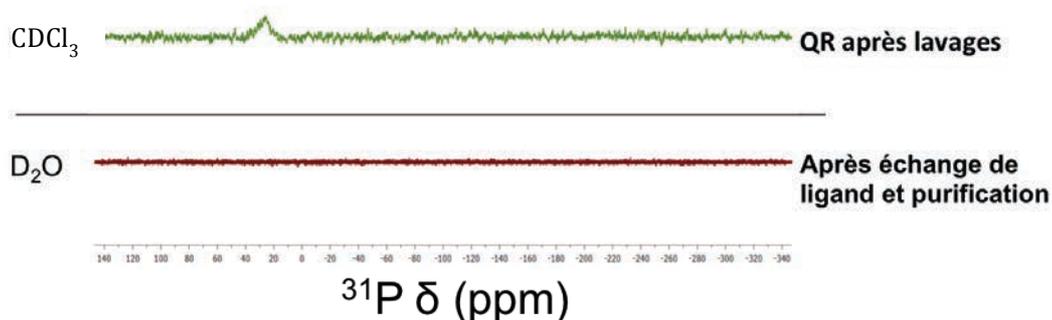


Figure.III.18. Spectre RMN phosphore, des QRs après synthèse dans CDCl₃ et des QRs après échange de ligands et lavage dans D₂O.

Nous pouvons observer la disparition du pic correspondant aux acides phosphoniques même après une accumulation de mesures importante (5000 scans).

Afin d'évaluer l'efficacité de l'étape de lavage, nous avons enregistré les spectres RMN du proton (figure.III.19) avant et après un ou deux passages sur colonne. Le spectre (a) montre la solution aqueuse juste après échange de ligands avant passage sur une colonne. On peut y retrouver l'agent de transfert de phase TMAOH, ainsi que les chaînes alkyles des acides phosphoniques et des pics caractéristiques du ligand peptidique TCCPAC (figure.III.20.a). La présence de méthanol est due à l'ajout du TMAOH. Les pics des chaînes alkyles des deux acides phosphoniques et du TMAOH (et méthanol) disparaissent après deux passages sur des colonnes de gel d'exclusion stérique (figure.II.20.b et c). Dans le cas du peptide, on observe une diminution graduelle de l'intensité des pics ainsi que la disparition de certains pics, qui correspondent aux protons présents sur les trois cystéines (pics de 4 à 4,2 ppm).

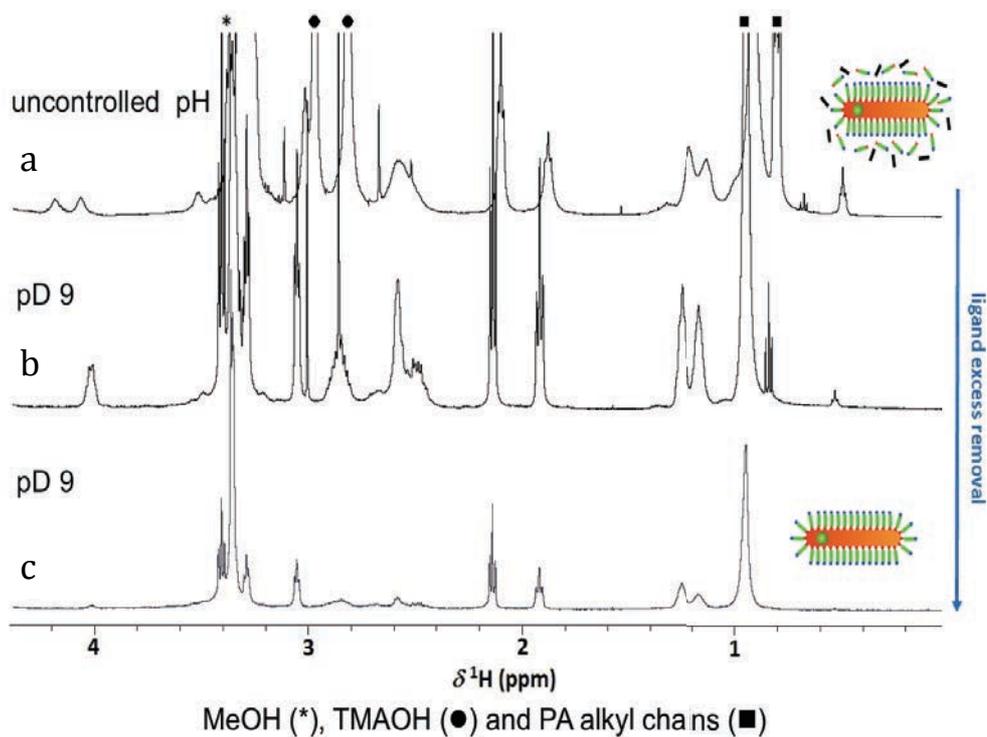


Figure.III.19. Suivi du lavage des QRs après fonctionnalisations (a), après un lavage (b) et après deux lavage (c).

La disparition des traces des ligands phosphorés et l'élargissement simultané ou la disparition de certains pics du ligand peptidique sont en accord avec l'échange des deux ligands, ce qui démontre que le peptide est bien sur la surface du QR.

Pour mieux comprendre la disparition de certains pics, un dosage des QRs par le ligand peptidique TCCPAC (et inversement), est effectué (figure.III.20).

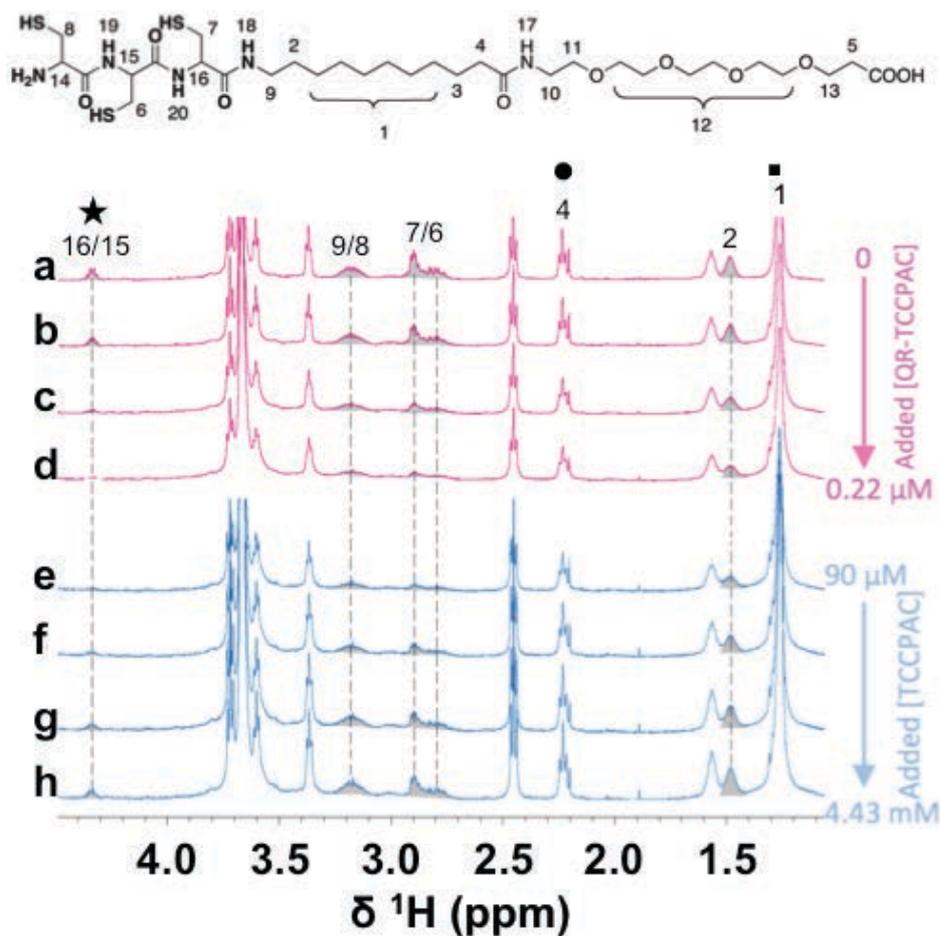


Figure.III.20. Rappel de la structure du peptide TCCPAC utilisé pendant le dosage et spectre du dosage du peptide par les QRs (spectres roses) et titration inverse (spectres bleus).

Après avoir lavé les QRs hydrophiles, et obtenu une solution à $0.36 \mu\text{M}$ dans $100\% \text{D}_2\text{O}$ à $\text{pD } 9$, une solution du peptide TCCPAC à 1mM est placée dans un premier tube permettant son insertion dans un second tube, lequel contient une solution d'acide triméthylsilyle propanoïque (TMSP) à 1mM qui servira de référence externe. La solution de QRs est alors ajoutée en petit volume (de 0 à $60 \mu\text{l}$) à la solution de peptides (courbes roses). Au fur et à mesure de l'ajout de QRs, une diminution de l'intensité et un élargissement de certains pics sont observés. A l'inverse, dans le cas d'un dosage d'une suspension de QRs par le ligand peptidique TCCPAC, les mêmes pics réapparaissent.

Lorsque l'on considère les pics du ligand peptidique qui sont modifiés, on remarque qu'ils correspondent aux protons situés sur les cystéines (protons : $16/15$, $9/8$ et $7/6$) et ceux de la chaîne alkyle voisins des cystéines (protons : 2).

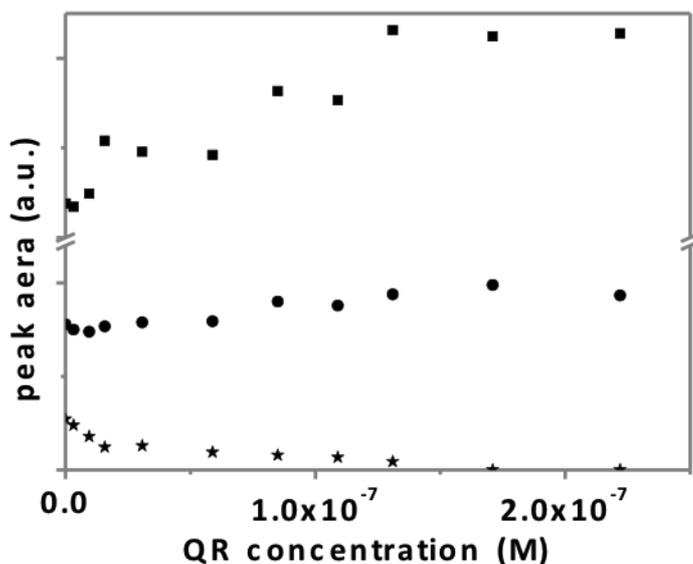


Figure.III.21. Evolution de l'aire sous les pics H α 16/15 des cystéines, H4 et H1 appartenant à la chaîne alkyle en fonction de la concentration de QRs ajouté au système.

Lors de la titration du ligand peptidique par les QRs, en mesurant l'aire des pics (★) H α 16/15 des cystéines, (●) H4 et (■) H1 appartenant à la chaîne alkyle, deux tendances sont observables : les protons de la chaîne alkyle montrent une augmentation en aire tandis que les protons H α des cystéines diminuent jusqu'à ne plus être détectables (figure.III.21).

Cela confirme le fait que les cystéines sont proches de la surface des QRs et que la chaîne alkyle se trouve « relativement » éloignée de celle-ci.

La référence externe, non touchée par la titration car située dans le tube extérieure (dilution, effet de pH, etc.), permet de normaliser l'intégrale des pics et de convertir l'intégration donnée par les pics en concentration. En utilisant les pics 1, 4 et 12, normalisés par la référence externe, une augmentation de 20% en aire est observée. Connaissant la concentration en peptide libre au départ de la titration, il est possible de connaître la concentration du ligand peptidique finale. Connaissant également la concentration en QRs ajoutée, une estimation du nombre moyen du ligand peptidique par QRs est possible après purification. En effet, une augmentation de 20% de l'aire des pics non perturbés par l'absorption sur la surface donne la quantité de ligands peptidiques ajoutée par l'intermédiaire des QRs dans le tube de RMN. On trouve alors 650 peptides par QRs en moyenne en prenant des QRs de tailles 18 x 5,2 nm, possédant alors une aire de 360 nm². La surface moyenne occupée par un peptide est alors de 0.6 nm². La concentration surfacique est donc relativement dense mais puisque l'on observe que l'on peut encore fixer des ligands, la surface des QRs n'est donc pas totalement saturée en peptide lors de l'échange de ligands.

Il existe aussi un technique permettant de trouver le coefficient de diffusion en RMN. Cette technique appelée DOSY, permet de mesurer le coefficient de diffusion de certains protons du peptide TCCPAC, seul ou alors après fonctionnalisation des QRs comme le montre la figure III.22. La première partie de la figure III.22 montre l'enregistrement des coefficients de diffusion à partir des signaux de plusieurs groupes fonctionnels du peptide (« lié » en vert et en noir ceux du peptide non lié). Il est alors visible que les groupements les plus proches de la surface des QRs, ont un coefficient de diffusion plus faible que lorsqu'ils sont « libres ».

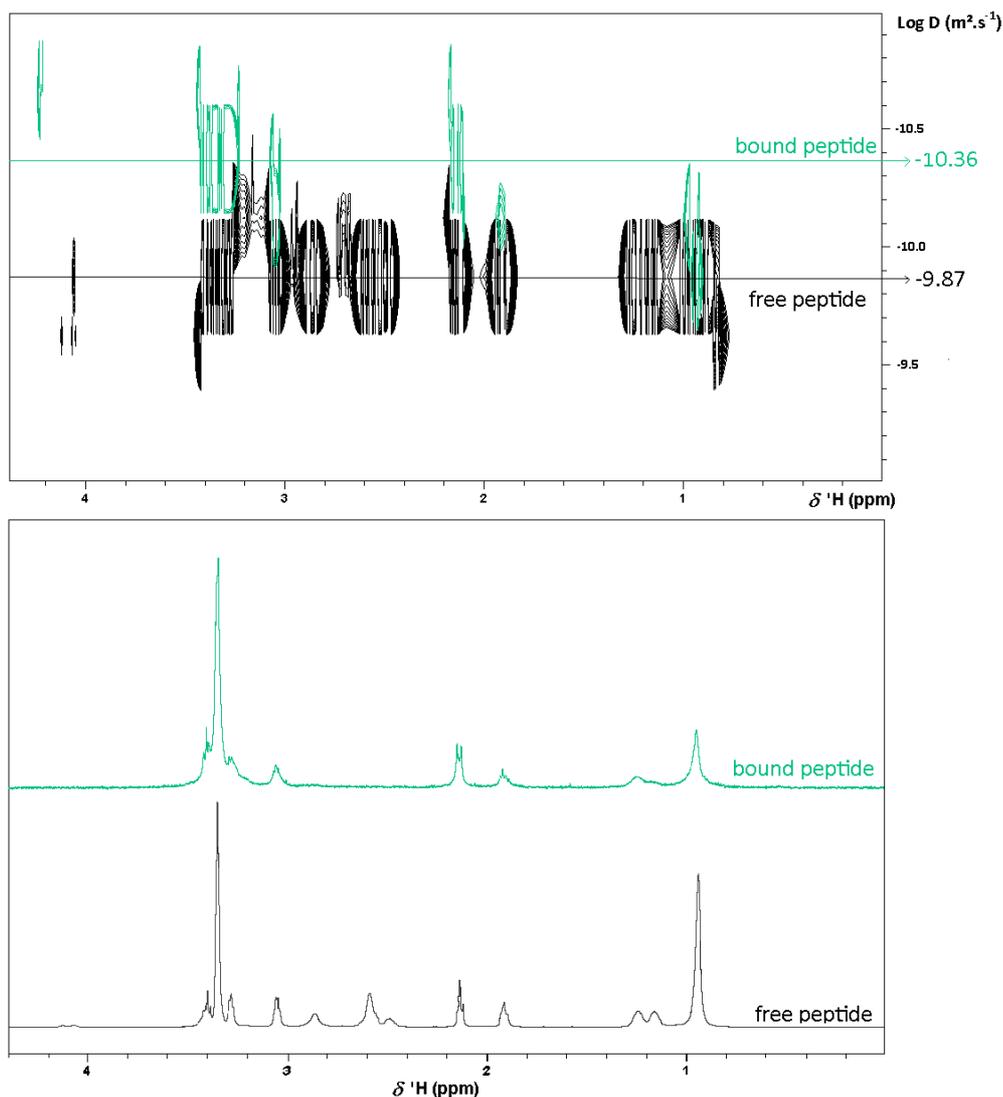


Figure.III.22. Superposition des spectre DOSY 1D du peptide-QRs (vert) et du peptide libre (noir) en haut et spectres de références 1D ^1H de chaque mesure DOSY.

Les mesures de coefficient donnent une valeur de $-10.36 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pour le peptide lié et $-9.87 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et le peptide libre. De plus lorsque l'on regarde les spectre ^1H 1D correspondant à la mesure du coefficient de diffusion, on observe que tous les pics correspondant aux cystéines ne sont pas visibles et donc possèdent un coefficient de diffusion très lent par rapport aux signaux enregistrés.¹³ Cette dernière remarque confirme alors la fixation du peptide sur la surface des NPs.

Nous avons donc montré que les QRs sont bien fonctionnalisés seulement par le peptide, qui est accroché par ses 3 cystéines et que l'aire moléculaire moyenne des ligands à la surface des QRs est de $0,6 \text{ nm}^2$.

2. Propriétés optiques en solution

Afin de pouvoir utiliser les QRs devenus QRs-peptide, il faut confirmer que les propriétés optiques et colloïdales ne sont pas modifiées.

13. I. Moreels, B. Fritzing, J. C. Martins, Z. Hens, Surface Chemistry of Colloidal PbSe Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 15081-15086 (2008).

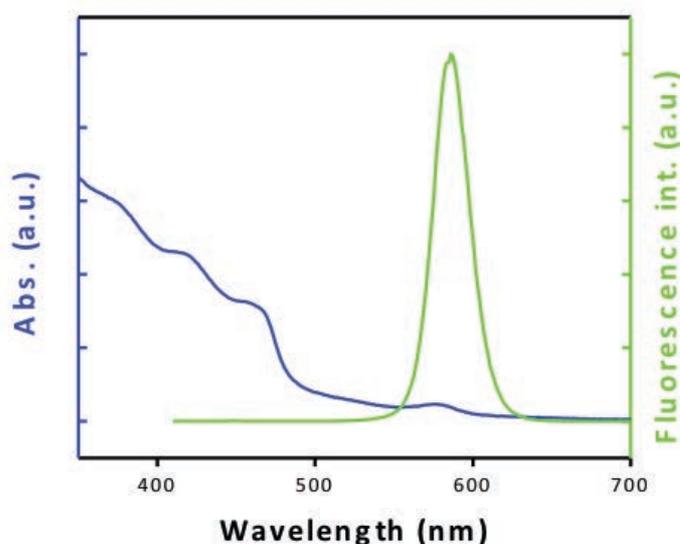


Figure.III.23. spectre UV-Visible (en bleu) et d'émission de fluorescence (en vert) après échange de ligands dans l'eau millipore.

Après fonctionnalisation, les spectres d'absorption UV-visible (figure.III.23 courbe bleue) et d'émission de fluorescence (figure.III.23 courbe verte) sont enregistrés. Un léger décalage de 2 nm vers les plus grandes longueurs d'ondes est observé à chaque fois. De plus une diminution du rendement quantique de fluorescence de l'ordre de 20 % est détectée. Ce décalage et cette diminution du rendement quantique de fluorescence sont attribués au piégeage des trous photo-induits permettant une réduction des groupements thiols présents à la surface du nanocrystal.¹⁴ Mais les spectres ne montrent pas de changement drastique des propriétés optiques, les pics caractéristiques des constituant des QRs sont retrouvés et le pic d'émission de fluorescence possède une largeur à mi-hauteur inférieure à 50 nm (Figure.III.23 courbe verte).

3. Propriétés colloïdales

La stabilité colloïdale des QRs a été ensuite étudiée à différents pH. Pour cela, une gamme de tampon de pH 3 à pH 11 a été préparée et des QRs concentrés sont ajoutés à ces solutions (même concentration dans tous les échantillons). La figure.III.24.a montre la fluorescence des QRs fonctionnalisés par le peptide TCCPAC à 3 pH marquants. Le pH 3 est le pH acide limite en dessous duquel les QRs ne sont plus stables après 2 jours. Par contre à pH 7 et 9, pH utilisé dans la plupart des études réalisées, ils sont stables pendant plus de 17 jours. Cette tendance est confirmée par la figure.III.25.b, qui montre une augmentation de diamètre hydrodynamique rapide à pH 3 due à l'agrégation des NPs, tandis que le diamètre reste stable à pH 7 et 9. Cette stabilité à différents pH est importante, car les QRs pourront être mis en présence d'acide ou alors de base dans le cadre de réaction post-fonctionnalisation ou même pour allumer ou éteindre la charge portée par le peptide.

14. S. Tamang, G. g. Beaune, I. Texier, P. Reiss, Aqueous Phase Transfer of InP/ZnS Nanocrystals Conserving Fluorescence and High Colloidal Stability. *ACS Nano* 5, 9392-9402 (2011).

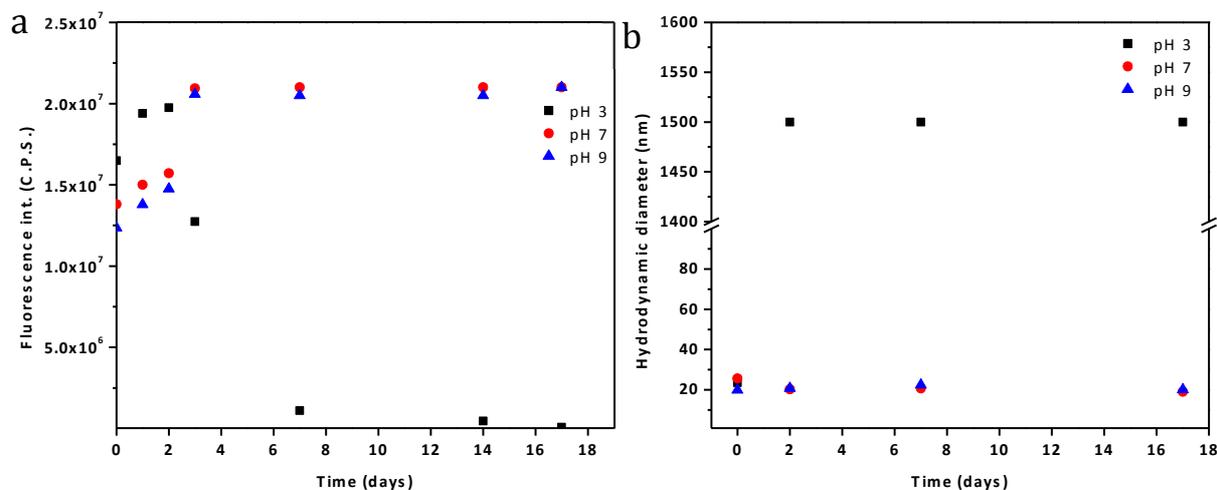


Figure.III.24. suivi dans le temps de l'émission de de fluorescence (a) et du diamètre hydrodynamique (b) de QRs à différents pH fonctionnalisés avec le peptide TCCPAC.

Afin d'étudier le rôle du ligand dans la stabilité colloïdale, le peptide TCCPAC a été remplacé par TCPAC, qui lui ne porte pas de chaîne alkyle. En réalisant les mêmes mesures, on remarque que l'intensité de fluorescence n'est plus stable dès le premier jour et qu'elle est quasi nulle après 4 jours (pH inférieur à 7). Dans le cas des pH 7 et 9, la fluorescence est stable pendant 15 jours, mais elle diminue fortement dans les jours suivants (figure.III.25.a). Ces résultats sont confirmés par les mesures de DLS, qui montrent une agrégation quasi-directe des QRs à pH 3 et une agrégation dès 8 jours à pH 7 et 9 (figure.III.25.b).

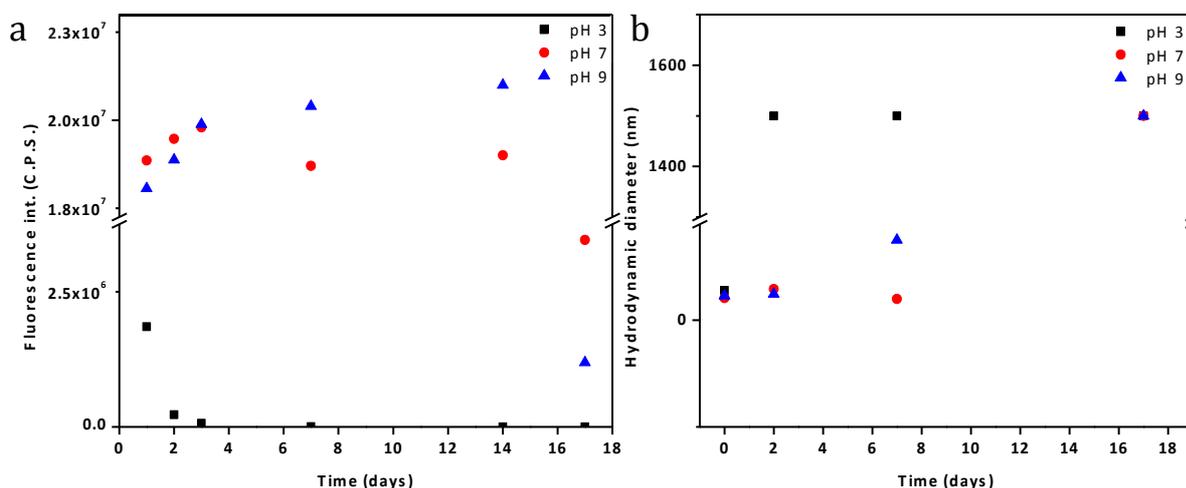


Figure.III.25. suivi dans le temps de l'émission de de fluorescence (a) et du diamètre hydrodynamique (b) de QRs à différents pH fonctionnalisés avec le peptide TCPAC

La fonctionnalisation des QRs par un ligand peptidique comportant une chaîne alkyle, permet donc une meilleure stabilité de la fluorescence dans le temps à différents pH. Un domaine de

stabilité existe alors pour ces deux ligands : [5-11] pour le ligand TCCPAC et de [7-9] pour le ligand TCPAC.

Comme la chaîne alkyle joue un rôle important dans la stabilité des particules, les QRs sont fonctionnalisés par un autre ligand peptidique TCCPAM (figure.III.26.a), possédant une fonction amide au lieu d'une fonction acide. Grâce à ce ligand peptidique, nous allons pouvoir évaluer la charge surfacique des QRs hydrophiles portant le ligand TCCPAC et également voir si il est possible de la contrôler. Le ligand peptidique TCCPAM va alors servir à diluer la charge du ligand TCCPAC et donc permettre de contrôler la charge globale portée par les NPs. Pour cela, différents mélange de TCCPAC:TCCPAM ont été réalisés comme le montre la figure.III.26.b. Les échantillons de QRs-peptide (18 μ l à 0.01 μ M) ont été mélangés à une solution à 30% de glycérol puis déposés dans les puits du gel d'électrophorèse. Après une heure sous champ électrique, une migration en escalier est observée. En effet plus les QRs présentent un pourcentage moléculaire élevé de TCCPAC, plus ils vont migrer vers la cathode. Cela montre bien que TCCPAC donne bien une charge négative aux QRs. Inversement plus il y aura de TCCPAM, moins les QRs vont migrer, TCCPAM n'introduisant pas de charge supplémentaire aux QRs.

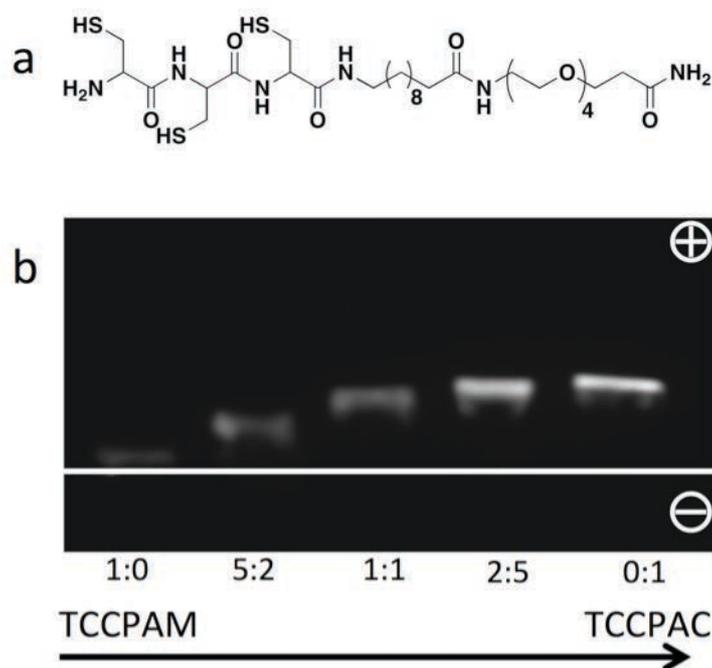


Figure.III.26. peptide TCCPAM (a) utilisé pour l'électrophorèse de QRs fonctionnalisés avec le peptide TCCPAC et une quantité croissante de TCCPAM (b).

Les QRs peuvent donc être fonctionnalisés par différents peptides, qui ne confèrent pas les mêmes propriétés suivant les fonctions chimiques qu'ils portent. On observe également lors de la fonctionnalisation avec le peptide TCCPAM, un plus faible rendement dans l'échange de ligand.

L'utilisation d'un ligand simple de type acide mercapto undecanoïque (MUA) avec une seule cystéine comme ancre, a permis de vérifier que un seul thiol ne suffit pas pour que le ligand soit accroché de façon efficace à la surface de la particule.

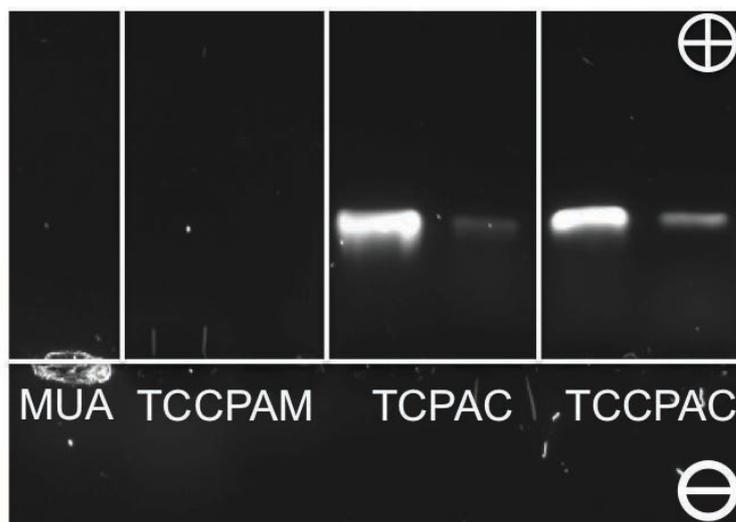


Figure.III.27. Electrophorèse de QRs fonctionnalisés avec différents ligands ayant des structures moléculaires différentes.

Comme le montre la figure III.27, MUA, est agrégé dans le puits de départ. Le ligand TCCPAM, ne permet pas la migration des QRs car il est neutre, mais ceux-ci ne sont pas agrégés, l'absence de "tâche" fluorescente est due à la faible quantité de QRs récupérés après fonctionnalisation par le ligand TCCPAM. Enfin on peut voir que les QRs-TCCPAC migrent en bande plus fine que les QRs-TCPAC, montrant donc une meilleure stabilité colloïdale.

C. Fonctionnalisation avec de l'ADN

La fonctionnalisation de QRs hydrophobes par les ligands peptidiques TCPAC et TCCPAC, possédant une fonction carbohydate, permet des réactions chimiques après échange de ligands. Il est possible alors d'y faire réagir des molécules permettant de fixer des interdistances entre particules en solution.

La fonctionnalisation avec de l'ADN est courante pour les particules d'or, en effet grâce au développement de la synthèse *in vitro* de l'ADN, il est possible d'introduire une fonction thiol et d'un bras espaceur sur un brin d'ADN. Mais comme il a été montré précédemment, un thiol ne suffit pas pour bien ancrer le ligand sur les QRs utilisés ici. Afin de pouvoir lier des brins d'ADN sur les QRs, il a été décidé de remplacer les fonctions thiols par des fonctions amines. Ces fonctions amines, vont permettre d'attacher par formation d'une liaison amide l'ADN au peptide-QRs (les peptides possédant une fonction acide carboxylique terminale).^{15,16}

Trois brins d'ADN vont être utilisés dans ce travail, réalisé en collaboration avec le groupe d'Oleg Gang à Brookhaven National Laborator. Les trois brins d'ADN possèdent tous la même séquence de reconnaissance, mais un nombre différent de tyrosine (Tn) qui constitue un espaceur entre la surface des NPs et le site de reconnaissance, ce qui va donner le nom aux séquences. Chaque brin possède un brin complémentaire. Nous aurons donc 6 brins d'ADN en tout présentés dans le tableau.III.3.

15. D. Sun, O. Gang, Binary Heterogeneous Superlattices Assembled from Quantum Dots and Gold Nanoparticles with DNA. *Journal of the American Chemical Society* **133**, 5252-5254 (2011).

16. Y. Zhang, F. Lu, K. G. Yager, D. van der Lelie, O. Gang, A general strategy for the DNA-mediated self-assembly of functional nanoparticles into heterogeneous systems. *Nat Nano* **8**, 865-872 (2013).

Noms	Séquences
1A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₁₅ -NH ₂ -3'
1B	5'-ATT GGA TTG GAA GTA (T) ₁₅ -NH ₂ -3'
3A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₃₀ -NH ₂ -3'
3B	5'-ATT GGA TTG GAA GTA (T) ₃₀ -NH ₂ -3'
5A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₄₅ -NH ₂ -3'
5B	5'-ATT GGA TTG GAA GTA (T) ₄₅ -NH ₂ -3'

Tableau.III.3. Séquence des différents type d'ADN utilisé dans l'étude

1. Protocole.

La formation de la liaison amide se fait dans les mêmes conditions expérimentales quelque soit la taille des brins d'ADN. Après fonctionnalisation des QRs par le peptide TCPAC ou TCCPAC, (TCPAC ayant la même structure que TCCPAC, mais sans la chaîne alkyle), les QRs-peptide en quantité connue vont être mis à réagir en présence des agents de couplage EDC et NHS en très large excès dans un tampon borate à pH 7,1. Le brin d'ADN sélectionné y est ajouté rapidement. Après 48 heures de réaction, le milieu est nettoyé par centrifugation sur filtre et les QRs-DNA sont récupérés. Le protocole entier est décrit en partie II.

2. Caractérisation

Après récupération des QRs-DNA, ceux-ci sont caractérisés par DLS et spectroscopies UV-Visible et d'émission de fluorescence dans un premier temps. La DLS, classiquement utilisé lors de la fonctionnalisation de NPs d'or, a été utilisée dans ce cas également, mais aucune mesure de diamètre hydrodynamique n'a permis de voir une augmentation significative de celui-ci. Il faut tout de même noté, que la DLS permet, de part le calcul utilisé, de ne mesurer normalement que les particules sphériques. Peut être que dans le cas de bâtonnet l'augmentation observée sur des particules sphériques est englobée par le moyennage du diamètre des particules anisotropes et donc une augmentation de 3 ou 4 nm n'est pas visible.

Les spectres d'émissions de fluorescences et d'absorption UV-visible (figure.III.28) ne montrent pas de changement significatif par rapport aux spectres avant fonctionnalisation.

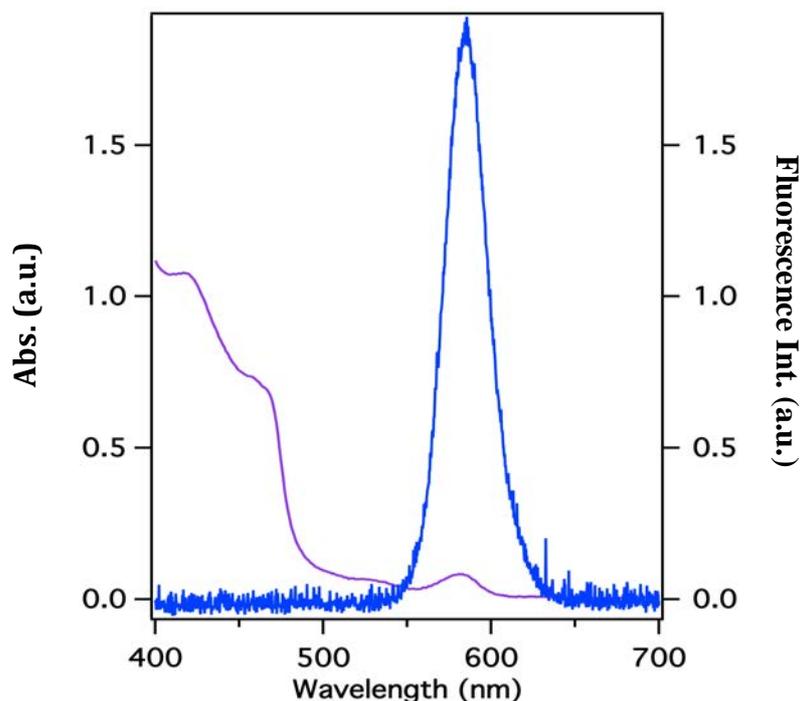


Figure.III.28. Spectre d'absorption UV-Visible (mauve) et d'émission de fluorescence (bleu) des QRs-DNA après lavage.

Afin d'obtenir la confirmation de la fonctionnalisation des QRs par l'ADN, les QRs-peptides et les QRs-DNA sont passés sur gel d'électrophorèse.

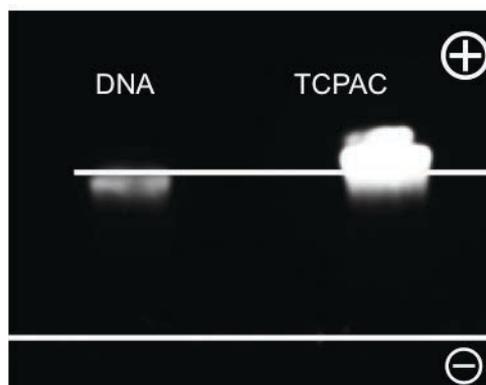


Figure.III.29. photo sous illumination UV d'un Gel d'électrophorèse à pH 8,2 après migration (1h) de QRs-TCPAC et de QRs-DNA.

Le gel d'électrophorèse montre une légère différence de migration entre les QRs-peptide et les QRs-DNA (figure.III.30). Cette différence même faible, indique que les diamètres des objets ont augmenté et que cette augmentation permet à elle seule de compenser l'augmentation en charge des QRs-DNA.

IV. Conclusion et discussion.

Nous avons montré pendant ce chapitre la possibilité de synthétiser des particules semi-conductrices anisotropes de type cœur/coquille cristallines en développant au laboratoire la synthèse mise au point par le groupe de Manna³. Les QRs synthétisés dans notre cas possèdent des tailles

variant de 12,8 nm à 108 nm en longueur et de 2,5 à 3,5 nm en diamètre et possèdent des longueurs d'émission de fluorescence comprise entre 580 et 610 nm.

Comme la plupart des synthèses de nanoparticules fluorescentes, les QRs sont fonctionnalisés en surface par des ligands phosphorés présents lors de la synthèse, dans notre cas par des acides phosphoniques, qui les rendent hydrophobes. Afin de donner des possibilités plus larges d'interaction entre QRs et de fonctionnalisation avec d'autres molécules, nous avons choisi d'échanger les ligands de surface par des peptides modulables à façon.

Les structures des ligands peptidiques que nous avons choisi ont été « optimisés » au laboratoire, basées sur de précédentes expériences dans la fonctionnalisation de QD.¹⁷ Une partie des ces peptides ont été synthétisées au laboratoire et une autre achetée. En effet même si la synthèse que nous avons montrée dans cette partie s'effectue sur support solide et donc réduit les temps de réaction et de lavage, la synthèse par exemple d'espaceur PEG ou chaîne alkyle est très longue et le rendement très faible.

Grace à la caractérisation des ligands peptidiques et phosphorés, nous avons pu comprendre et explorer l'étape du changement de ligand. Cette étape a permis de montrer que les ligands étaient bien ancrés à la particule par les 3 cystéines et que le choix de 3 cystéines comme ancre sur les particules était judicieux en comparant au ligand MUA qui montre une agrégation des QRs rapide. De plus, l'utilisation d'une chaîne alkyle sur les peptides permet une meilleure stabilité colloïdale à différents pH dans le temps.

En revenant sur les propriétés optiques en solution des QRs avant et après échange de ligands, le léger décalage (2 à 3 nm) dans les spectres UV-Visible et de fluorescence provient sans doute du changement d'environnement de la particule. De plus la diminution du rendement quantique des QRs de 0,45 à 0,20 provient de la capture des électrons photo-induits par les cystéines à la surface du nanocristal.

Nous nous retrouvons donc à la fin de ce chapitre avec des QRs hydrophiles, qui possèdent à leur surface des ligands peptidiques possédant une fonction N-terminale fonctionnalisable. En effet comme nous le montrons en dernière partie du chapitre, nous avons réussi à greffer des brins d'ADN sur les QRs-peptides. De plus, grâce à cette fonction acide carboxylique, nous possédons des QRs négativement chargés à leur surface. Cette charge permet d'introduire des répulsions entre QRs en solution, ce qui peut expliquer aussi la stabilité colloïdale, mais joue également sur les assemblages par séchages des NPs.

17. A. Dif, E. Henry, F. Artzner, M. Baudy-Floc'h, M. Schmutz, M. Dahan, V. Marchi-Artzner, Interaction between Water-Soluble Peptidic CdSe/ZnS Nanocrystals and Membranes: Formation of Hybrid Vesicles and Condensed Lamellar Phases. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 8289-8296 (2008)

Références

1. L. A. Mitscher, *Solid-Phase Synthesis. A Practical Guide* Edited by S. A. Kates (Consensus Pharmaceuticals, Inc.) and F. Albericio (University of Barcelona, Spain). Marcel Dekker, Inc., New York, NY. 2000. xx + 826 pp. 14.5 × 22.5 cm. \$250.00. ISBN 0-8247-0359-6. *Journal of Natural Products* **64**, 142-142 (2001); published online Epub2001/01/01 (10.1021/np990740p).
2. J. Jones, *Amino Acid and Peptide Synthesis*. (Oxford University Press, 2002).
3. L. Carbone, C. Nobile, M. De Giorgi, F. D. Sala, G. Morello, P. Pompa, M. Hytch, E. Snoeck, A. Fiore, I. R. Franchini, M. Nadasan, A. F. Silvestre, L. Chiodo, S. Kudera, R. Cingolani, R. Krahne, L. Manna, Synthesis and Micrometer-Scale Assembly of Colloidal CdSe/CdS Nanorods Prepared by a Seeded Growth Approach. *Nano Letters* **7**, 2942-2950 (2007)10.1021/nl0717661).
4. C. A. Leatherdale, W. K. Woo, F. V. Mikulec, M. G. Bawendi, On the Absorption Cross Section of CdSe Nanocrystal Quantum Dots. *The Journal of Physical Chemistry B* **106**, 7619-7622 (2002); published online Epub2002/08/01 (10.1021/jp025698c).
5. W. W. Yu, L. Qu, W. Guo, X. Peng, Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals. *Chemistry of Materials* **15**, 2854-2860 (2003); published online Epub2003/07/01 (10.1021/cm034081k).
6. J. J. Shiang, A. V. Kadavanich, R. K. Grubbs, A. P. Alivisatos, Symmetry of Annealed Wurtzite CdSe Nanocrystals: Assignment to the C_{3v} Point Group. *The Journal of Physical Chemistry* **99**, 17417-17422 (1995)10.1021/j100048a017).
7. R. Alam, D. M. Fontaine, B. R. Branchini, M. M. Maye, Designing Quantum Rods for Optimized Energy Transfer with Firefly Luciferase Enzymes. *Nano Letters* **12**, 3251-3256 (2012); published online Epub2012/06/13 (10.1021/nl301291g).
8. D. E. Jesson, S. J. Pennycook, Incoherent Imaging of Crystals Using Thermally Scattered Electrons. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A: Mathematical and Physical Sciences* **449**, 273-293 (1995); published online EpubMay 9, 1995 (10.1098/rspa.1995.0044).
9. J. S. Owen, J. Park, P.-E. Trudeau, A. P. Alivisatos, Reaction Chemistry and Ligand Exchange at Cadmium, Selenide Nanocrystal Surfaces. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 12279-12281 (2008)10.1021/ja804414f).
10. H. Liu, J. S. Owen, A. P. Alivisatos, Mechanistic Study of Precursor Evolution in Colloidal Group II-VI Semiconductor Nanocrystal Synthesis. *Journal of the American Chemical Society* **129**, 305-312 (2006)10.1021/ja0656696).
11. F. Pinaud, D. King, H.-P. Moore, S. Weiss, Bioactivation and Cell Targeting of Semiconductor CdSe/ZnS Nanocrystals with Phytochelatin-Related Peptides. *Journal of the American Chemical Society* **126**, 6115-6123 (2004)10.1021/ja031691c).
12. A. Dif, F. Boulmedais, M. Pinot, V. Roullier, M. Baudy-Floc, F. M. Coquelle, S. Clarke, P. Neveu, F. Vignaux, R. L. Borgne, M. Dahan, Z. Gueroui, V. Marchi-Artzner, Small and Stable Peptidic PEGylated Quantum Dots to Target Polyhistidine-Tagged Proteins with Controlled Stoichiometry. *Journal of the American Chemical Society* **131**, 14738-14746 (2009); published online Epub2009/10/21 (10.1021/ja902743u).
13. I. Moreels, B. Fritzing, J. C. Martins, Z. Hens, Surface Chemistry of Colloidal PbSe Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 15081-15086 (2008); published online Epub2008/11/12 (10.1021/ja803994m).
14. S. Tamang, G. g. Beaune, I. Texier, P. Reiss, Aqueous Phase Transfer of InP/ZnS Nanocrystals Conserving Fluorescence and High Colloidal Stability. *ACS Nano* **5**, 9392-9402 (2011); published online Epub2011/12/27 (10.1021/nn203598c).
15. D. Sun, O. Gang, Binary Heterogeneous Superlattices Assembled from Quantum Dots and Gold Nanoparticles with DNA. *Journal of the American Chemical Society* **133**, 5252-5254 (2011); published online Epub2011/04/13 (10.1021/ja111542t).
16. Y. Zhang, F. Lu, K. G. Yager, D. van der Lelie, O. Gang, A general strategy for the DNA-mediated self-assembly of functional nanoparticles into heterogeneous systems. *Nat Nano* **8**, 865-872 (2013); published online Epub11/print (10.1038/nnano.2013.209).
17. A. Dif, E. Henry, F. Artzner, M. Baudy-Floc, M. Schmutz, M. Dahan, V. Marchi-Artzner, Interaction between Water-Soluble Peptidic CdSe/ZnS Nanocrystals and Membranes: Formation of Hybrid Vesicles and Condensed Lamellar Phases. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 8289-8296 (2008)10.1021/ja711378g).

Chapitre IV: Auto-assemblage de nanoparticules

Auto-assemblage de nanoparticules	89
I. Etude des nanoparticules semi-conductrices en capillaire.	91
A. QRs en suspension	91
B. Structuration de nanoparticules par séchage en capillaire	93
1. Séchage à partir d'une solution organique.....	95
2. Séchage à partir du solution aqueuse	99
a) Structure nématique.....	102
b) Structure smectique B (ABC)	102
c) Structure hexagonale colonnaire	102
C. Discussion	105
II. Séchage d'une suspension de QRs avec une surface micro-structurée.....	106
A. Etude du séchage à l'échelle macroscopique.	106
1. Suivi de la formation de structures macroscopiques.....	107
a) Choix du surfactant.....	107
b) Effet de la concentration des surfactants.....	109
B. Structure interne des murs	109
1. Exploration des structures par SEM	109
2. Etude des structures formées	110
a) Étude sur les QRs 18 nm	111
b) QRs de plus grand rapport d'aspect	115
C. Discussion	116
III. Conclusion.....	116
Références.....	119

Après avoir présenter la synthèse et l'étude de la fonctionnalisation des QRs, nous allons nous intéresser à la formation possible de structures cristallines 3D, ce qui permettrait l'apparition de nouvelles propriétés optiques.

Nous allons nous intéresser dans un premier temps à l'auto-assemblage de nanoparticules en fonction du solvant (organique et aqueux) puis dans un deuxième temps à leur mise en forme à l'échelle macroscopique en utilisant un moule de PDMS permettant de diriger le séchage.

Dans la première partie, nous allons caractériser les nanocristaux en capillaire de rayon X. Pour cela, nous utiliserons les SAXS. Les QRs en solution organique seront analysés dans un premier temps afin d'étudier leur facteur de forme dont nous pourrions extraire leur longueur et diamètre. Dans une deuxième partie nous allons nous concentrer sur les QRs séchés à partir d'une suspension dans le toluène puis au séchage de QRs des mêmes lots de particules qui ont été greffés avec des ligands peptidiques pour les solubiliser dans l'eau.

La deuxième partie va nous permettre d'introduire la formation de structure macroscopique par séchage dirigé d'une suspension de QRs hydrophiles dans un moule de PDMS. Cette étude va se faire, pour commencer à l'échelle macroscopique, par microscopie en épi-fluorescence puis nous descendrons à l'échelle nanométrique en utilisant la microscopie électronique. Nous discuterons pour finir sur la comparaison des phases cristallines obtenues en capillaire et après séchage dirigé sous le moule de PDMS.

I. Etude des nanoparticules semi-conductrices en capillaire.

Dans cette première partie, nous allons étudier les nanoparticules en capillaire. Nous commencerons par l'étude des QRs en solution puis après séchage. Cette étude est réalisée pour deux catégories de QRs : organiques et hydrophiles. Les QRs organiques portent à leur surface, des ligands de type acide phosphonique à longue chaîne alkyle et les QRs hydrophiles portent à leur surface le peptide TCCPAC.

Afin d'avoir plus de détails sur la cristallisation des QRs, nous utiliserons 4 lots de QRs qui vont varier par leurs longueurs et cela pour les QRs hydrophobes et hydrophiles.

A. QRs en suspension

L'étude des particules en suspension va permettre grâce au facteur de forme de la particule visualisable par SAXS de déterminer la taille (longueur et diamètre) de celle-ci. Le spectre expérimental typique est présenté Figure.IV.1. Nous observons un léger rebond qui correspond au maximum caractéristique de $q = 0.024 \text{ \AA}^{-1}$

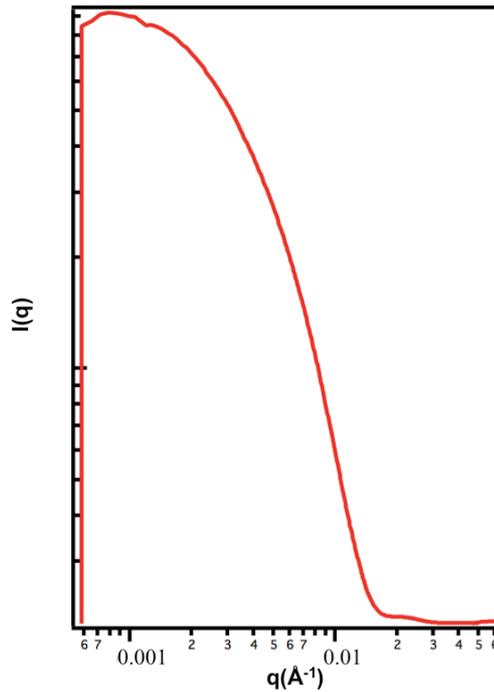


Figure.IV.1. Spectre de diffusion SAXS des QRs 18 nm en solution dans le toluène obtenu sur la ligne SWING.

Ce spectre de bâtonnets cœur-coquille anisotropes, peut être approximé par un modèle théorique. Mais du fait de l'anisotropie et de sa composition, le spectre des QRs n'est en réalité pas simple à approximer. Le modèle que nous avons choisi nous permet de tenir compte de la forme des bâtonnets. Malheureusement, le cœur sphérique, n'est pas facile à modéliser dans un bâtonnet.

Les rayons X étant sensible à la densité électronique dans un matériau, nous avons dans un premier temps calculé la densité électronique du CdSe et du CdS par unité de volume élémentaire de maille (E_d). Le calcul se fait de la façon suivante : $E_d = \frac{n_{e^-}}{V_{maille}}$ le volume de la maille élémentaire (V_{maille}) du CdSe est de $110,09 \text{ \AA}^3$ et celui du CdS est de $79,11 \text{ \AA}^3$ (source : webmineral.com) Le nombre d'électron (n_{e^-}) dans la maille élémentaire est de 546 pour le CdSe est de 402 pour le CdS. Le densité électronique du CdSe est alors de $4,96 \text{ e}^- \cdot \text{\AA}^{-3}$ est celle du CdS de $5,01 \text{ e}^- \cdot \text{\AA}^{-3}$. La modélisation de la courbe de rayon X précédente est présentée figure.IV.2.

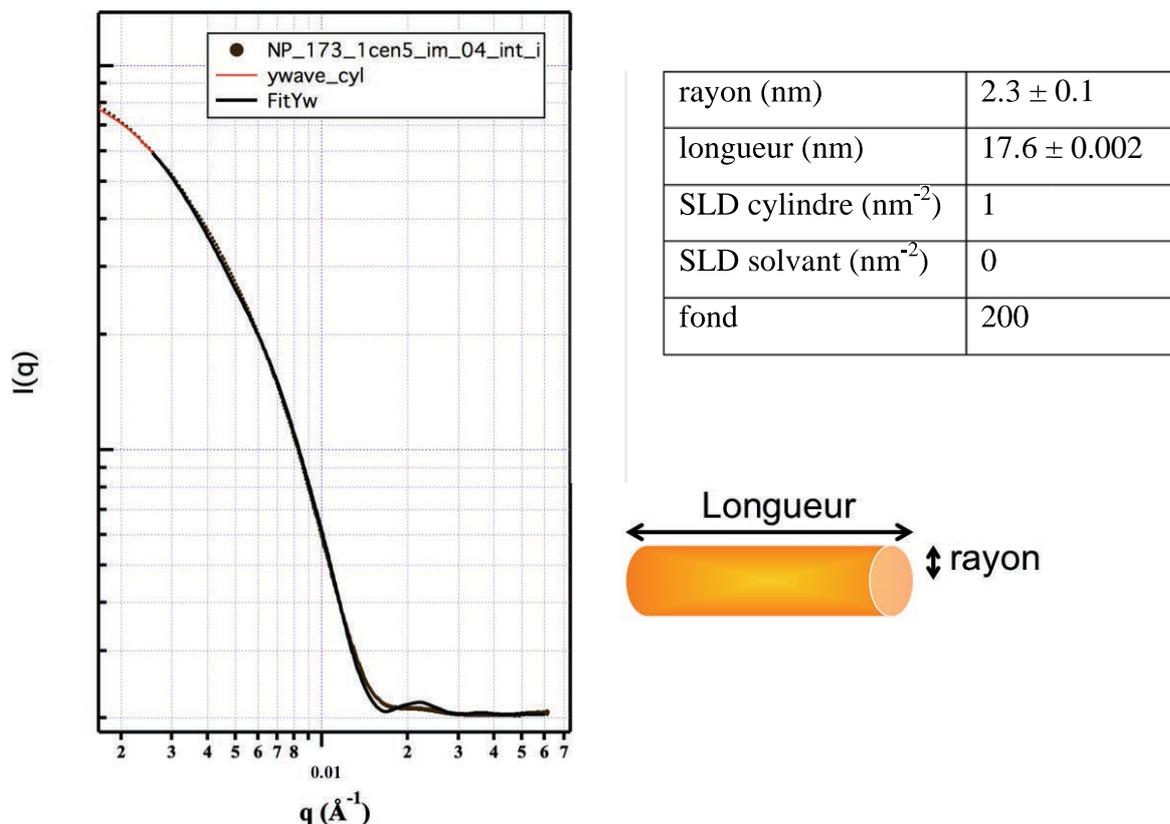


Figure.IV.2. Spectre de diffusion SAXS (rouge) des QRs 18 nm après modélisation en utilisant un modèle de type cylindre (spectre noir). Les paramètres du modèle sont présentés dans le tableau adjacent.

Les deux densités électroniques du CdSe et du CdS sont très proches, nous ne pouvons pas distinguer le cœur de CdSe de la coquille de CdS. Nous avons alors forcé comme valeur pour la variation électronique relative (SDL) du bâtonnet à 1 et 0 pour le solvant.

Nous observons que le maximum présent sur le spectre peut être modélisé de façon assez proche. Nous trouvons un rayon moyen de 2,3 nm et une longueur de 17.6 nm. Nous ne voyons pas la couronne de ligand existant autour de la particule. Même si la modélisation n'est pas parfaite, nous retrouvons des résultats proches de ceux obtenus par imagerie TEM : 17.8 nm de longueur et 2.6 nm de rayon. La différence la plus marquante est celle concernant la mesure du rayon. Cette différence peut être expliquée par la difficulté de mesurer un diamètre par imagerie TEM sur des nanoparticules semi-conductrices à cause de la faible différence de contraste entre le « fond » de l'image et les QRs eux-mêmes.

Dans le cas des QDs, il est possible de différencier le cœur de CdSe de la coquille de ZnS, le ZnS ayant une densité électronique dans la maille élémentaire de $3,2 \text{ e} \cdot \text{Å}^{-3}$.¹ De ce fait il est possible de mesurer l'épaisseur de la coquille de ZnS sur le cœur de CdSe.

B. Structuration de nanoparticules par séchage en capillaire

Les phases cristallines qui peuvent être obtenues à partir d'un solvant organique ou aqueux en capillaire ne sont pas connues. En effet, même s'il existe des exemples de séchages de QRs à partir de solvant organique, leur caractérisation par SEM ou diffraction des rayons X en poudre, ne

1. M. Postic, université de Rennes 1, Rennes (Thèse, 2012).

permet pas de voir la structure interne des objets obtenus.^{2,3,4,5} De plus aucune caractérisation à notre connaissance n'existe pour des QRs séchés à partir d'une solution aqueuse.

Il faut tout de même noter qu'il existe dans la littérature des études théoriques sur l'assemblage de bâtonnets selon le modèle de sphères dures et pour des bâtonnet chargé (groupe de Frenkel) mais également sur l'assemblage du virus de la mosaïque du tabac qui sont également des bâtonnets.^{6,7,8}

Les spectres SAXS des bâtonnets après séchage ont été enregistrés sur environ 2 cm de hauteur de capillaire ce qui équivaut à 250 points de mesure. La concentration est la même pour tous les séchages en capillaire (1,5 μM) et ne présente qu'une seule phase cristalline spécifique dans nos conditions.

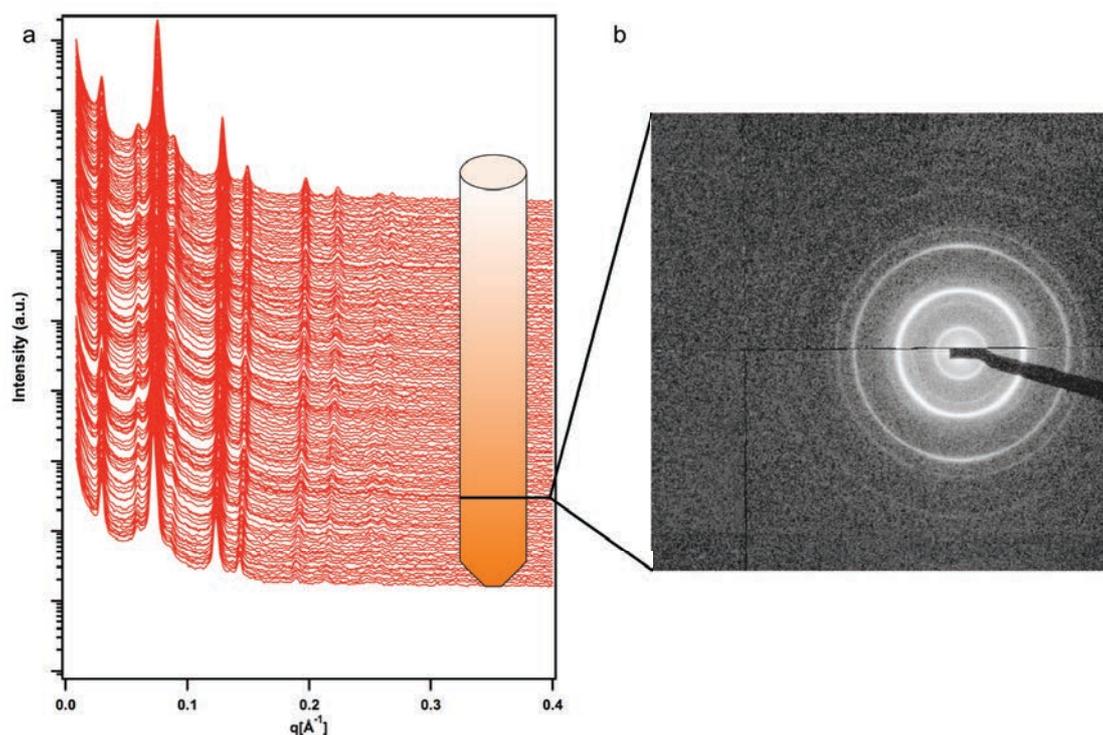


Figure IV.3. a) Exemple d'une séquence de spectres enregistrés le long d'un capillaire pour les QRs de 18 nm hydrophobes sur 2 cm (250 points) et b) cliché de la phase smectique B à une position donnée dans le capillaire.

2. L. Carbone, C. Nobile, M. De Giorgi, F. D. Sala, G. Morello, P. Pompa, M. Hytch, E. Snoeck, A. Fiore, I. R. Franchini, M. Nadasan, A. F. Silvestre, L. Chiodo, S. Kudera, R. Cingolani, R. Krahné, L. Manna, Synthesis and Micrometer-Scale Assembly of Colloidal CdSe/CdS Nanorods Prepared by a Seeded Growth Approach. *Nano Letters* **7**, 2942-2950 (2007).
3. D. Baranov, A. Fiore, M. van Huis, C. Giannini, A. Falqui, U. Lafont, H. Zandbergen, M. Zanella, R. Cingolani, L. Manna, Assembly of Colloidal Semiconductor Nanorods in Solution by Depletion Attraction. *Nano Letters* **10**, 743-749 (2010).
4. M. Zanella, R. Gomes, M. Povia, C. Giannini, Y. Zhang, A. Riskin, M. Van Bael, Z. Hens, L. Manna, Self-Assembled Multilayers of Vertically Aligned Semiconductor Nanorods on Device-Scale Areas. *Advanced Materials* **23**, 2205-2209 (2011).
5. M. Zavelani-Rossi, R. Krahné, G. Della Valle, S. Longhi, I. R. Franchini, S. Girardo, F. Scotognella, D. Pisignano, L. Manna, G. Lanzani, F. Tassone, Self-assembled CdSe/CdS nanorod micro-lasers fabricated from solution by capillary jet deposition. *Laser & Photonics Reviews* **6**, 678-683 (2012).
6. J. A. C. Veerman, D. Frenkel, Relative stability of columnar and crystalline phases in a system of parallel hard spherocylinders. *Physical Review A* **43**, 4334 (1991).
7. P. Bolhuis, D. Frenkel, Tracing the phase boundaries of hard spherocylinders. *The Journal of Chemical Physics* **106**, 666-687 (1997).
8. E. Grelet, Hexagonal Order in Crystalline and Columnar Phases of Hard Rods. *Physical Review Letters* **100**, 168301 (2008).

Les spectres ont été obtenus sur la ligne SWING du synchrotron Soleil à une distance de 1,50 m.

1. Séchage à partir d'une solution organique

Nous avons commencé l'étude de séchages de lots de QRs organiques. Les QRs possèdent les tailles suivantes : 12,8, 18, 24 et 40 nm de longueur et environ 3 nm de rayons (mesure TEM et SAXS). Les spectres de diffraction (figure.IV.4.) ci-dessous, résultent de la somme de tous les spectres enregistrés dans un capillaire.

Les quatre spectres de diffraction présentent des pics de Bragg bien définis comme le montre la figure IV.3. Dans les quatre cas, les phases cristallines peuvent être indexées selon une phase smectique B (tableau.IV.1). Cette phase est composée de QRs organisées en lamelle dans le sens de leur longueur et chaque lamelle comporte des QRs organisé selon une phase hexagonale compacte latéralement.

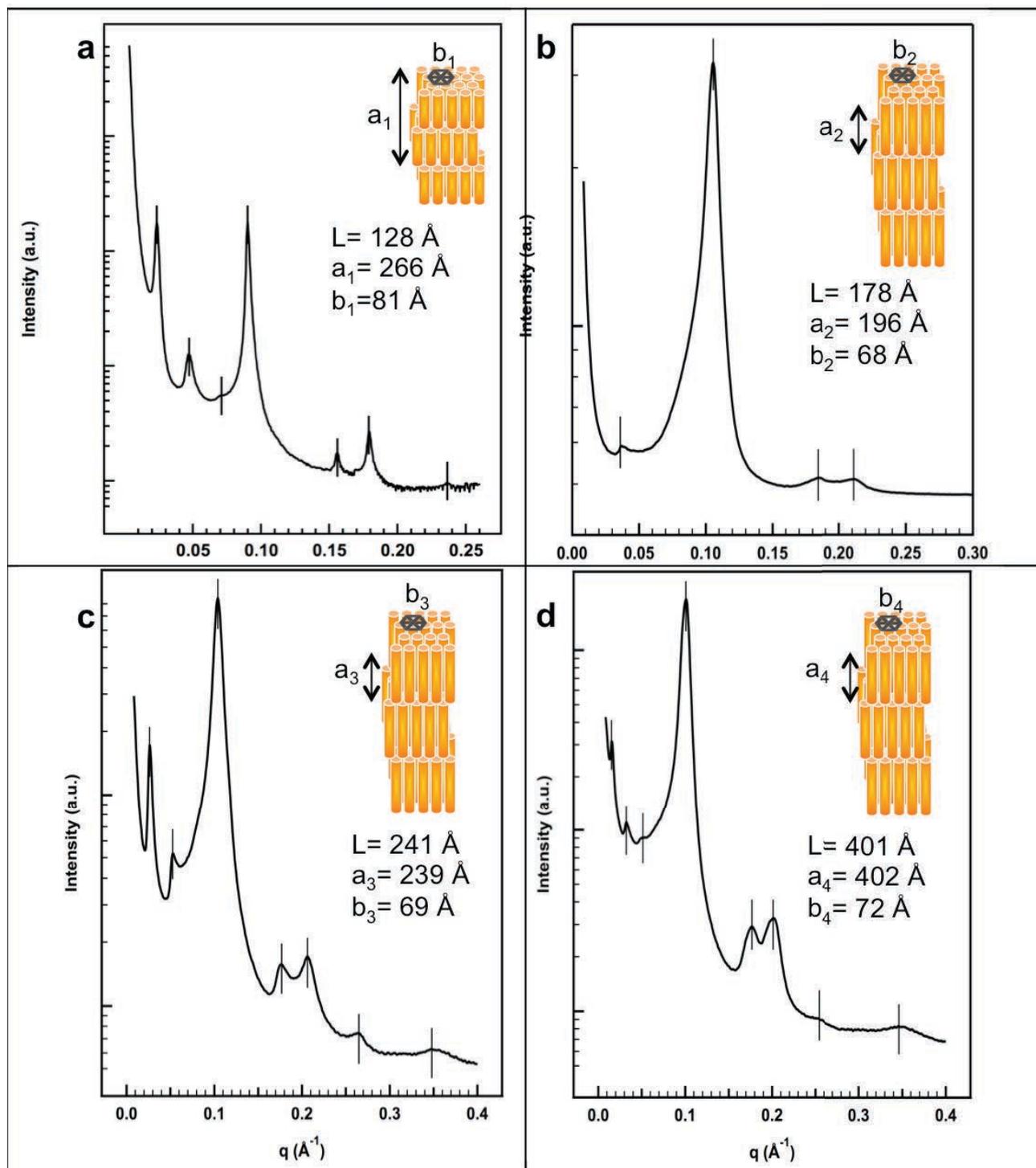


Figure.IV.4. Spectre de diffraction des rayons X des QRs hydrophobes après séchage lent (a) QRs 12,8 nm, (b) QRs 18 nm, (c) QRs 24 nm et (d) QRs 40 nm. Chaque spectres possèdent le dessin de la phase cristalline obtenue est des paramètres a et b mesurés.

<p style="text-align: center;">a 266 Å</p> <hr/> <p style="text-align: center;">d 70 Å</p>				<p style="text-align: center;">a 196 Å</p> <hr/> <p style="text-align: center;">d 59 Å</p>					
a	(h, k, l)	q_{th}	q_{exp}	$(q_{th}-q_{exp})^2$	b	(h, k, l)	q_{th}	q_{exp}	$(q_{th}-q_{exp})^2$
	(0, 0, 1)	0.0236	0.0234	3.775E-08		(0, 0, 1)	0.0320	0.0320	4.894E-22
	(0, 0, 2)	0.0471	0.0471	2.358E-09		(1, 0, 0)	0.1059	0.10568	6.157E-08
	(0, 0, 3)	0.0707	0.0708	9.439E-09		(1, 1, 0)	0.1835	0.18427	6.354E-07
	(1, 0, 0)	0.0895	0.0898	8.901E-08		(2, 0, 0)	0.2119	0.21129	3.206E-07
	(1, 1, 0)	0.1551	0.1559	7.122E-07					
	(2, 0, 0)	0.1790	0.1789	1.521E-08					
	(2, 1, 0)	0.2369	0.2363	3.272E-07					
<p style="text-align: center;">a 239 Å</p> <hr/> <p style="text-align: center;">d 60 Å</p>				<p style="text-align: center;">a 402 Å</p> <hr/> <p style="text-align: center;">d 62 Å</p>					
c	(h, k, l)	q_{th}	q_{exp}	$(q_{th}-q_{exp})^2$	d	(h, k, l)	q_{th}	q_{exp}	$(q_{th}-q_{exp})^2$
	(0, 0, 1)	0.0262	0.0262	6.400E-13		(0, 0, 1)	0.0156	0.0152	1.616E-07
	(0, 0, 2)	0.0524	0.0524	1.600E-13		(0, 0, 2)	0.0312	0.0321	7.848E-07
	(1, 0, 0)	0.1039	0.1040	1.841E-08		(0, 0, 3)	0.0469	0.0542	5.408E-05
	(1, 1, 0)	0.1799	0.1767	1.037E-05		(1, 0, 0)	0.1007	0.1006	6.736E-09
	(2, 0, 0)	0.2077	0.2062	2.216E-06		(1, 1, 0)	0.1744	0.1767	5.091E-06
	(2, 2, 0)	0.3598	0.2628	9.405E-03		(2, 0, 0)	0.2014	0.2012	5.024E-08
	(3, 1, 0)	0.3745	0.3479	7.029E-04		(2, 1, 0)	0.2664	0.2543	1.456E-04
						(3, 2, 0)	0.4389	0.3463	8.585E-03

Tableau.IV.1. Tableaux présentant l'indexation complète des spectres de diffusion des rayons X de la figure.IV.3, a) QRs 12,8 nm, (b) QRs 18 nm, (c) QRs 24 nm et (d) QRs 40 nm, présentant une indexation de type smectique B (les indexations grisées correspondent à la phase hexagonale) selon les paramètres a (lamellaire) et d (hexagonal).

En calculant les paramètres de chaque phase, nous observons que le paramètre lamellaire augmente en fonction de la taille croissante des QRs comme attendu. Les paramètres a_n (paramètre lamellaire) et b_n (paramètre hexagonal) des phases smectique B en fonction du lot de QRs sont donnés dans le tableau.IV.2. Le paramètre b est calculé de la façon suivante : $b = \frac{2\pi}{\frac{d}{\sqrt{3}}}$

QR		paramètre (Å)		Δ	
L (Å)	D (Å)	a (Å)	b (Å)	ΔL (Å)	ΔD (Å)
128	64	269	81	141	17
178	52	196	68	18	10
241	58	239	69	2	11
401	60	402	72	11	12

Tableau.IV.2. Tableau des interdistances obtenues après analyse des spectres SAXS. ΔL représente la différence entre la longueur et le paramètre a et ΔD la différence entre le diamètre et le paramètre b est donc correspond à l'espace latéral entre QR.

Dans le cas du paramètre lamellaire, nous observons pour les QRs 18, 24 et 40 nm, une augmentation du paramètre lamellaire en fonction de la longueur des QRs. Il faut également noter que la taille du paramètre est très proche de la longueur d'un QR. L'augmentation du paramètre lamellaire en fonction de la longueur des QRs est une très faible interdistance lamellaire, confirme un forte monodispersité des bâtonnets ainsi que la formation de cristaux 3D de QRs.

Lorsque l'on étudie les différences de longueur et de diamètre avec les paramètres trouvés, nous observons un ΔD qui est proche pour tous les QRs et qui est égal à 12 Å. On calcule la taille des ligands de surface, l'ODPA avec une chaîne alkyl en C_{18} en considérant que la liaison carbone-carbone mesure 0,154 Å, une liaison C-P 0,187 Å et une liaison P-O 0,150 Å, nous trouvons environ une longueur de $L_1 = 31$ Å. Nous pouvons donc en déduire que les chaînes alkyles des ligands ne sont pas interdigitées entre deux QRs, ni cristallisées à la surface des particules. La solution que nous proposons grâce à ces mesures est la présence des chaînes alkyles à la surface des QRs dans un modèle de chaînes fondues. La différence entre la longueur du QR et le paramètre a , ne permet pas de mesurer la tailles prise par les ligands à la surface des QRs, à cause d'une interdigitation des QRs eux-mêmes.

Dans le cas des QRs de 12.8 nm, le paramètre lamellaire ne correspond pas à la longueur d'un QR. En effet nous obtenons un paramètre a_1 de 268.9 Å. Nous pouvons interpréter que cette interdistance équivaut à environ deux fois la longueur d'un QR. Cette interprétation n'est pas impossible. Les QRs 12.8 nm possèdent sans doute un germe de CdSe (en vert) qui n'est pas entièrement recouvert par la coquille de CdS (en orange), ce qui donne une perte de symétrie dans l'espace à la nanoparticule et donc une particule polarisée. Vu le principe des SAXS, il est alors possible de comprendre comment le paramètre a_1 est obtenu. Nous avons alors des particules qui se retrouvent têtes à têtes et l'interdistance alors détecté est celle qui comprend deux particules têtes à têtes (figure.IV.5.).

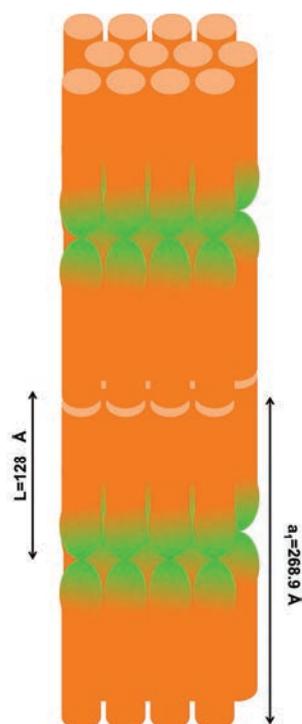


Figure.IV.5. Aperçu de la phase smectique B obtenue à partir des QRs 12.8 nm qui correspond à l'indertistance mesuré par SAXS.

L'unité élémentaire de la phase lamellaire est alors une bicouche de QR de 268,9 Å d'épaisseur.

2. Séchage à partir du solution aqueuse

Dans cette partie, nous avons utilisé les mêmes lots de QRs que pour l'étude en solvant organique, mais après échange de ligands. Le ligands utilisé est TCCPAC portant une chaîne alkyle (figure.IV.6). Le procédé de séchage est le même et les échantillons sont scannés sur 2 cm en hauteur.

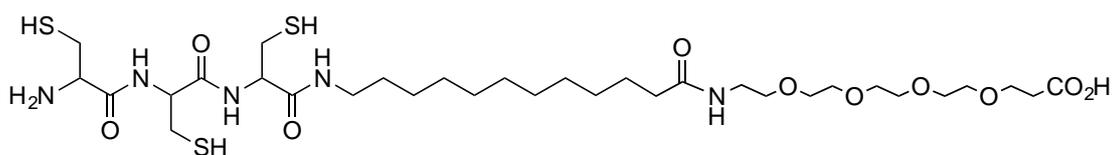


Figure.IV.6. Schéma du peptide TCCPAC

Ce peptide présente une fonction acide carboxylique qui, à pH 7, peut présenter une charge négative. Une taille d'environ 5,5 nm peut être calculée pour cette molécule en suivant la même méthode que précédemment lorsqu'elle est étirée. Nous nous trouvons en présence d'un ligand plus long que les ligands type acide phosphonique et de plus la charge présente en suspension pourra sans doute jouer un rôle dans l'assemblage.

Les spectres des quatre longueurs de QRs sont présentés dans la figure IV.7. Les spectres obtenus après intégration radiale, ne sont plus similaires comme nous l'avons vu pour les QRs hydrophobes.

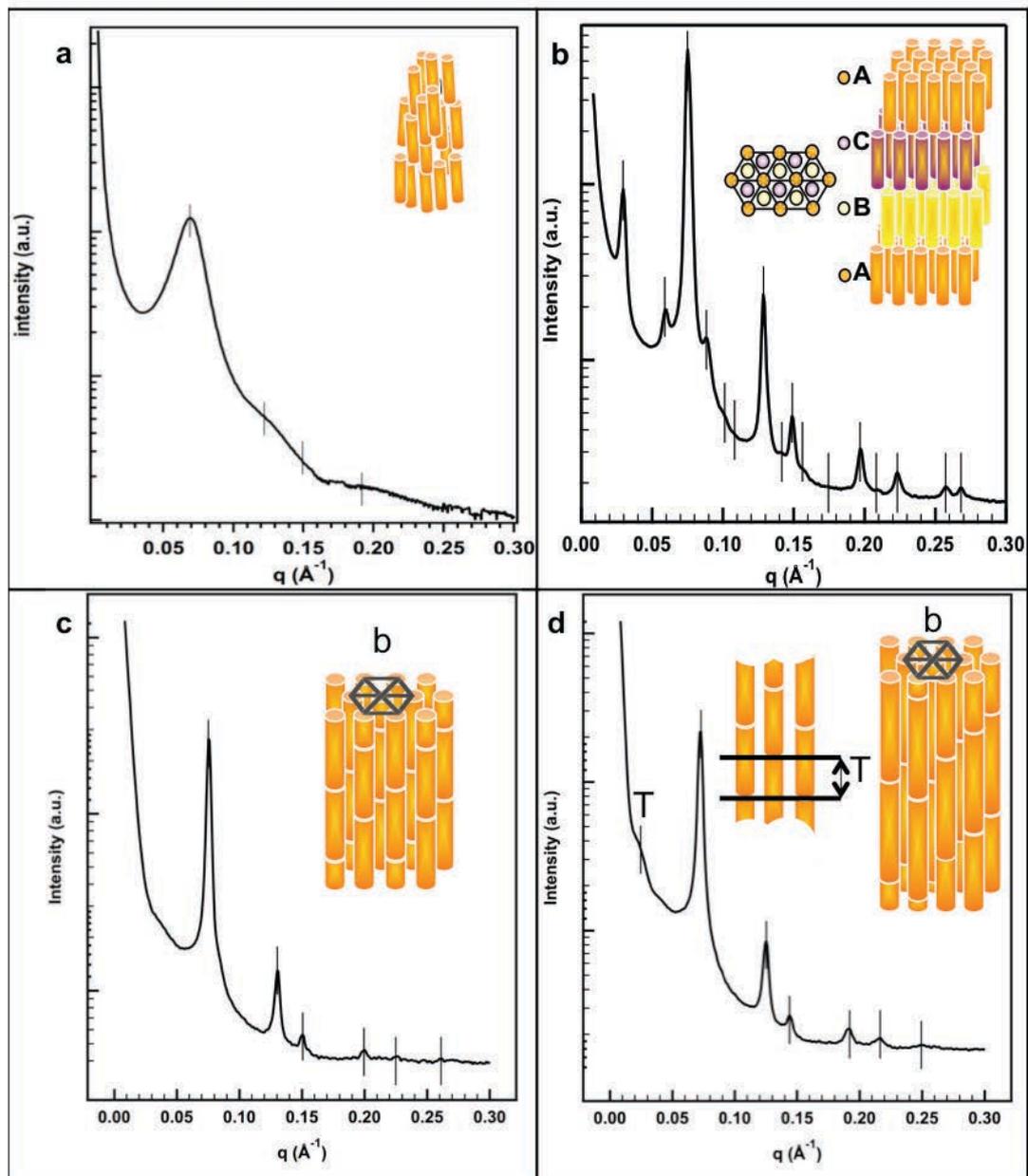


Figure IV.7. Spectre de diffraction des rayons X des QRs hydrophiles après séchage lent (a) QRs 12,8 nm, (b) QRs 18 nm, (c) QRs 24 nm et (d) QRs 40 nm. Chaque spectre montre un schéma de la phase cristalline obtenue.

Du fait de la différence entre les spectres a, b et c et d, nous allons indexer les pics de trois façons différentes (tableau IV.3).

d 90,4 Å					a 638 Å d 83.4 Å					
a	(h, k)	q_{th}	q_{exp}	$(q_{th}-q_{exp})^2$	b	(h, k, l)	h^2+k^2+hk	q_{th}	q_{oexp}	Intensity ¹
	(1, 0)	0.0694	0.0695	5.080E-10		(0, 0, 3)	0	0.0295	0.0295	S
	(1, 1)	0.1203	0.1214	1.228E-06		(0, 0, 6)	0	0.059	0.0594	S
	(2, 0)	0.1389	0.1372	2.673E-06		(0, 0, 9)	0	0.0884	0.0889	S
						(1, 0, 1)	1	0.0750	0.0753	VS
				(1, 0, 7)	1	0.1013	0.1000	w		
				(1, 0, 8)	1	0.1082	0.1080	vw		
				(1, 1, 0)	3	0.1287	0.1287	VS		
				(1, 1, 6)	3	0.1416	0.1411	w		
				(1, 1, 9)	3	0.1562	0.157	w		
				(1, 1, 12)	3	0.1746	0.175	vw		
				(2, 0, 1)	4	0.1490	0.1490	S		
				(2, 1, 1)	7	0.1969	0.1972	S		
				(2, 1, 7)	7	0.2083	0.2090	w		
				(3, 0, 1)	9	0.2229	0.2232	S		
				(2,2,0)	12	0.2574	0.2572	S		
				(3,1,1)	13	0.2681	0.2683	S		
					1 VS very strong, S strong, w weak, vw very weak					
d 83,5 Å					d 86,4 Å					
c	(h, k)	q_{th}	q_{exp}	$(q_{th}-q_{exp})^2$	d	(h, k)	q_{th}	q_{exp}	$(q_{th}-q_{exp})^2$	
	(1, 0)	0.0742	0.0752	1.174E-06		(1, 0)	0.0711	0.0727	2.598E-06	
	(1, 1)	0.1285	0.1302	2.999E-06		(1, 1)	0.1232	0.1251	3.877E-06	
	(2, 0)	0.1483	0.1505	4.576E-06		(2, 0)	0.1422	0.1437	2.272E-06	
	(2, 1)	0.1962	0.1995	1.054E-05		(2, 1)	0.1881	0.1919	1.409E-05	
	(3, 0)	0.2225	0.2248	5.306E-06		(3, 0)	0.2133	0.2164	9.340E-06	
	(3, 1)	0.2674	0.2611	3.991E-05		(3, 1)	0.2564	0.2493	5.012E-05	

Tableau.IV.3. Tableaux présentant l'indexation complète des spectres de diffusion des rayons X de la figure.IV.6, a) QRs 12,8 nm, (b) QRs 18 nm, (c) QRs 24 nm et (d) QRs 40 nm selon interdistances a (lamellaire) et d (hexagonal).

Les indexations des spectres nous montrent effectivement la présence de trois phases cristallines.

a) Structure nématique

Le premier résultat concerne les QRs 12.8 nm, où nous obtenons après indexation (tableau.IV.3.a) une phase nématique avec un paramètre moyen de 104,4 Å dû à un ordre local de type hexagonal (figure.IV.7.a.) qui est visible par la largeur des pics. Cette phase nématique est de plus confirmée par l'absence de pics correspondant à une phase lamellaire.

b) Structure smectique B (ABC)

Lorsque l'on étudie le spectre de diffraction des QRs 18 nm, nous observons un nombre important de pics fins. L'intégration radiale du cliché est présentée en figure IV.7.b. L'indexation de ces pics (tableau.IV.3.b) révèle une structure smectique B possédant un arrangement hexagonal. Les paramètres de maille sont $b = 97,6 \text{ \AA}$ et $a = 638 \text{ \AA}$. L'interdistance latérale entre QRs est appelée b , et la distance de répétition lamellaire est $a/3 = 212,6 \text{ \AA}$. Il faut également noter que les pics $(1, 1, 3n)$ indiquent que les couches de QRs sont positionnées de façon corrélée à l'axe c , ce qui indique qu'il n'y a pas de désordre dans le plan entre les couches de QRs. De plus, l'extinction systématique des pics $(h, k, 0)$ avec $h-k \neq 3n$ est associée avec un axe de symétrie de 3. Ce qui correspond à un arrangement de type ABC comme il est observable dans des cristaux smectiques B de molécules mésogènes⁹. De plus, l'élargissement des pics de faible intensité, est en accord avec de légers défauts dans le réseau ABCABC (figure.IV.7.b) qui se transforme en réseau de type ACBACB. En effet, la différence en énergie des deux réseaux est quasi-nulle et donc seulement l'interaction entre plus proches voisins va différencier l'arrangement ABC de l'arrangement ACBACB. Il est donc possible pour une phase compacte comme ici de contenir des défauts. Le défaut va alors apparaître à cause de la substitution de la couche B par la couche C.¹⁰

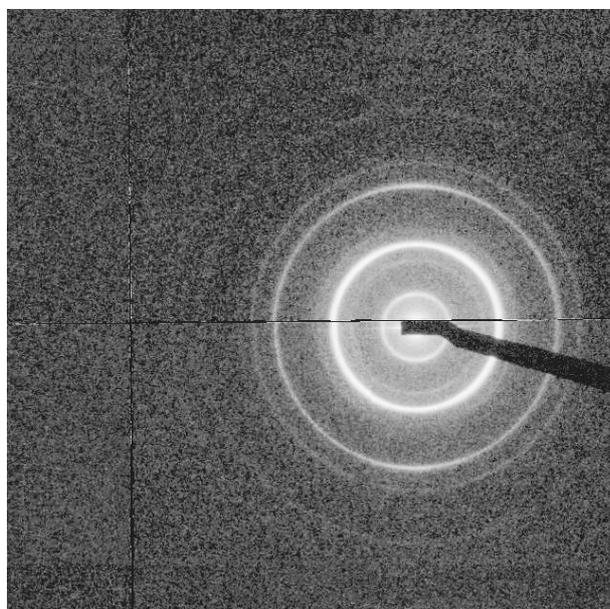


Figure.IV.8. Image d'un cliché SAXS de la phase smectique B formée par séchage des QRs 18 nm hydrophiles

c) Structure hexagonale colonnaire

En augmentant la longueur de nos QRs seulement d'environ 6 nm, nous obtenons également des pics fins et discrets (figure.IV.7.c), qui sont indexés (tableau.IV.3.c) en un cristal de type

9. A. J. Leadbetter, J. C. Frost, M. A. Mazid, Interlayer correlations in smectic B phases. *J. Physique Lett.* **40**, 325-329 (1979).

10. A. Guinier, *X-Ray Diffraction in Crystals, Imperfect Crystals, and Amorphous Bodies.* (1994).

hexagonal. L'absence de pics lamellaires permet de confirmer une structure en colonne. Le paramètre de maille est $b = 96,4 \text{ \AA}$.

Finalement pour les QRs plus grand (QRs 40 nm), l'intégration radiale montre également des pics fins et discrets accompagnés d'un nouveau pic se trouvant et des valeurs plus petites de q (figure.IV.7.d). Ces pics peuvent être indexés selon une phase hexagonale colonnaire (h, k) (tableau.IV.3.d). Le pic noté T nous donne une information sur la structure colonnaire, où les QRs sont décalé de $\frac{1}{2}$ QR entre chaque colonne. Ce décalage a déjà été observé dans un séchage de nanobâtonnets d'or.¹¹ Le paramètre de maille est $b = 99,8 \text{ \AA}$.

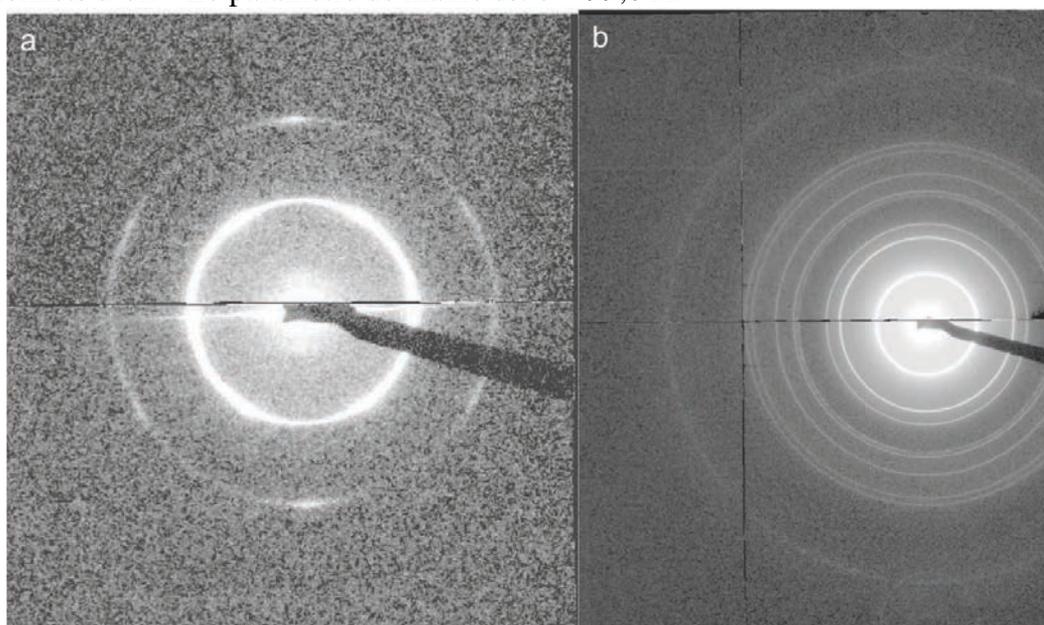


Figure.IV.9. Images SAXS de la phase hexagonale colonnaire a) en haut du capillaire et b) en bas du capillaire pour les QRs 40 nm hydrophiles.

En étudiant les interdistances entre QRs dans les 3 phases, après indexation et calcul des paramètres des structures cristallines obtenues, nous observons alors une augmentation du ΔL et du ΔD par rapport aux phases cristallines obtenues avec des QRs hydrophobes.

QR		paramètre (Å)		Δ	
L (Å)	D (Å)	a (Å)	b (Å)	ΔL (Å)	ΔD (Å)
128	64	-	~104	-	40
178	52	213	97	35	45
241	58	-	96	-	38
401	60	-	100	-	40

Tableau.IV.4. Tableau des interdistances obtenues après analyse des spectres SAXS. ΔL représente la différence entre la longueur et le paramètre a et ΔD représente la différence entre le diamètre du QR et le paramètre b ce qui correspond donc à l'espace latéral entre QRs .

Cette augmentation des paramètres correspond à une augmentation de l'interdistances entre bâtonnets dans la phase hexagonale de 23 \AA pour les QRs de $12,8 \text{ nm}$, de 35 \AA pour les QRs

11. C. Hamon, M. Postic, E. Mazari, T. Bizien, C. Dupuis, P. Even-Hernandez, A. Jimenez, L. Courbin, C. Gosse, F. Artzner, V. r. Marchi-Artzner, Three-Dimensional Self-Assembling of Gold Nanorods with Controlled Macroscopic Shape and Local Smectic B Order. *ACS Nano* 6, 4137-4146 (2012).

de 18 nm, de 29 Å pour les QRs de 24 nm et de 28 Å pour les QRs de 40 nm. Cette augmentation de l'interdistance latérale entre QRs montre que le ligand de surface joue un rôle dans la cristallisation.

De plus dans le cas des QRs de 18 nm, l'interdistance latérale de 45 Å correspond environ à plus de la moitié de la taille du peptide TCCPAC. Nous pouvons penser que les peptides présents à la surface des QRs 18 nm hydrophiles doivent être organisés. Il est possible que les chaînes aliphatiques soient cristallisées tandis que la partie PEG est positionnée de façon aléatoire. Pour la partie lamellaire, l'interdistance de 35 Å, suggère que les ligands se trouvant aux extrémités des QRs ne sont pas organisés de la même façon que sur les faces longitudinales planes des QRs. En effet, la présence de faces non planes induit un arrangement différent des cystéines à la surface des QRs et donc un taux de couverture plus faible.

Pour les autres tailles de QRs, l'interdistance latérale dans la phase hexagonale entre bâtonnets est de environ 35 Å. Cette distance entre bâtonnets nous laisse penser que les ligands ne sont pas organisés entre eux à la surface des QRs du fait de cette plus faible interdistance.

C. Discussion

Le Tableau.IV.5 représente les phases cristallines formées par les QRs à partir du séchage d'une suspension en solvant organique ou aqueux.

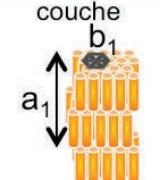
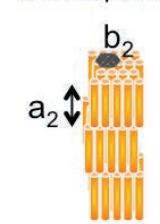
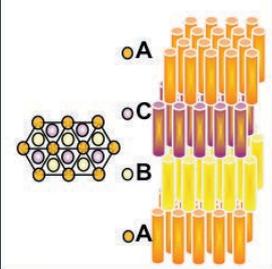
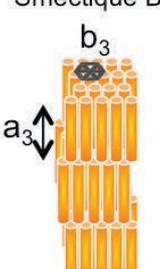
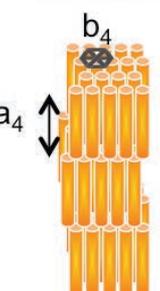
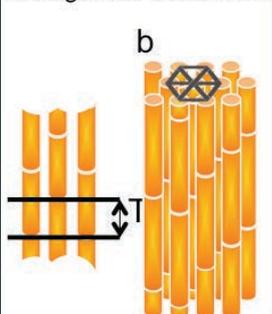
	Cristaux obtenus par séchage d'une solution organique		Cristaux obtenus par séchage d'une solution aqueuse	
	phases cristallines	paramètres (Å)	phases cristallines	paramètres (Å)
QRs 128 Å	Smectique B double couche 	$a_1 = 269$ $b_1 = 76$	Nématique 	95.8
QRs 178 Å	Smectique B 	$a_2 = 169$ $b_2 = 64$	Smectique B ABC 	$a = 212.6$ $b = 97.6$
QRs 241 Å	Smectique B 	$a_3 = 239$ $b_3 = 70$	Hexagonale Colonnaire 	$b = 94.2$
QRs 401 Å	Smectique B 	$a_4 = 412$ $b_4 = 72$	Hexagonale Colonnaire 	$b = 97.5$

Tableau.IV.5. Récapitulatif des phases cristallines obtenues en fonction de la longueur des QRs et du solvant de séchage.

Dans le cas des QRs hydrophobes (séchage à partir d'un solvant organique), une seule phase cristalline est observée. Cette phase est une phase de type smectique B. Lorsque que l'on se réfère à la théorie, modèle de Frenkel (cf. Introduction partie I.C. p5), nous formons la phase cristalline la plus condensée pour ce type de colloïdes. Nous suivons donc le modèle de cristallisation de type sphère dure. Cela nous permet de dire que lors de la formation des cristaux, il n'y a que des interactions répulsives de type stérique entre les QRs.

Les QRs hydrophiles (séchage à partir d'une solution aqueuse), présentent une séquence cristalline plus riche et cela en fonction de la taille des QRs. La séquence est la suivante : Nématique, smectique B et hexagonale colonnaire. Nous pouvons en déduire en comparant aux résultats des QRs hydrophobes, que cette fois-ci, il y a une interaction répulsive entre les QRs lors de la formation des phases cristallines en solution.

Donc, dans le cas des QRs hydrophobes, nous avons une évolution monotone de la structure cristalline qui se fait en fonction du rapport d'aspect des bâtonnets, ce qui indique une forte monodispersité en taille des bâtonnets. Dans le cas des QRs hydrophiles, l'évolution des phases cristallines est plus riche en fonction du rapport d'aspect.

Il faut noter la variation importante des paramètres cristallins entre les deux types de séchage. Nous observons pour toutes les phases obtenues par évaporation de l'eau une augmentation de tous les paramètres. Nous pouvons donc dire que l'échange de ligand permet une fois la phase cristalline séchée de faire varier les paramètres de celle-ci. Le cas des QRs 18 nm est le plus marquant. Les paramètres augmentent dans ce cas de 30 Å et 40 Å pour le paramètre hexagonal et lamellaire respectivement.

II. Séchage d'une suspension de QRs avec une surface micro-structurée.

Nous venons de montrer la possibilité de former des phases cristallines 3D de QRs hydrophiles en capillaire. Nous savons également organiser des films de surfactants entre un substrat et un moule micro-structuré (fait de PDMS).¹ Il a été également montré qu'il est possible d'assembler des nanobâtonnets d'or en cristaux par cette technique.¹¹ Dans notre cas, l'assemblage est intéressant, du fait de la haute qualité de la cristallisation des QRs 18 nm. Nous allons donc réaliser un séchage de QRs mélangés à des surfactant et étudier la mise en forme macroscopique et la cristallisation des nanoparticules. Les QRs utilisés ont pour toutes les études réalisées la même concentration : 3 µM.

La première partie consistera à la mise au point du séchage en choisissant des surfactants qui permettent la formation de structure en fonction de leurs propriétés chimiques et de leur concentration.

La deuxième partie va se porter sur l'étude au niveau nanométrique des murs précédemment formés.

A. Etude du séchage à l'échelle macroscopique.

Le séchage ne se fait plus en capillaire où le contact eau/air se fait sur une toute petite surface de contact, mais sur une surface beaucoup plus grande. En effet, le séchage se fait entre le substrat et une surface micro-structurée, ce qui va permettre d'obtenir de multiples contacts air/suspension de QRs.

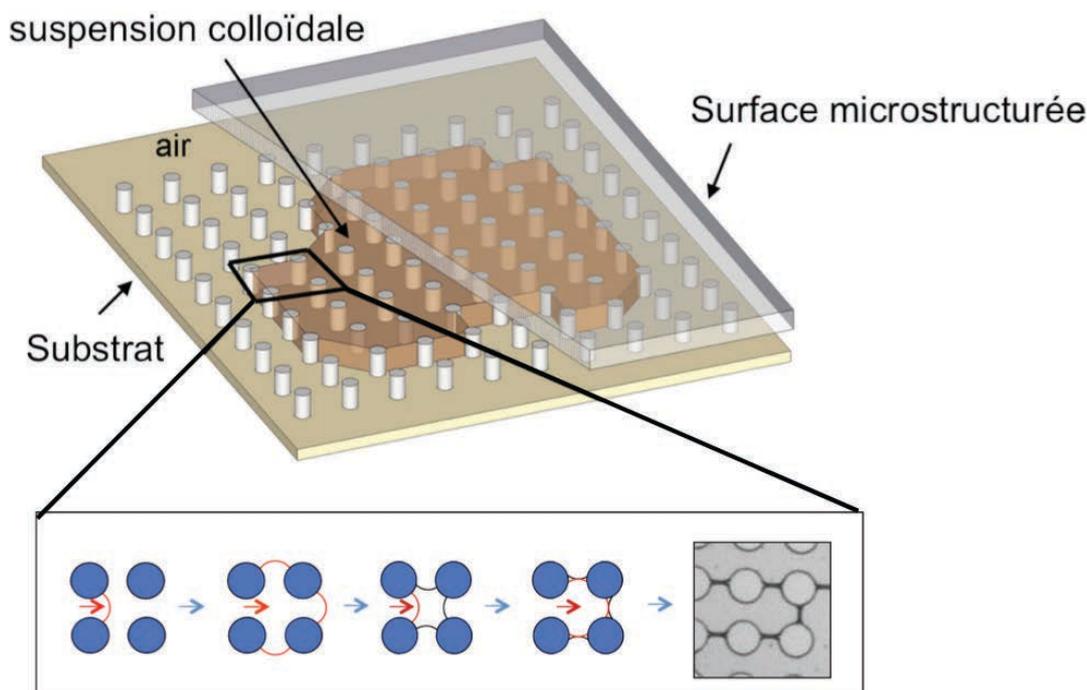


Figure.IV.10. Schéma de la surface de PDMS appliquée sur un substrat lors de la présence d'une goutte de la suspension colloïdale. L'encadré présente la formation de murs : le ménisque rouge avance jusqu'à la rencontre des ménisques noirs en condensant les particules et forme alors des murs.

La surface de PDMS se présente de la façon suivante : des plots de PDMS de 100 μm de diamètre et de 35 μm de hauteur sont régulièrement espacés de 175 μm d'interdistance centre à centre sur une surface de environ 1 cm^2 . Une goutte de suspension colloïdale est mélangée à un surfactant est déposée sur un substrat (verre, ITO, Silicium). Le moule de PDMS est alors déposé sur la goutte. Lors du séchage, les ménisques formés à l'aide du surfactant vont avancer de plots en plots jusqu'à rencontrer un autre ménisque (figure.IV.10). Cette rencontre va permettre de les QRs condenser entre deux ménisques et de former un mur de 75 μm de long.

Nous allons étudier ici les résultats de séchage, après variation de différents paramètres, à l'échelle macroscopique. Cette étude se fera par microscopie optique de fluorescence.

1. Suivi de la formation de structures macroscopiques

Les QRs de 18 nm en suspension dans l'eau sont choisis pour réaliser le suivi de la formation de murs entre des plots de PDMS. Ces QRs portent à leur surface le ligand peptidique TCCPAC, qui permet de charger négativement la surface de la particule.

Afin de former des structures à plus grande échelle grâce à l'action des ménisques, le surfactant doit être choisi en tenant compte de sa structure et de sa CMC.

a) Choix du surfactant

La première étape de l'étude du séchage est le choix d'un surfactant permettant la formation d'une structure macroscopique entre le substrat et le PDMS. Trois surfactants ont été utilisés au laboratoire dans des études antérieures : le tween 20, le SDS et le CTAB (figure.IV.11).

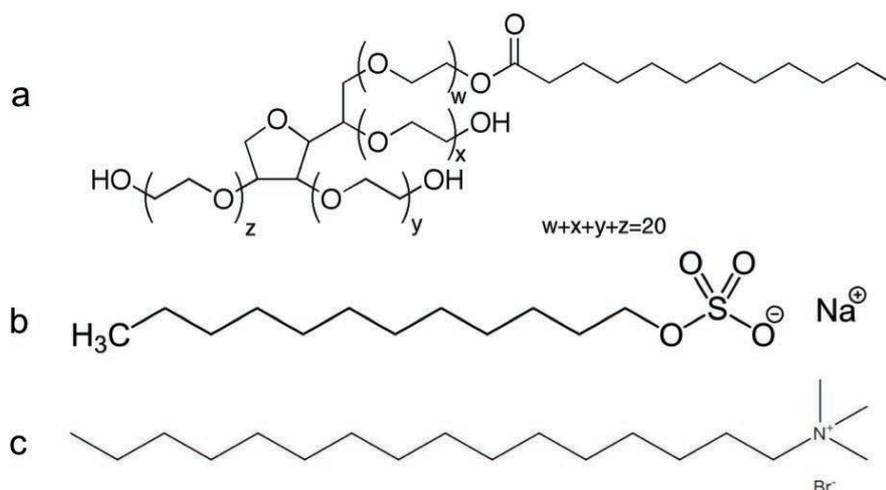


Figure.IV.11. Structures chimiques développées des 3 surfactants utilisés dans cette étude :a) Tween 20, b) SDS et c) CTAB .

En comparant les structures des trois surfactants, on remarque que le CTAB est chargé positivement, le SDS est anionique et le Tween 20 est neutre mais possède des chaînes de type PEG. Les trois surfactants présentent alors au moins trois types d'interactions possibles avec les QRs dans l'eau.

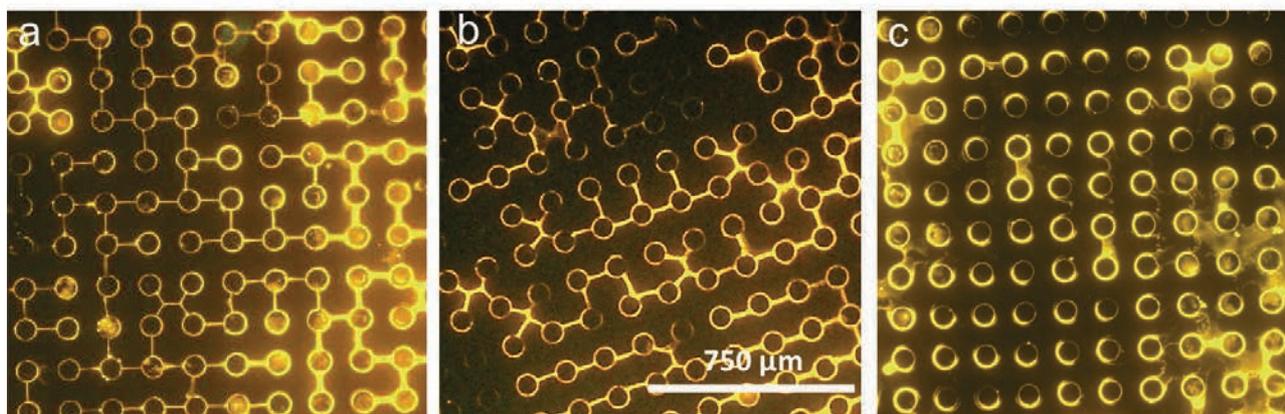


Figure.IV.12. Photos en épi-fluorescence des QRs 18 nm après séchage avec différents surfactant à concentration largement supérieure à la CMC (a) Tween 20, (b) SDS et (c) CTAB. La barre d'échelle est la même pour toutes les photos.

Les séchages effectués à une concentration largement supérieure à la CMC de chaque surfactant permettent d'éliminer le CTAB qui comme le montre la figure.IV.12.c, ne forme pas de macrostructure. Le Tween 20 et le SDS quand à eux permettent la formation de mur entre les plots de la surface micro-structurée (Figure.IV.12.a et b).

Lors de la formation des structures en solution, les QRs alors chargés négativement par la fonction acide carboxylique du peptide TCCPAC, vont interagir par attraction électrostatique avec le CTAB est être déstabilisés résultant en la formation d'agrégats avant la fin du séchage. Selon le surfactants, l'absence d'interaction (tween 20) ou la présence d'interactions de type répulsion électrostatique (SDS) permettent la formation de macrostructures.

b) Effet de la concentration des surfactants.

La détermination de la concentration minimale de surfactant permettant la formation de mur est importante. Cela va permettre de minimiser l'effet du surfactant (formation de micelles) lors de la cristallisation des particules par séchage et donc espérer garder les caractéristiques des cristaux réalisés par séchage en capillaire tout en maîtrisant la forme des ménisques.

Il a été montré que la concentration minimale (thèse de Marie Postic), pour former des réseaux entre les plots avec seulement les surfactants, est environ 1,3 fois plus grande que la concentration micellaire critique (CMC) des différents surfactants. Dans le cas du Tween 20 (CMC = $8.04 \cdot 10^{-5}$ M ou 0.0987 g/L) nous avons étudié la formation de murs sans surfactant, à 0,5, 1 et 1,3 CMC (Figure.IV.13.a, b, c et d respectivement).

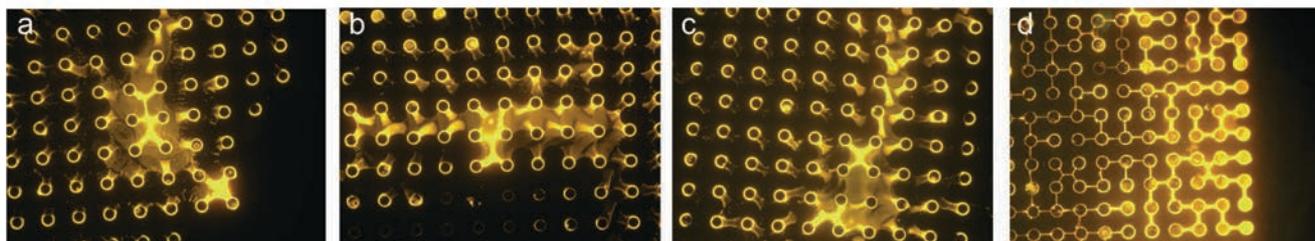


Figure.IV.13. Séchage des QRs 18 nm en présence d'une concentration croissante de Tween 20.

Il n'y a pas formation de réseau macroscopique (murs) de nanoparticules en dessous d'une concentration minimale de 1,3 CMC avec le Tween 20.

Dans le cas du SDS (CMC = $8,2 \cdot 10^{-3}$ M ou 2.34 g/L), étude effectuée pour les mêmes CMC, nous observons la formation de murs dès 0,5 CMC (figure.IV.14.b).

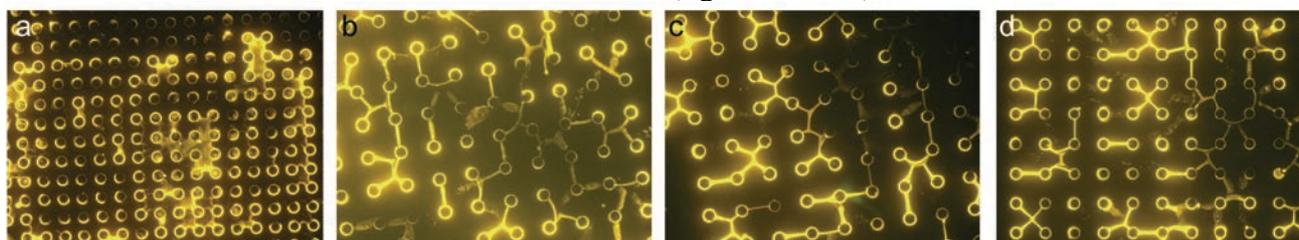


Figure.IV.14. Séchage des QRs 18 nm en présence d'une concentration croissante de SDS.

Le SDS permet donc la formation de mur en dessous de la CMC. Il faut tout de même noter que la concentration en SDS, à 0,5 CMC est largement supérieure à celle du Tween 20.

B. Structure interne des murs

Nous avons montré la possibilité de former des murs de QRs et nous savons également que les QRs s'organisent en cristaux 3D (cas des QRs de 18 nm dans l'eau) lorsque ceux-ci sont séchés par évaporation lente de l'eau en capillaire. Les cristaux obtenus par séchage lent et par condensation des QRs dans des murs, sont analysés par microscopie électronique à balayage et par HRTEM au Laboratoire de photonique et de nanostructures (LPN UPR20) en collaboration avec Ludovic Largeau, Christophe Dupuis, Charlie Gosse et Elsa Mazari .

1. Exploration des structures par SEM

Nous savons que les deux surfactants SDS et Tween 20 permettent la formation de murs. Lors de la première observation en SEM (figure.IV.15.a) nous observons des murs qui possèdent une hauteur non négligeable (de l'ordre de la dizaine de microns) (figure.IV.15.b et c)

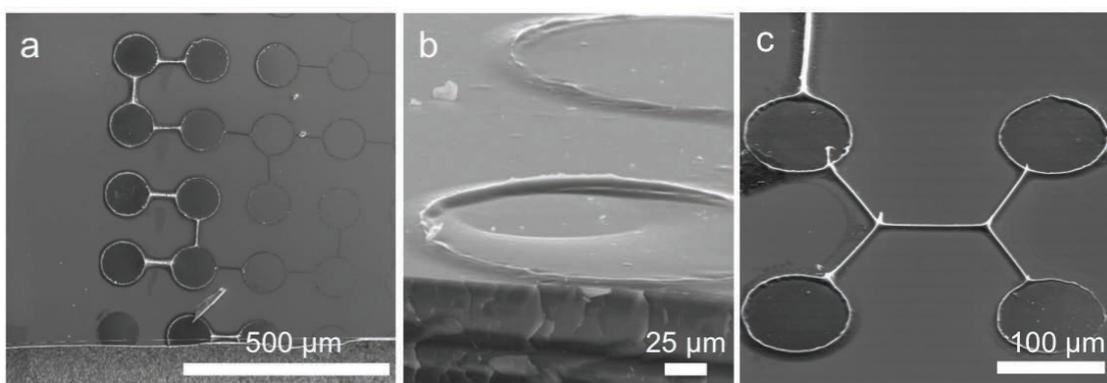


Figure.IV.15. Photos SEM de murs après séchage sous PDMS, vues de différentes positions.

A fort grossissement sur les murs, (figure.IV.16), nous devinons des formes de bâtonnets, mais ceux-ci semblent englués dans un substrat organique. Nous nous sommes confrontés à ce problème pour tous les échantillons préparés avec le SDS. La concentration utilisée (1,3 CMC) paraît donc trop élevée et gêne la visualisation de la structure des murs.

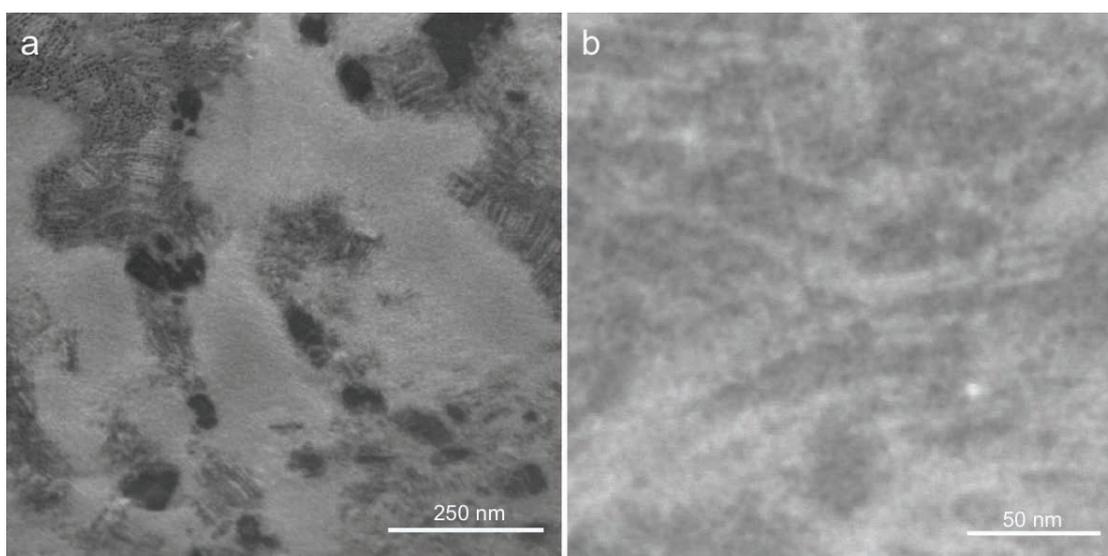


Figure.IV.16. Photo SEM de mur après séchage des QRs 18 nm en utilisant le SDS comme surfactant.

Dans le cas du Tween 20, comme nous le verrons dans le prochain point, ce substrat organique n'est pas présent. La concentration en SDS est 100 fois plus élevée que celle du Tween 20, ce qui explique un dépôt important de SDS sur les surfaces pendant le séchage tandis que le Tween 20 moins concentré n'est pas visible.

2. Etude des structures formées

Ne pouvant pas utiliser le SDS comme surfactant, l'étude de la formation de cristaux dans les murs va se faire en utilisant seulement le Tween 20.

Afin de savoir si le Tween 20 ne perturbe pas la formation de phases cristallines de type smectique B ABC, des études en SAXS avec et sans tween 20 ont été réalisées dans des capillaires de rayons X.

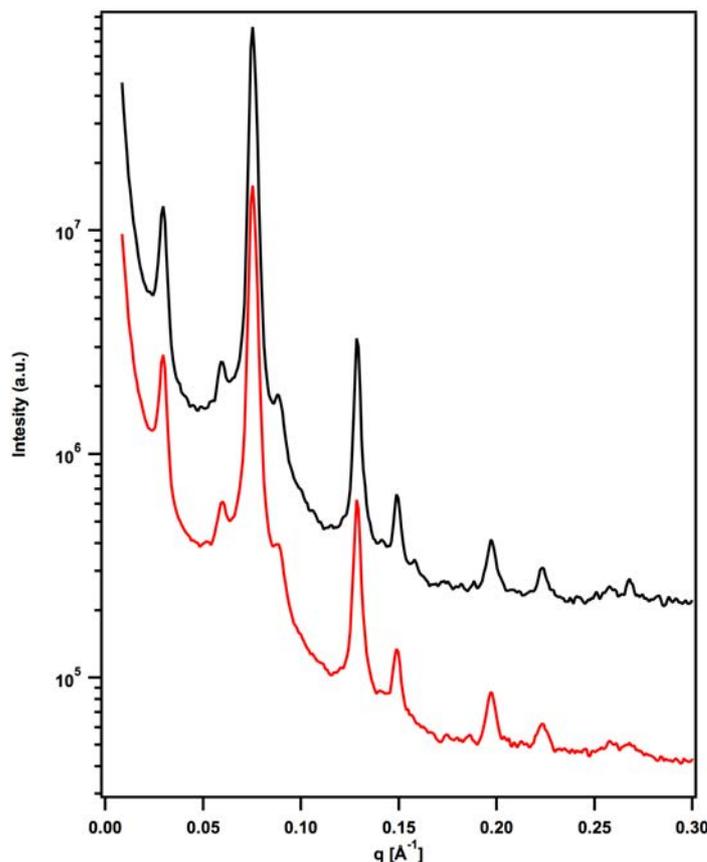


Figure.IV.17. Spectre SAXS de phases Smectique B obtenus par séchage sans tween 20 (courbe noire) et avec tween 20 (courbe rouge) à 1.3 CMC.

L'étude des spectres montre que les QRs forment des cristaux en présence de Tween 20 et que la phase cristalline obtenue ne varie pas (figure.IV.17). Ainsi le Tween 20 n'est pas soluble dans les structures formées pendant le séchage. Il y a alors démixtion entre les NPs et le Tween 20.

La phase Sm-B (ABC) des QRs de 18 nm n'est pas affectée par le surfactant. Nous pouvons alors étudier la structuration à l'échelle nanométrique des murs formés par les QRs de 18 nm. Afin de savoir si d'autres tailles de QRs permettent également la formation de structures dans les murs, nous avons étendu l'étude aux QRs de 24 nm de 40 nm et aux QRs de 62 nm.

a) Étude sur les QRs 18 nm

Une étude plus poussée permet de savoir si le mur est structuré, en grossissant sur les positions b, c et d comme le montre la figure IV.18.a. La position b montre des QRs observés selon leur axe principal (axe C_3) (figure.IV.18.b), ce qui correspond à une structuration de type hexagonale. Les images c et d montrent la structuration interne du mur.

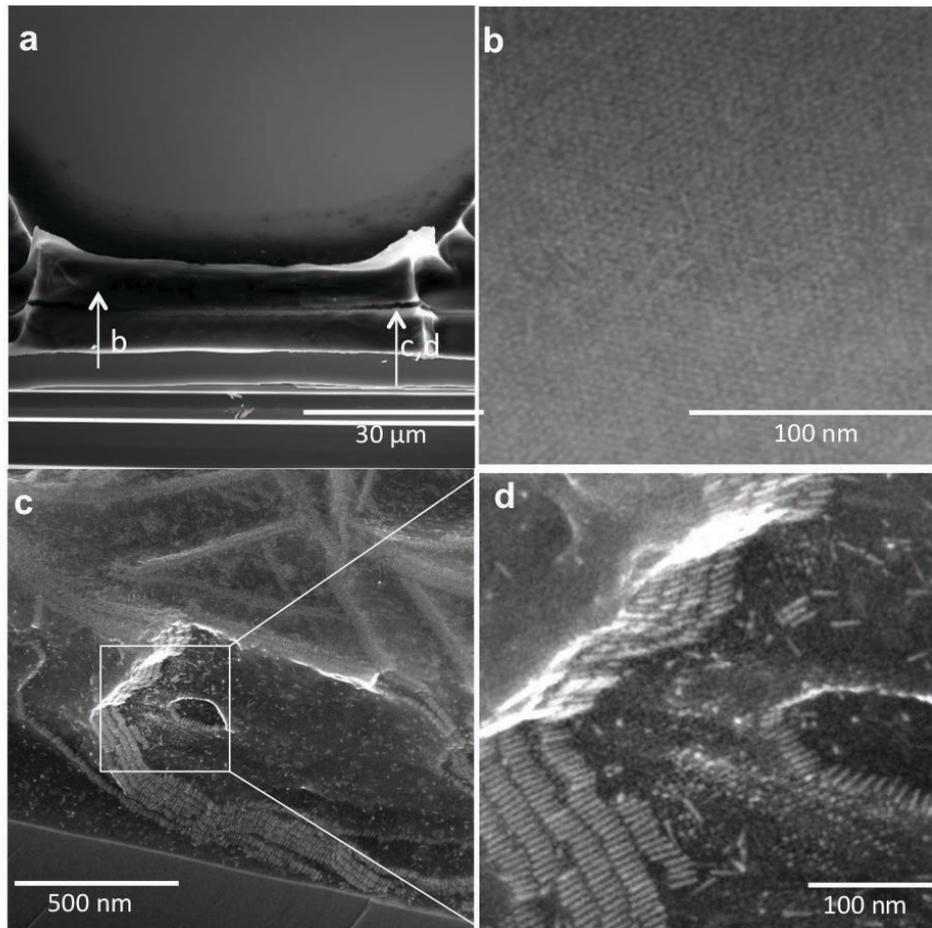


Figure.IV.18. Image MEB (a) d'un mur juste à côté de la zone de clivage du substrat, présentant également les zones des clichés b, c et d. (b)cliché de la zone b après zoom, (c) cliché de la zone c et (d) cliché après zoom de la partie encadré de la zone c.

Nous observons alors des QRs qui se présentent en lamelle mais également grâce au zoom effectué sur la photo c, qu'ils se révèlent être organisés selon une structure hexagonale (figure.IV.18.d).

Ayant une première vision de la structuration du mur à sa surface, nous avons par la technique FIB découpé le mur afin de caractériser la structure interne (collaboration David Troadec, IEMN).

Nous pouvons ainsi voir que le mur possède effectivement une structure interne. (Figure.IV.19.a). Il est possible par STEM à haute résolution d'effectuer des mesures de distances sur les structures internes du mur.

Ainsi, la transformée de Fourier de la figure IV.19.b, nous montre un structuration hexagonale avec un paramètre $b = 97,6 \text{ \AA}$ (figure.IV.19.c) qui est confirmé par les mesures effectuées sur la figure.IV.17.e par SAXS

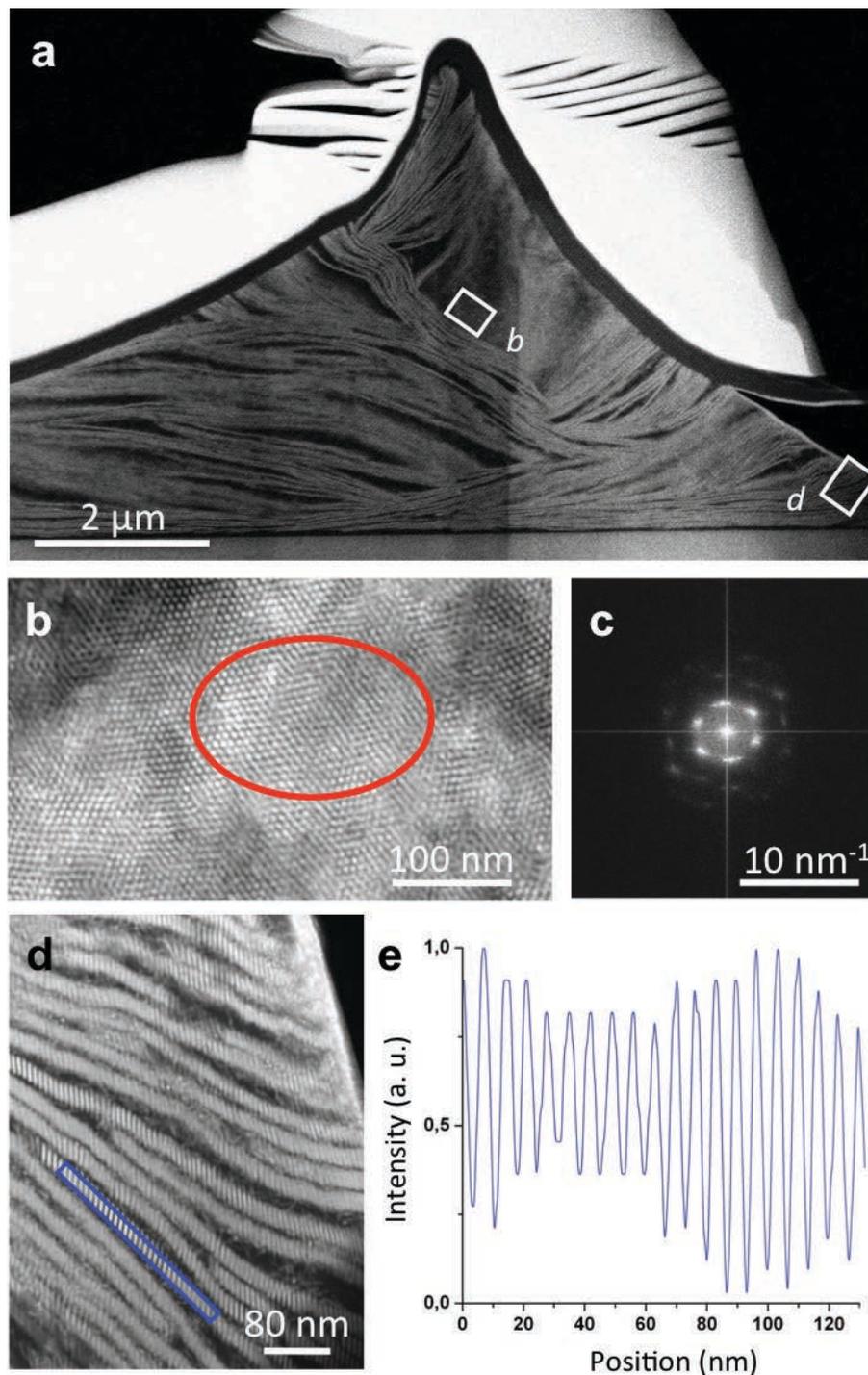


Figure.IV.19. (a) Image STEM-d'une section du mur après découpe FIB. (b) agrandissement de la zone b présentant une organisation hexagonal selon l'axe du faisceau d'électron.(c) transformé de Fourier de la zone entouré en rouge. (d) Zoom sur une zone où les QRs présentent des structure lamellaires parallèle au mur. (e) Profil d'intensité de la zone encadré en bleu.

L'interdistance lamellaire est difficile à mesurer, en effet il faudrait un échantillon totalement plan et perpendiculaire au faisceau d'électrons.

Lors de la prise d'image en MEB et STEM des QRs 18 nm hydrophiles, nous observons un décalage ou tilt des QRs dans la maille hexagonale dans chaque lamelle. De la même façon, ce décalage est également visible lorsque nous explorons un capillaire d'un bord à l'autre par SAXS.

La figure.IV.21, montre à gauche la symétrie C_6 de la phase hexagonale. Lorsque l'on regarde avec attention, on remarque que les pics (2,0) et (-2,0) sont de plus faible intensité que les pics (-1,1), (1,1),(-1,-1) et (1,-1).

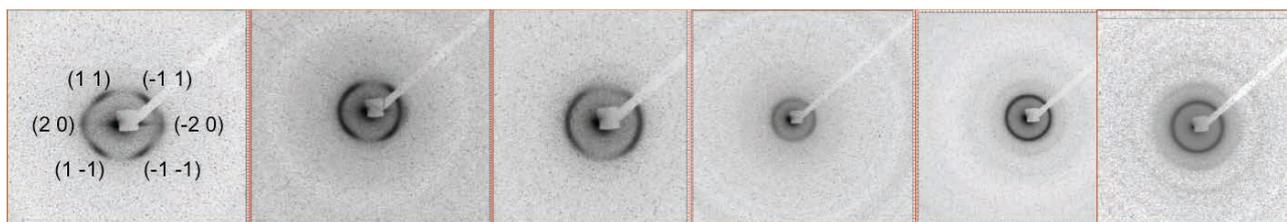


Figure.IV.20. Image SAXS d'un balayage horizontal de gauche à droite dans un capillaire de rayon X des QRs 18 nm hydrophiles , montrant un tilt de la phase hexagonale en fonction da la position dans le capillaire vers le deuxième plus proche voisin.

Cette symétrie C_6 disparaît lorsque l'on se déplace dans le capillaire à cause de la perte de l'orientation de la phase hexagonale. Ces images proviennent du haut du capillaire, position où le séchage est plus rapide et où il y a moins de matière (figure.IV.20). Ceci correspond à un tilt vers le plus proche voisin (figure.IV.21.a) ce qui explique la perte d'intensité des pics (2,0) et (0,2).¹²

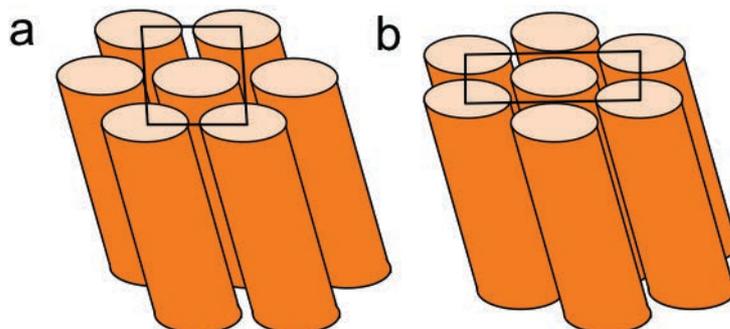


Figure.IV.21. Représentation schématique de maille de bâtonnets décalés a) bâtonnets décalés vers le plus proche voisin et b) vers le second plus proche voisin.

Lorsque l'on descend dans le capillaire, zone où le séchage est plus long et avec plus de matière, nous observons la formation d'une ellipse qui tourne en fonction du déplacement horizontale du faisceau dans le capillaire (figure.IV.22).

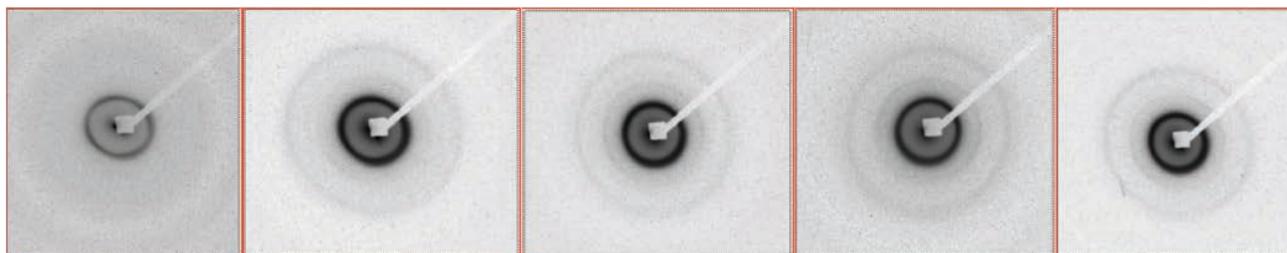


Figure.IV.22. Image de SAXS d'un balayage horizontal de gauche à droite dans un capillaire de rayon X des QRs 18 nm hydrophiles , montrant une déformation de la phase hexagonale en fonction da la position dans le capillaire.

Cette ellipse résulte de la combinaison i) du tilt vers le plus proche voisin (figure.IV.21.a), ii) des états intermédiaire qui amène au le tilt vers le second plus proche voisin et iii) du tilt vers le second plus proche voisin. (figure.IV.21.b).

12. R. Zantl, L. Baicu, F. Artzner, I. Sprenger, G. Rapp, J. O. Rädler, Thermotropic Phase Behavior of Cationic Lipid,àfDNA Complexes Compared to Binary Lipid Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry B* **103**, 10300-10310 (1999).

b) QRs de plus grand rapport d'aspect

Les QRs de plus grand rapport d'aspect forment aussi des macrostructures. Lorsque nous avons zoomé sur ces structures, nous avons observé également une structuration interne des murs.

Dans le cas des QRs 24 nm, nous observons comme en SAXS une phase hexagonale (figure.IV.23.a) mais aussi des lamelles (figure.IV.23.b). Ces lamelles ne sont pas aussi structurées que précédemment avec les QRs 18 nm (figure.IV.18.c).

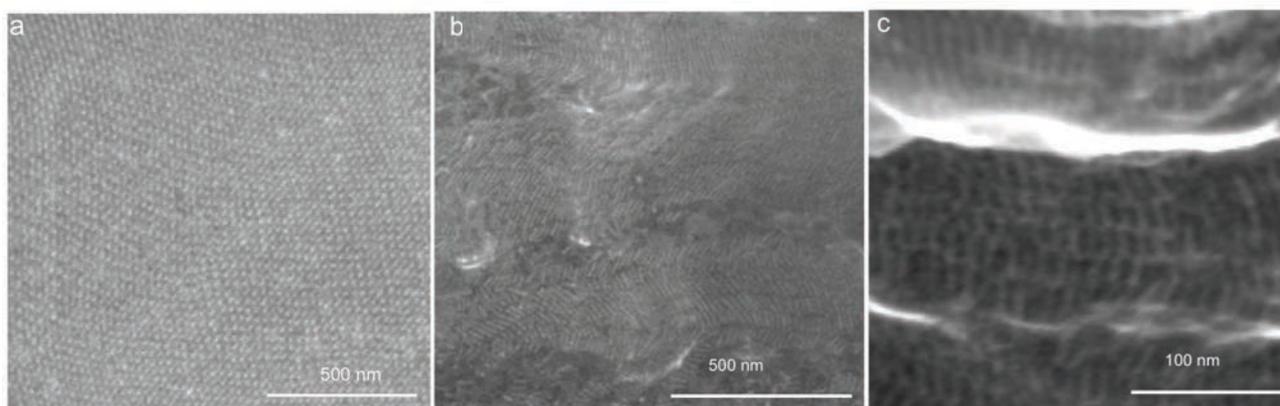


Figure.IV.23. Image SEM de QRs 24 nm présentant une structure smectique .

Les QRs 40 de la même façon que les QRs 24, présentent une phase hexagonale (figure.IV.24.a) et aussi un arrangement en lamelle (figure.IV.24.b et c).

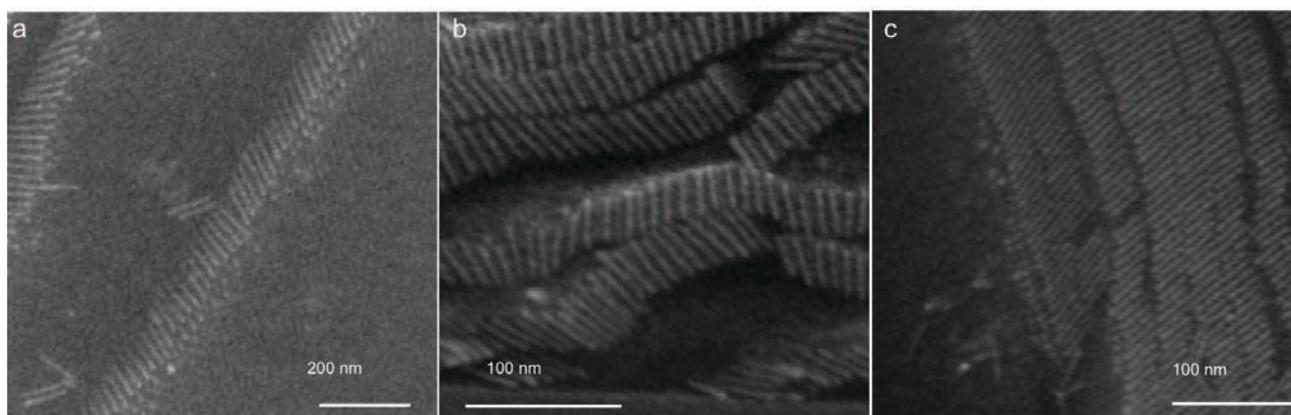


Figure.IV.24. Image SEM de QRs 40 nm présentant une structure smectique .

Finalement nous avons effectué le séchage avec des QRs de 62 nm de longueur. Ces QRs forment des superstructures organisées mais présentent beaucoup de défauts (figure.IV.25.a). Les phases lamellaires dans les coupes d'un mur sont visibles (figure.IV.25.b), mais pas de phase hexagonale directement. Il faut observer sur la figure.IV.19.c, l'absence de phase lamellaire mais sans doute une phase colonnaire.

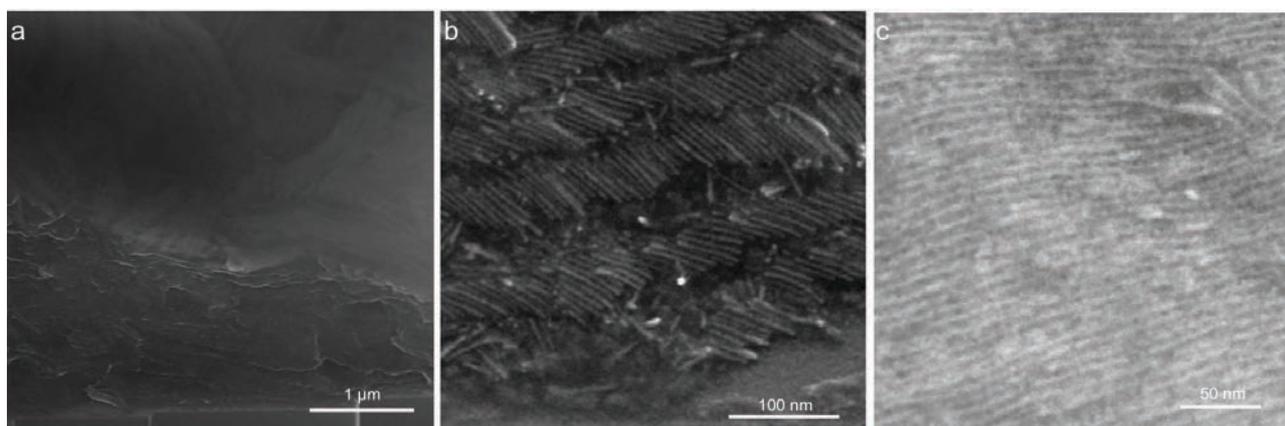


Figure.IV.25. Image SEM des QRs 62 nm, qui montre des phases lamellaire (a) et (b) et une phase de type colonnaire (c).

Donc nous avons pour une taille de QRs (18 nm) la formation d'une structure de type smectique B. Les QRs 24 et 40 nm, quand à eux forment une phase smectique dans le mur et enfin les QRs de 62 nm, donnent lieu à une phase smectique au sein des murs. A la surface des murs la phase semble être colonnaire (figure.IV.25.c).

En conclusion, les images MEB des différentes tailles de QRs montrent une formation par épitaxie sur le substrat qui diffère en fonction de la taille des QRs et en fonction de l'interface. Lorsque nous regardons la formation des murs par épitaxie sur le substrat en fonction de la taille des QRs, nous observons que les QRs de 18 nm sont positionnés de façon parallèle au substrat tandis que pour les autres tailles les QRs sont positionnés de façon perpendiculaires au substrat. Il faut noter que lorsque l'on augmente la taille des QRs, on observe un « tilt » de ceux-ci par rapport au substrat qui est fonction de leur taille. Lorsque nous regardons l'interface QR-air/eau, l'organisation est plus aléatoire. Les QRs de 18 nm (figure.IV.19.a) sont perpendiculaires à l'interface contrairement aux QRs de plus grande longueur qui sont positionnés parallèlement à l'interface air/eau. Les QRs de 62 nm allant jusqu'à former une phase colonnaire parallèle à l'interface (figure.IV.25.c).

C. Discussion

Nous avons montré dans cette partie la possibilité de former des murs de QRs organisés sur une grande échelle par séchage dirigé sous un moule de PDMS en utilisant le bon surfactant. Nous avons réussi à cristalliser les QRs 18 nm dans une phase smectique B possédant les mêmes caractéristiques qu'en capillaire mais sur une échelle beaucoup plus grande. Dans les cas des autres QRs, nous avons obtenus des phases cristallines différentes. L'apparition de phases de type smectique B pour les plus grand QRs, peut provenir de la croissance par épitaxie du cristal sur le substrat combiné à la condensation des particules dans le mur et donc à une cinétique de séchage différente par rapport à celle lors du séchage en capillaire. Néanmoins, des différences d'arrangement sont observés entre les QRs proches du substrat et ceux proches de l'interface air/eau ce qui résulte en des phases cristallines moins bien organisées

III. Conclusion

Nous avons montré dans cette partie la formation de phases cristal-liquides de QRs à partir de solutions organiques et de solutions aqueuses. L'analyse SAXS révèle en solution la bonne dispersion des particules (absence d'agrégats) et permet de mesurer leurs paramètres (L et l). Une

fois les QRs analysés en phase liquide, nous nous sommes intéressés à leur étude à la fois après séchage à partir d'une solution organique et une solution aqueuse. Dans les deux cas, nous avons observé la formation de phases cristallines qui sont fonction de la taille des QRs, des ligands et du solvant. Il faut noter que toutes les phases cristallines obtenues pour les QRs hydrophobes sont du même type. En effet à chaque fois, nous obtenons une structure de type smectique B dont le paramètre lamellaire dépend de la longueur des bâtonnets. Les interdistances montrent que les particules sont au contact dans les phases lamellaires et hexagonales.

Lors du séchage de QRs fonctionnalisés par le ligand TCCPAC à partir de l'eau, nous observons pour les QRs 12.8 nm la formation d'une phase nématique avec un ordre hexagonal local puis pour les QRs 18 nm la formation d'un cristal 3D de type smectique B de très haute qualité. Dans le cas où les QRs possèdent une longueur plus importante, nous observons une phase de type hexagonale colonnaire avec un paramètre hexagonal qui est plus proche que celui de la phase smectique B. Ce changement de type de phase cristalline montre également que les QRs hydrophiles présentent une plus grande variété de phases possibles. Il est important de noter qu'il est possible de modifier les structures cristallines et leurs paramètres grâce à la fonctionnalisation.

Nous avons ensuite montré qu'il est possible grâce à une technique de séchage avec un moule micro-structuré de former des murs de taille macroscopique fluorescents. Ces murs analysés par microscopie électronique montrent qu'ils sont également nano-structurés. Dans le cas des QRs de 18 nm, les phases obtenues dans les murs et en capillaire sont toutes deux de types smectique B, avec des paramètres semblables à ceux obtenus en capillaire. Pour les QRs de plus grande taille le séchage dirigé sous une surface micro-structurée permet la formation de phases cristallines de type smectique B et non plus hexagonale colonnaire. Ces phases ont le désavantage de former des cristaux de plus faible qualité par rapport aux QRs 18 nm. Dans le dernier cas (QRs 62 nm), il est quand même possible d'observer des phases colonnaires de QRs mais à la surface des murs seulement. Nous pouvons donc dire que il doit exister une taille limite ou même sous l'influence du séchage dirigé les QRs ne peuvent plus former de phase cristalline 3D.

Les QRs 18 nm, sont les particules de choix pour l'étude des propriétés optiques car nous avons la formation de structures 3D non seulement à la surface des murs mais également dans les murs.

Références

1. M. Postic, université de Rennes 1, Rennes (Thèse, 2012).
2. L. Carbone, C. Nobile, M. De Giorgi, F. D. Sala, G. Morello, P. Pompa, M. Hytch, E. Snoeck, A. Fiore, I. R. Franchini, M. Nadasan, A. F. Silvestre, L. Chiodo, S. Kudera, R. Cingolani, R. Krahne, L. Manna, Synthesis and Micrometer-Scale Assembly of Colloidal CdSe/CdS Nanorods Prepared by a Seeded Growth Approach. *Nano Letters* 7, 2942-2950 (2007)10.1021/nl0717661).
3. D. Baranov, A. Fiore, M. van Huis, C. Giannini, A. Falqui, U. Lafont, H. Zandbergen, M. Zanella, R. Cingolani, L. Manna, Assembly of Colloidal Semiconductor Nanorods in Solution by Depletion Attraction. *Nano Letters* 10, 743-749 (2010)10.1021/nl903946n).
4. M. Zanella, R. Gomes, M. Povia, C. Giannini, Y. Zhang, A. Riskin, M. Van Bael, Z. Hens, L. Manna, Self-Assembled Multilayers of Vertically Aligned Semiconductor Nanorods on Device-Scale Areas. *Advanced Materials* 23, 2205-2209 (2011)10.1002/adma.201100539).
5. M. Zavelani-Rossi, R. Krahne, G. Della Valle, S. Longhi, I. R. Franchini, S. Girardo, F. Scotognella, D. Pisignano, L. Manna, G. Lanzani, F. Tassone, Self-assembled CdSe/CdS nanorod micro-lasers fabricated from solution by capillary jet deposition. *Laser & Photonics Reviews* 6, 678-683 (2012)10.1002/lpor.201200010).
6. J. A. C. Veerman, D. Frenkel, Relative stability of columnar and crystalline phases in a system of parallel hard spherocylinders. *Physical Review A* 43, 4334 (1991).
7. P. Bolhuis, D. Frenkel, Tracing the phase boundaries of hard spherocylinders. *The Journal of Chemical Physics* 106, 666-687 (1997)10.1063/1.473404).
8. E. Grelet, Hexagonal Order in Crystalline and Columnar Phases of Hard Rods. *Physical Review Letters* 100, 168301 (2008).
9. A. J. Leadbetter, J. C. Frost, M. A. Mazid, Interlayer correlations in smectic B phases. *J. Physique Lett.* 40, 325-329 (1979).
10. A. Guinier, X-Ray Diffraction in Crystals, Imperfect Crystals, and Amorphous Bodies. (1994).
11. C. Hamon, M. Postic, E. Mazari, T. Bizien, C. Dupuis, P. Even-Hernandez, A. Jimenez, L. Courbin, C. Gosse, F. Artzner, V. r. Marchi-Artzner, Three-Dimensional Self-Assembling of Gold Nanorods with Controlled Macroscopic Shape and Local Smectic B Order. *ACS Nano* 6, 4137-4146 (2012); published online Epub2012/05/22 (10.1021/nn3006027).
12. R. Zantl, L. Baicu, F. Artzner, I. Sprenger, G. Rapp, J. O. Rädler, Thermotropic Phase Behavior of Cationic Lipid/DNA Complexes Compared to Binary Lipid Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry B* 103, 10300-10310 (1999); published online Epub1999/11/01 (10.1021/jp991596j).

Chapitre V: Formation de structures hybrides

Formation de structures hybrides	121
I. Formation de phases hybrides par attraction électrostatique.....	123
A. Introduction	124
1. Choix du système ligand/QRs.....	124
2. Choix des vésicules.....	124
B. Dosage par Zétamétrie	125
C. Auto-assemblages de particules anisotropes avec des SUVs.	127
1. Préparation des échantillons.	127
2. Analyse en microscopie optique	128
3. Analyse par rayons X.....	129
II. Formation de phase cristallines par reconnaissance d'ADN	133
A. Caractérisation des assemblages par SEM.	135
B. Détermination de la structure cristalline par SAXS	137
III. Conclusion.....	138
Références	141

Après avoir étudié des assemblages de QRs par séchage simple et dirigé, nous allons nous intéresser à la formation de structures plus complexes.

Dans un premier temps, nous étudierons la formation de structures organisées en utilisant un moule constitué de bicouches lipidiques cationiques et de QRs anioniques interagissant électrostatiquement. Les assemblages seront caractérisés par mesure du en potentiel Zéta et par SAXS.

Dans un deuxième temps nous allons étudier la possibilité de former des hétérostructures composées de QRs et de nanoparticules sphériques d'or (NPsAu). Pour cela, nous allons utiliser des brins d'ADN complémentaires utilisés comme ligands de surface sur les particules. Après incubation des deux types de particules, les mélanges seront analysés par SEM et par SAXS.

I. Formation de phases hybrides par attraction électrostatique

Nous nous sommes appuyé sur l'étude des interaction entre de l'ADN est des membranes de phospholipides. En s'insérant entre des lamelles phospholipidique, l'ADN, forme une phase colonnaire multicouche avec un ordre positionnel rectangulaire (figure.V.1.a).^{1,2,3,4}

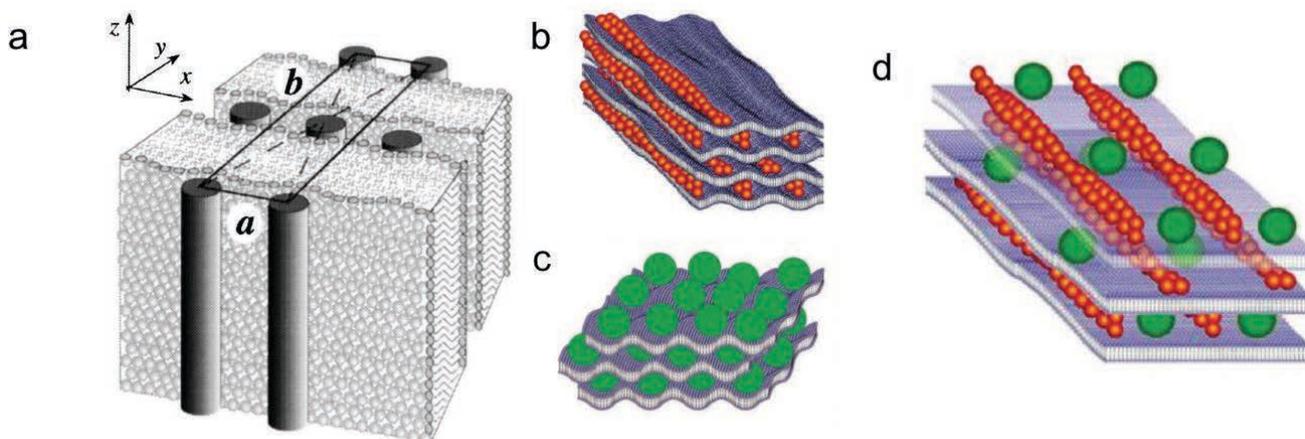


Figure.V.1. Schéma de la phase rectangulaire centrée formé par a) l'insertion d'ADN entre des bicouches de phospholipide, b) d'actine permettant une organisation à plus grande échelle c) formation d'une structure type boîte à œuf par l'insertion de QDs entre deux bicouches de phospholipides et d) schéma de la phase cristalline 3D de type orthorhombique centrée formée par un mélange d'actine/QDs inséré entre deux bicouches de phospholipides

L'ADN a été remplacé par des filaments d'actines dans un premier temps, ce qui a permis la nanostructuration des structures à plus grande échelle. Les structures obtenues ne possèdent malheureusement pas de propriétés optiques mais ont permis de réaliser entre autres des fibres 3D de type rectangulaire centré (figure.V.1.b)⁵. Il a aussi été décidé d'utiliser un mélange de QDs phospholipide (figure.V.1.c) dans un premier temps afin d'obtenir une structure possédant des propriétés optique. De même que les phases ADN/phospholipide, il n'y a pas de structuration à grande échelle. Afin d'y remédier, des phases hybride phospholipide/QDs/actine ont été réalisées.

1. J. O. Rädler, I. Koltover, T. Salditt, C. R. Safinya, Structure of DNA-Cationic Liposome Complexes: DNA Intercalation in Multilamellar Membranes in Distinct Interhelical Packing Regimes. *Science* **275**, 810-814 (1997).

2. F. Artzner, R. Zantl, G. Rapp, J. O. Rädler, Observation of a Rectangular Columnar Phase in Condensed Lamellar Cationic Lipid-DNA Complexes. *Physical Review Letters* **81**, 5015-5018 (1998).

3. R. Zantl, L. Baicu, F. Artzner, I. Sprenger, G. Rapp, J. O. Rädler, Thermotropic Phase Behavior of Cationic Lipid-DNA Complexes Compared to Binary Lipid Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry B* **103**, 10300-10310 (1999).

4. G. Caracciolo, D. Pozzi, R. Caminiti, G. Mancini, P. Luciani, H. Amenitsch, Observation of a Rectangular DNA Superlattice in the Liquid-Crystalline Phase of Cationic Lipid/DNA Complexes. *Journal of the American Chemical Society* **129**, 10092-10093 (2007).

5. E. Henry, A. I. Dif, M. Schmutz, L. Legoff, F. B. Amblard, V. r. Marchi-Artzner, F. Artzner, Crystallization of Fluorescent Quantum Dots within a Three-Dimensional Bio-Organic Template of Actin Filaments and Lipid Membranes. *Nano Letters* **11**, 5443-5448 (2011).

L'incorporation de QDs dans le mélange, a permis d'obtenir des fibres cristallisées 3D possédant des propriétés optiques remarquables (figure.V.1.d).⁵

Des QRs sont utilisés à la place des QDs et de l'actine. Les QRs chargés vont alors être mis en contact avec les phospholipides de charges opposés.

Cette méthode est illustrée dans la figure V.2. Les QRs chargés négativement, grâce à la fonctionnalisation par le peptide TCPAC (figure.V.2.b), en suspension dans l'eau, sont ajoutés sur une suspension de vésicules phospholipidiques de charge opposée (figure.V.2.c)

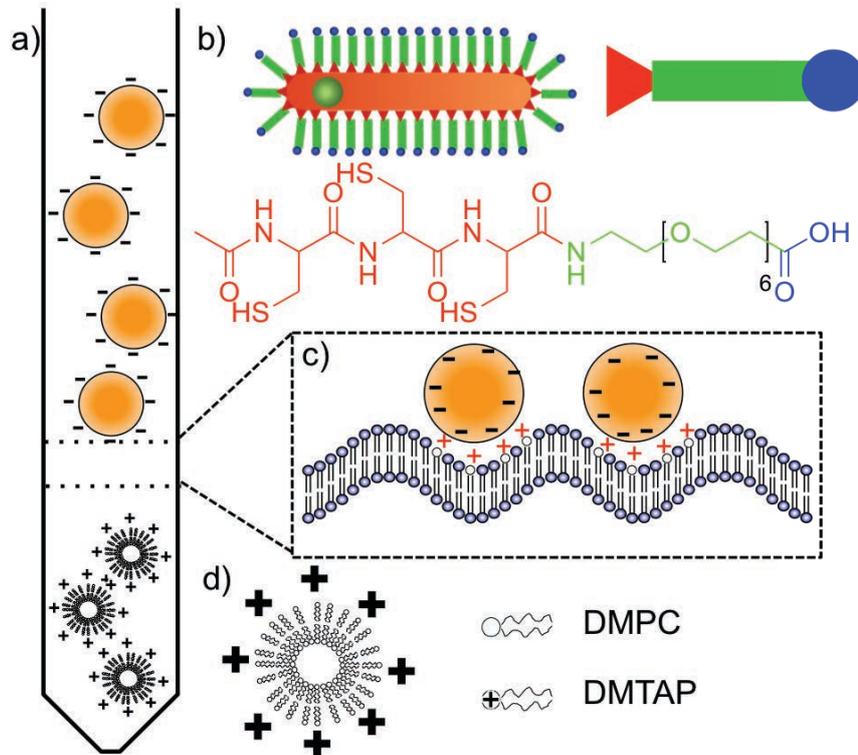


Figure.V.2. a) Schéma explicatif de la mise en contact entre b) la suspension de QRs fonctionnalisés par le ligand peptidique TCPAC et d) la suspension de vésicules phospholipidiques. c) L'interface entre les deux suspensions et la partie à analyser afin de comprendre le mécanisme d'assemblage et les phases cristallines obtenues.

C'est à l'interface des deux suspensions, que nous allons analyser ici, là où diffusent les QRs et les vésicules (figure.V.2.c).

A. Introduction

1. Choix du système ligand/QRs

Les QRs hydrophobes, de taille 24 nm de long et de 3,5 nm de rayon, sont fonctionnalisés par le peptide TCPAC, comme montré dans le chapitre III. Le peptide TCPAC a été choisi car il ressemble fortement au peptide utilisé dans les structures QDs/Actine/SUV. Ce peptide est similaire à TCCPAC, mais sans chaîne alkyle. Ce résidu, va alors introduire une charge négative surfacique aux QRs-peptides. Les QRs-peptides chargés négativement sont notés **QRs-**.

Les QRs-peptides, vont être divisés en deux lots. Le premier lot va être dilué dans un tampon (sucrose/NaCl/NaN₃, 30 mM : 10 mM : 100 μmol), permettant de faire des mesures de potentiel Zéta. Le deuxième lot, va être dilué dans de l'eau ultra pure afin de ne pas se trouver en présence de sels lors de la mise en contact avec les vésicules pour une étude en SAXS.

2. Choix des vésicules

Dans cette partie deux types de vésicules seront utilisés, les LUV et les SUV, composées des

même phospholipides : le DMPC et le DMTAP. L'utilisation de ces deux types de vésicules est préférable car les SUV, de toute petite taille (50 à 100 nm), possèdent un rayon de courbure très grand et donc ont tendance à éclater et à fusionner. En revanche, lors de mesure de charge surfacique, une suspension vésicules intactes et monodisperse est préférable avant toute éventuelle interaction avec les QRs. Les LUV, vésicules de plus grande taille, de ce point de vue plus adaptées que les SUV.

Ces vésicules en fonction de leur composant vont être chargées positivement ou alors globalement neutre. Les mélanges utilisés sont DMPC/DMTAP : 100 / 0, 80 / 20 et 50 / 50. Les vésicules chargées positivement sont notées **LUV+** ou **SUV+** (mélange 80 / 20 et 50 / 50) et non chargé **LUV₀**.

B. Dosage par Zétamétrie

Avant de réaliser la fabrication de cristaux hybrides QRs-/phospholipides, il est nécessaire de savoir si les QRs- interagissent avec les vésicules globalement neutres et/ou les vésicules cationiques. Deux dosages inverses vont permettre de déterminer s'il y a interaction et si oui de quel type.

Le premier dosage se fait par l'ajout de QRs- sur des LUV₀ et LUV+ (figure.V.3). Dans le cas du dosage des LUV+ par des QRs-, on observe que le potentiel Zéta initial des LUV+ ($\xi_{LUV+} = 24,4$ mV), diminue jusqu'à atteindre une valeur nulle et finalement tendre vers un palier (≈ -28 mV) après inversion de charges lors de l'ajout de petites quantité de QRs ($c = 2.5 \cdot 10^{-8}$ M). La neutralisation de la charge cationique moyenne du mélange est atteinte pour un volume d'environ 175 μ l de QRs-. Comme contrôle, le dosage des LUV₀ par des QRs- est réalisé. Le potentiel Zéta initial (-3 mV) des LUV₀ « neutres » diminue lors de l'ajout de QRs-, pour atteindre finalement une valeur d'environ -27 mV. La valeur du potentiel Zéta initial, non nul ici, correspond à la charge induite par les dipôles des têtes polaires zwitterioniques de la phosphatidylcholine.

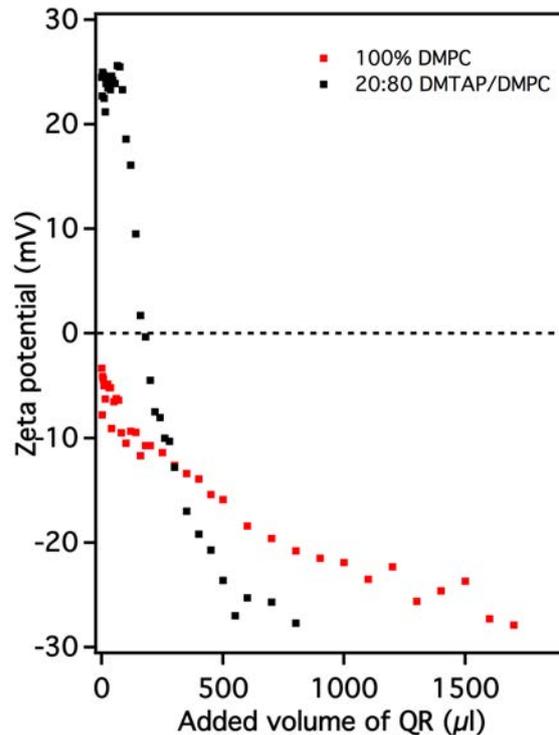


Figure.V.3. Dosage en Zétamétrie de LUV₀ (carrés noirs) et de LUV₊ (carrés rouges) par des QRs chargé négativement.

En comparant les deux courbes, on observe une différence significative dans les pentes des courbes dès les premiers ajouts de QRs-.

Dans le contrôle, le potentiel Zéta mesuré résulte de la moyenne entre deux populations d'objets diffusant, les LUV (-3 mV) et les QRs- qu'on ajoute progressivement. La contribution des QRs- augmente au cours du dosage comme attendu. Dans le cas du dosage des LUV₊ par les QRs-, le potentiel Zéta initial correspond à la charge des LUV₊. Lorsque l'on ajoute des QRs- le potentiel Zéta moyen chute fortement car il résulte de la contribution des LUV neutralisée par les QRs (LUV/QRs) et des QRs- n'ayant pas réagi s'ils sont en excès.

Grâce au dosage des LUV₊ par les QRs- il est possible de déterminer le ratio QR/DMTAP. La neutralisation est atteinte pour un volume de 175 μl à $2,5 \cdot 10^{-8}$ M de QRs-. Cela donne un nombre de mole de QRs de $4,4 \cdot 10^{-12}$ mole. Connaissant le nombre de moles de DMTAP ($2,73 \cdot 10^{-8}$ M), il est possible de déduire le ratio QR/DMTAP, qui est de 1/2500 ici, en ne tenant compte que de la couche extérieure de la vésicule.

Les dosages réciproques (figure.V.4.), des QRs- par des LUV₊ (carrés noirs) ou des LUV₀ (carrés rouges) ont été réalisés. Dans les deux cas, le potentiel Zéta initial est celui des QR- ($\xi_{QR-} = -42.3$ mV). Lors du dosage avec les LUV₊, une augmentation rapide du potentiel Zéta est observée, suivie d'une inversion de charge et finalement d'une augmentation linéaire de celle-ci, en fonction du volume de LUV₊ ajouté. L'inversion de charge est obtenue pour un volume de LUV₊ de 98 μl. Dans le cas des LUV₀, on observe une augmentation du potentiel Zéta, mais qui se stabilise autour de celui des LUV₀ seules (- 5 mV).

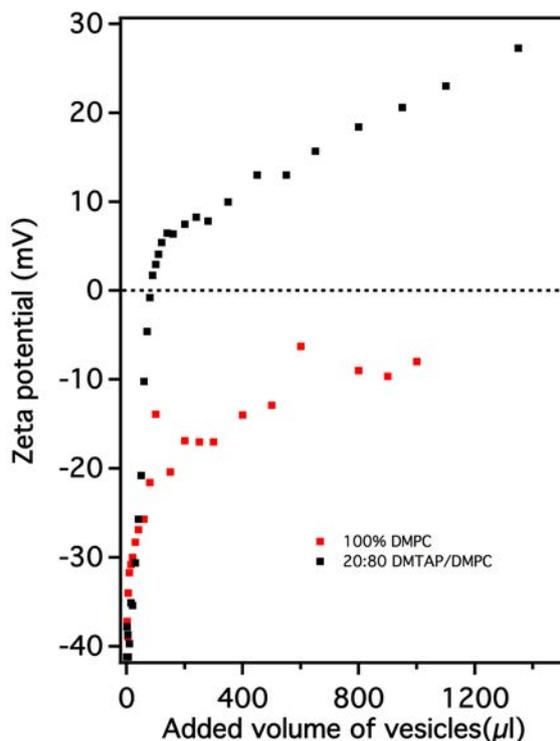


Figure.V.4. Dosage par Zétamétrie de QRs- par des LUV0 (carrés rouges) et des LUV+ (carrés noirs).

Il est alors possible de confirmer qu'il y a bien une interaction électrostatique sélective entre les QRs- et les LUV+. On observe une inversion de charge lors des dosages QRs-/LUV+ en passant par la neutralisation du milieu.

En conclusion, la titration suivie par zétamétrie démontre une neutralisation de la charge des vésicules lors de l'adhésion de QRs-. Les objets hybrides résultants sont alors globalement neutres. On remarque également que le ratio QR/DMTAP est très élevé, cela montre que les QRs sont des particules très fortement chargées et qu'elles doivent être très fortement liées par interaction électrostatique au LUV. De plus, le point d'équilibre n'est pas exactement atteint du à la saturation de la surface des LUV+ par les QRs-. En effet, les QRs vont se gêner de façon stérique et également par répulsion électrostatique dû à leur charge et à leurs tailles. De ce fait, le nombre de QRs par membranes se retrouve limité.

C. Auto-assemblages de particules anisotropes avec des SUVs.

Il a été montré dans la partie titration, que lors de la mise en contact de LUV+ et de QRs- des agrégats sont formés. Nous allons étudier ces agrégats préparés dans des capillaires de rayons X en microscopie optique suivie d'une étude en SAXS.

1. Préparation des échantillons.

Dans cette partie, les LUV+ vont être remplacées par des SUV+ également constituées de DMPC/DMTAP mais dans un ratio 1/1 cette fois-ci. La préparation des SUV+ est décrite dans la partie II. La formation de SUV+ va se faire dans de l'eau millipore afin d'éviter tout type d'interaction autre qu'avec les QRs-. Après les étapes de sonication et l'obtention d'un liquide presque translucide, celui-ci est stocké au froid et enveloppé dans de l'aluminium.

Les QRs- sont également préparés comme précédemment. Une fois la concentration des échantillons de QRs- déterminée par UV-Visible, ceux-ci sont également stockés à froid avant leur utilisation.

Les capillaires sont préparés et remplis en fonction de la quantité de chaque composant pour avoir un accès facile au précipité. Plusieurs longueurs de QRs ont été utilisées, celles-ci variant entre 18, 24, 40 et 62 nm de longueur et 2,6 à 3,2 nm de rayon (rapport d'aspect de : 3,6, 4,8, 6,7 et 10). Le choix des ratio entre SUV+ et QRs- se fait en fonction de résultats préliminaires montrant une meilleure formation de « cristaux » en présence d'un excès de QRs-.

Après quelques minutes, la formation d'un précipité est observée. Après 48h d'incubation à température ambiante, trois cycles chauds (55° C)/froid (4° C) de 30 minutes, sont effectués pour équilibrer les précipités obtenus. Ces précipités sont observés par microscopie optique et sont ensuite analysés par SAXS et par SAXS haute résolution, les SAXS sont réalisés au laboratoire et les SAXS haute résolution sur la ligne X9 du NSLS à Brookhaven national laboratory (NY, USA). Les échantillons ont de plus été analysés en fonction de la température.

2. Analyse en microscopie optique

La première analyse simple et rapide se fait par microscopie optique. Celle-ci présente un avantage, il sera possible de combiner la microscopie en lumière blanche, en fluorescence et en lumière polarisée. L'observation combinée de ces trois types de microscopie va permettre de faire un premier choix dans les échantillons préparés et de commencer à distinguer ceux qui pourraient être les plus intéressants et ceux qui ne présentent pas d'interaction SUV+/QR-.

Ces trois techniques complémentaires vont être utilisées directement sur les capillaires. La figure suivante présente trois types d'échantillons composés de QRs de tailles différentes. Sur une même ligne, sont présentés pour les mêmes QRs des photos prises en microscopie en lumière blanche, en fluorescence et en lumière polarisée (figure.V.5).

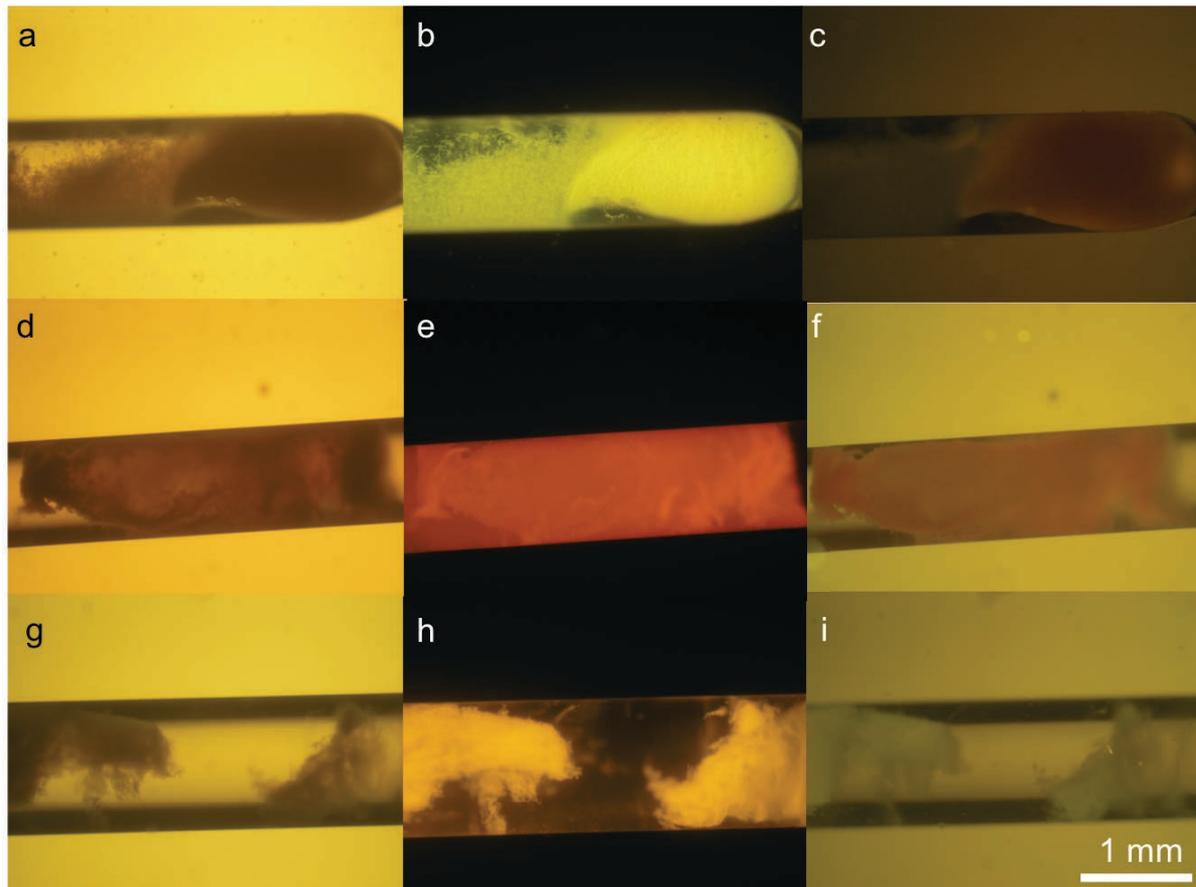


Figure.V.5. Photos de 3 échantillons de QRs de longueurs différentes de 12, 8 nm (a,b,c), de 24 nm (d,e,f) et de 62 nm (g,h,i) présent en lumière blanche (a,d,g) en émission de fluorescence (b,e,h) et en lumière polarisé (c,f,i).

Nous pouvons voir qu'il y a bien formation de fibres à l'interface des QRs- et des SUV+ (figure.V.5.a, d et g), ces fibres sont sous lampe à vapeur de mercure fluorescente, (figure.V.5.b, e et h) ce qui confirme que les QRs- et les SUV+ sont colocalisés. De plus, les fibres formées sont des objets assez importants, elles sont très visible à l'œil nu et remplissent toute la section du capillaire. Lorsque ces fibres sont observées sous lumière polarisée, elles ne sont pas éteintes, mais à cause de leur épaisseurs, il est difficile de voir précisément les zones biréfringentes (figure.V.5.c, f et i).

3. Analyse par rayons X

L'analyse au SAXS basse et haute résolution, va permettre de détecter et déterminer les structures présentes dans les fibres précédemment formées. Les analyses seront également effectuées à température ambiante et en chauffant au dessus de la transition de phases L_p à L_a caractéristique de la transition de phase des chaînes alkyles des phospholipides DMPC et DMTAP.

Afin de confirmer la présence de phases lamellaires constituées de phospholipides DMPC et DMTAP, nous avons suivi l'évolution du spectre des fibres RX en fonction de la température aux très petits angles sur la ligne X9 (figure.V.6). Le pic indexé (0,2) correspond au pic lamellaire des phospholipides.

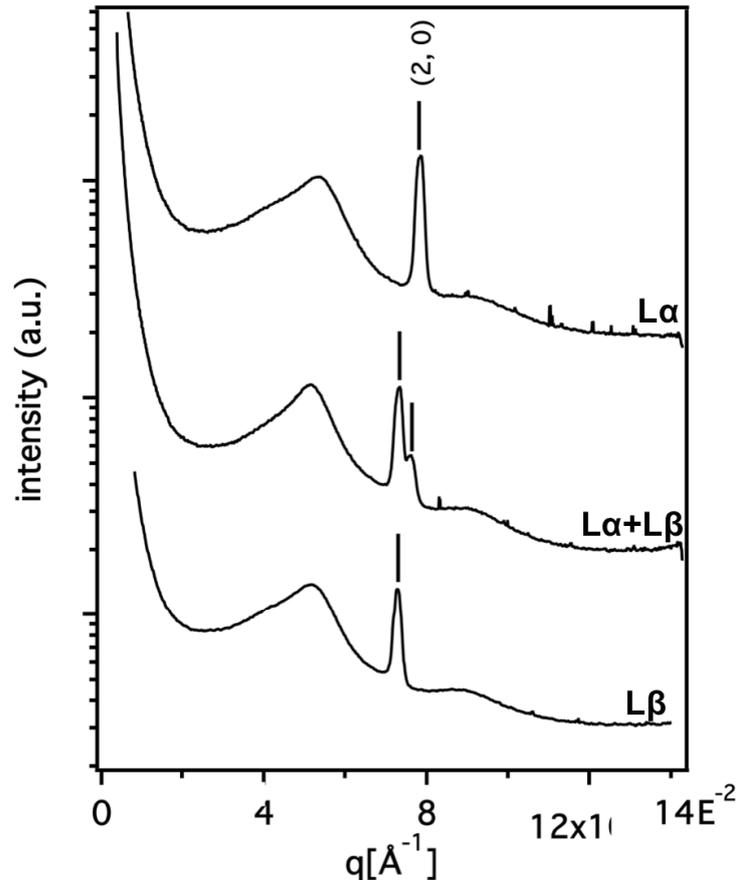


Figure.V.6. Spectres HRSAXS, montrant la transition de la phase $L\beta$ à $L\alpha$ de la chaîne alkyle des phospholipides à température ambiante vers 34 °C et 55 °C.

Sur les trois spectres, le pic fin se décale en fonction de l'augmentation en température vers de plus grands angles. Lors de ce décalage une coexistence de deux phases est observable, alors que les pics plus larges ne bougent pas. Ce transition de phase correspond à la transition de la phase $L\beta$ à la phase $L\alpha$ des chaînes alkyles présents dans les phospholipides.

Lorsque les fibres sont analysées aux petits angles cette fois-ci, les clichés de diffraction de fibres présentent aussi des pics discrets et fins ainsi que des pics plus larges et moins bien définis (figure.V.7.a). Les pics fins correspondent à une phase lamellaire tandis que les pics plus larges correspondent à l'interdistances entre QRs dans un même plan.

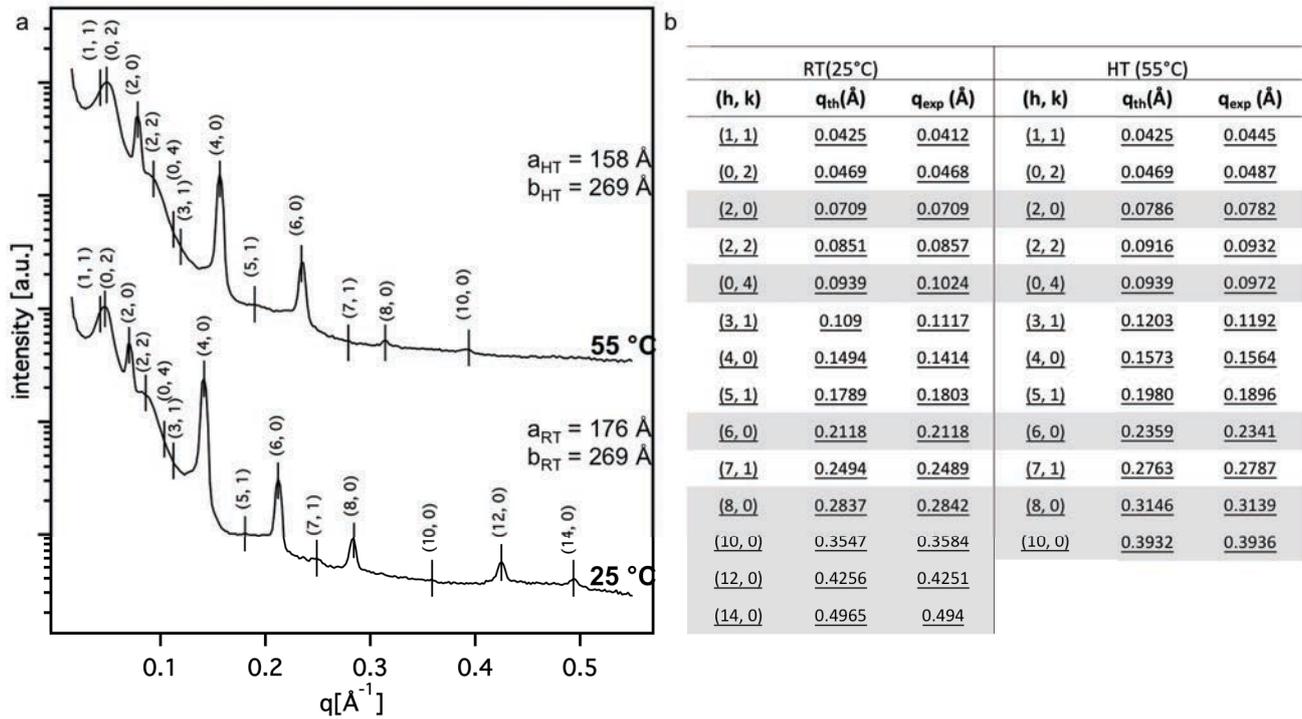


Figure.V.7. a) Spectres de diffractions de la même fibre à 25 °C et 55 °C, présentant des pics fins et discrets et des pics plus larges et et b) indexation des phases aux deux températures. Les paramètres cristallins calculés après indexation, sont a_{RT}= 176 Å et b_{RT}= 269Å puis a_{HT}= 158 Å et b_{HT}=269 Å .(les données grisées correspondent aux indexations lamellaire).

Les deux spectres sont indexés selon une phase rectangulaire centré (figure.V.7.b), en posant : $q = \sqrt{h^2 \times a^{*2} + k^2 \times b^{*2}}$, avec $a^* = \frac{2\pi}{a}$ et $b^* = \frac{2\pi}{b}$, a* et b* sont les paramètres de la phase cristalline dans l'espace réciproque (a et b sont pris dans l'espace réel). A température ambiante (RT), les paramètres de mailles sont a_{RT} = 176 Å et b_{RT} = 269 Å et à 55°C (HT) a_{HT} = 158 Å et b_{HT} = 251 Å.

La phase multi-lamellaire, est indexée avec une distance de répétition plus grande que celle des phases multi-lamellaires de phospholipides purs. Il est alors juste de dire que comme dans le cas de l'ADN, et des QDs/actine, les QRs- sont insérés entre ces couches de phospholipides. a est alors fixé par l'interdistance entre deux couches de phospholipide. Le paramètre b est quant à lui fixé par l'interdistance entre les QRs- coplanaires. De plus, nous savons grâce à l'étude en température que les phases lamellaires sont formées de bicouches lipidiques. En effet, la transition de la phase L_β à L_α correspond à une diminution de l'interdistance lamellaire a de 1.8 nm. Cela correspond à une diminution de 2 fois l'épaisseur d'une couche de phospholipides. Il est alors possible de proposer une structure pour l'objet obtenu (figure.V.8.a et b)

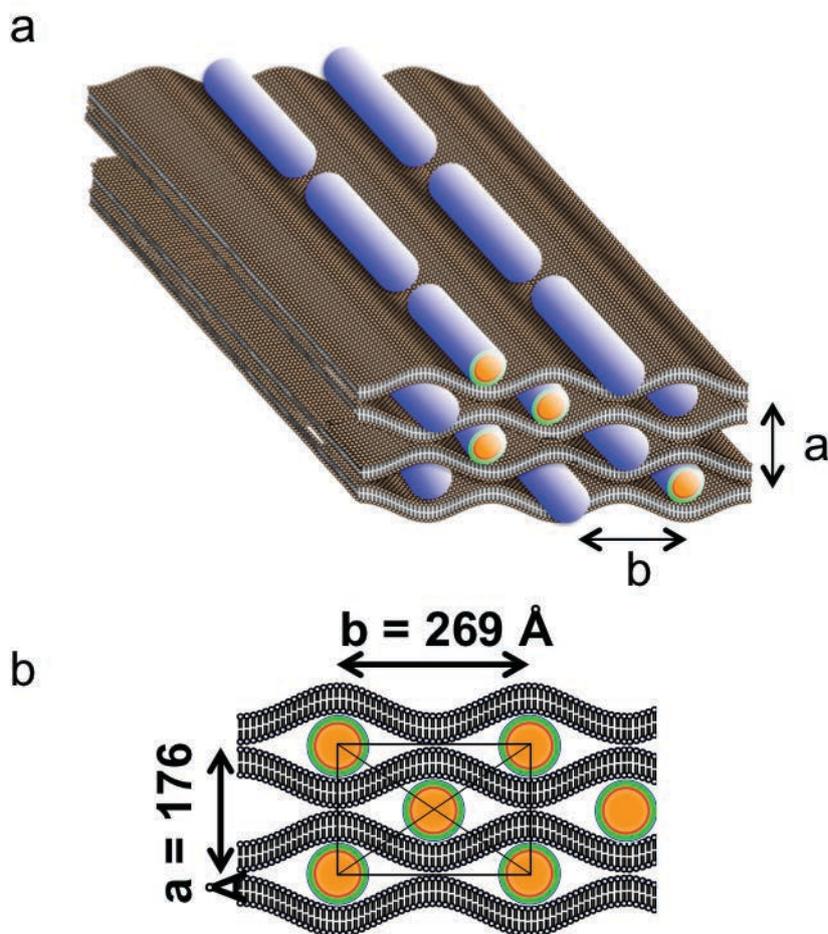


Figure.V.8. Modèle en 3D (a) de la phase cristalline indexé dans le tableau.IV.1 et modèle 2D (b) présentant la phase rectangulaire centrée et montrant l'ondulation de la membrane.

Dans cette structure, les QRs- sont empilés dans une configuration ABAB de couche à couche (figure.V.8.b). La distance de répétition du paramètre a est de 176 \AA . Cette interdistace entre couches de phospholipides n'est pas compatible avec une phase lamellaire de lipides purs parallèle les unes aux autres.² Dans notre cas, en effectuant le calcul suivant : la somme de deux couches de phospholipides et du diamètre d'un QRs, nous trouvons un paramètre plus grand que celui trouvé dans nos phases. Le seul moyen de diminuer une distance entre deux objets dans notre cas, est d'introduire une ondulation de la membrane de phospholipides. Cette ondulation va permettre de diminuer l'interdistace membrane-membrane.^{6,7}

Le modèle proposé ci-dessus (Figure.V.8) montre l'effet d'une ondulation de la membrane phospholipidique en phase avec la membrane $n+1$. Ces couches de phospholipides sont formées grâce à une très forte interaction électrostatique entre les SUV+ et les QRs-. Le paramètre lamellaire, correspond alors à la somme du diamètre d'un QR (d_{QR}) (comprenant la partie inorganique et les ligands organique), et de l'épaisseur de deux bicouches lipidiques $2 e_{lip}$. Nous avons alors $a = d_{QR} + 2e_{lip}$ (figure.V.8.b). En considérant que $e_{lip} = 40 \text{ \AA}$. A partir de ce modèle, nous déterminons un diamètre de 96 \AA pour les QRs (bâtonnet+ ligands) ce qui est très compatible avec la microscopie électronique. Ce modèle comportant des ondulations de la membrane est

6. E. Henry, Université de Rennes 1, (Thèse 2007).

7. A. Dif, E. Henry, F. Artzner, M. Baudy-Floc'h, M. Schmutz, M. Dahan, V. Marchi-Artzner, Interaction between Water-Soluble Peptidic CdSe/ZnS Nanocrystals and Membranes: Formation of Hybrid Vesicles and Condensed Lamellar Phases. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 8289-8296 (2008).

plausible, car l'énergie nécessaire pour déformer la membrane augmente en fonction de d^4 , (d étant la l'amplitude de la déformation)⁷. Dans notre étude, les QRs que nous utilisons possèdent un diamètre de 96 Å. Si nous prenons comme amplitude de déformation le diamètre des QRs, on obtient une diminution de l'énergie nécessaire pour la déformation de la membrane d'un facteur de 530.⁷ L'ondulation n'est donc pas interdite.

Nous avons également étudié le modèle en modifiant le ratio de DMTAP/DMPC. Dans le cas où nous augmentons le ratio DMTAP/DMPC (80/20), nous observons également la présence d'une phase rectangulaire centrée (figure.V.9).

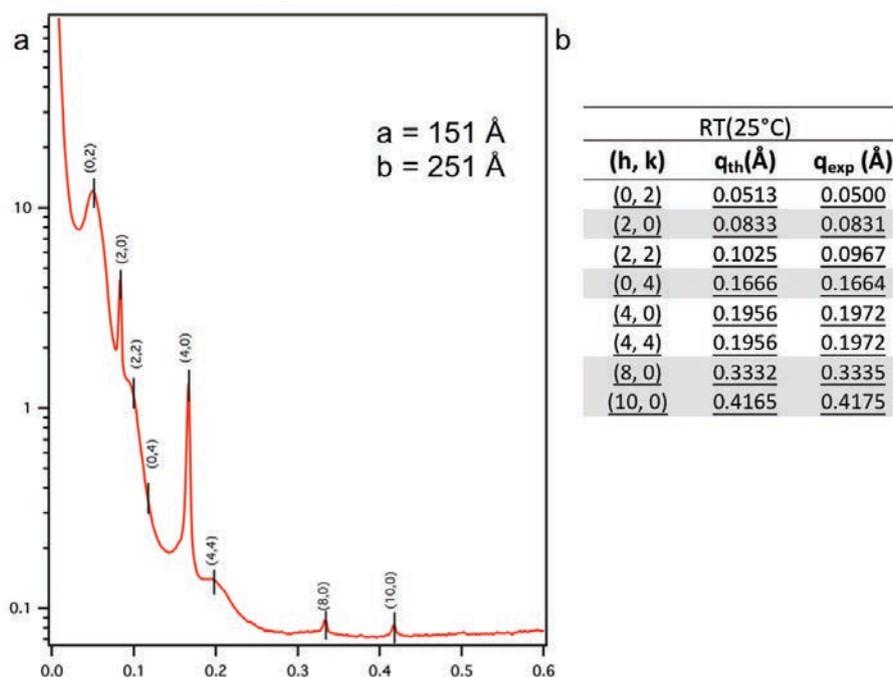


Figure.V.9. a) Spectre SAXS de structure hybride composé d'un mélange à 20% de DMTAP/80% DMPC et b) indexation de la phase. Les paramètres sont $a = 151 \text{ \AA}$ et $b = 251 \text{ \AA}$.

Après l'indexation des pics (figure.V.9.b), nous observons une diminution des paramètres a et b de 25 Å et 18 Å respectivement. Cette diminution est sans doute due à la présence d'une plus grande quantité de DMTAP dans le système. En effet la molécule de DMTAP est plus courte que celle de DMPC de environ 6 Å. Nous avons donc une diminution de 24 Å de l'épaisseur de la double bicouche de DMTAP de ce fait $2e_{DMTAP} = 2elip - 24 \text{ \AA} = 56 \text{ \AA}$. En calculant le paramètre a en tenant compte de cette diminution, nous arrivons à : $a = 2e_{DMTAP} + d_{QR} = 56 + 96 = 152 \text{ \AA}$, ce qui explique alors la diminution du paramètre a .

II. Formation de phase cristallines par reconnaissance d'ADN

Une deuxième consiste à contrôler les interactions entre particules. Afin de contrôler plus finement les interactions, nous pouvons utiliser des objets possédant des connecteurs moléculaires complémentaires et spécifiques. L'ADN permet de contrôler les interdistances et la structure de l'assemblage en utilisant des séquences complémentaires (figure.V.10).^{8,9,10,11,12}

8. C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *Nature* **382**, 607-609 (1996).

9. A. L. Stadler, D. Sun, M. M. Maye, D. van der Lelie, O. Gang, Site-Selective Binding of Nanoparticles to Double-Stranded DNA via Peptide Nucleic Acid "Invasion". *ACS Nano* **5**, 2467-2474 (2011).

10. S. Vial, D. Nykypanchuk, K. G. Yager, A. V. Tkachenko, O. Gang, Linear Mesostructures in DNA-Nanorod Self-Assembly. *ACS Nano* **7**, 5437-5445 (2013).

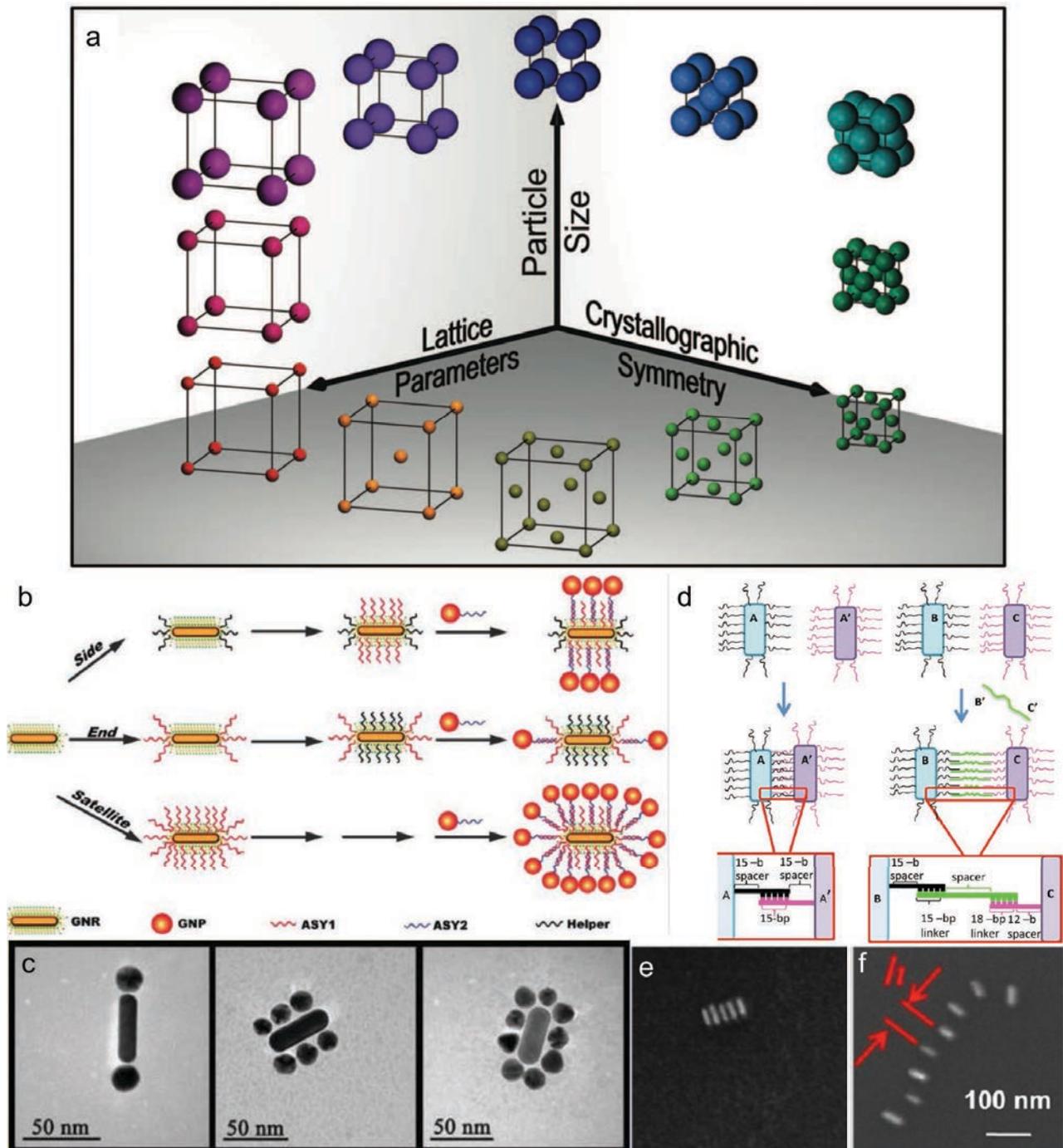


Figure.V.10. a) Ingénierie de réseaux cristallins de nanoparticules réalisés avec de l'ADN. A la différence de cristallisation plus conventionnelles de particules, l'utilisation de brins complémentaires d'ADN permet un contrôle des trois paramètres importants qui vont définir l'assemblage (la taille des particules, les paramètres de maille, et le système cristallin)¹¹ b) schémas de formation contrôlée de structures de NPs d'or de morphologies différentes (sphère et bâtonnets) et c) image TEM de ces structures.⁹ d) Schéma expliquant l'utilisation d'un brin d'ADN doublement complémentaire C' permettant d'augmenter l'interdistances entre deux nanobâtonnets d'or B et C par rapport à une hybridation direct entre les bâtonnets A et A' e) image TEM de l'assemblage des bâtonnets A et A' et f) des bâtonnets B et C grâce au brin d'ADN C' montrant une augmentation de l'interdistances entre bâtonnets.¹⁰

11 R. J. Macfarlane, B. Lee, M. R. Jones, N. Harris, G. C. Schatz, C. A. Mirkin, Nanoparticle Superlattice Engineering with DNA. *Science* **334**, 204-208 (2011)

12. Zhang, F. Lu, K. G. Yager, D. van der Lelie, O. Gang, A general strategy for the DNA-mediated self-assembly of functional nanoparticles into heterogeneous systems. *Nature Nanotechnology* **8**, 865-872 (2013)

L'utilisation de l'ADN comme outil de formation de structure cristalline à travers l'hybridation de deux brins complémentaires, permet de définir les paramètres qui vont définir la structure de l'assemblage obtenu de façon indépendante (figure.VI.10.a)¹¹. Il va alors être possible d'assembler des particules de formes différentes (figure.V.10.a) et d'ajuster le ratio de ces particules l'une par rapport à l'autre (figure.V.10.b) pour former les structures désirées.⁹ Lors de la fonctionnalisation de particules par des brins d'ADN complémentaires ceux-ci vont fixer l'interdistance après hybridation de l'ADN (figure.V.10.d et e particule A et A'). Afin de pouvoir augmenter cette interdistance entre particules, un troisième brin d'ADN (figure.V.10.d brin C') possédant à chaque extrémité un groupe de reconnaissance complémentaire de deux brins d'ADN peut être ajouté au milieu. Ce nouveau brin d'ADN permet alors d'augmenter l'interdistance entre les particules B et C (figure.V.10.f).¹⁰

Nous allons montrer ici des résultats préliminaires à propos de l'assemblage entre les QRs et des nanoparticules sphérique d'or (NPsAu). Comme nous l'avons décrit dans l'introduction, les particules d'or et les QRs peuvent interagir pour donner de nouvelles propriétés optiques. Néanmoins, il faut maîtriser leur assemblage (interdistances, structures)

Le système utilisé est basé sur la reconnaissance entre deux brins complémentaires d'ADN. Les brins d'ADN complémentaires sont constitués d'un espaceur de taille variable constitué de thymine (T) puis d'une séquence de reconnaissance (tableau.V.1).

Noms	Séquences
1A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₁₅ -NH ₂ -3'
1B	3'-NH ₂ -(T) ₁₅ ATG AAG GTT AGG TTA-5'
3A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₃₀ -NH ₂ -3'
3B	3'-NH ₂ -(T) ₃₀ ATG AAG GTT AGG TTA-5'
5A	5'-TAC TTC CAA TCC AAT (T) ₄₅ -NH ₂ -3'
5B	3'-NH ₂ -(T) ₄₅ ATG AAG GTT AGG TTA-5'

Tableau.V.1. Tableau présentant les différentes séquences d'AND utilisé lors de la formation de structure hybride NPsAu et QRs.

Ces brins d'ADN vont servir à fonctionnaliser des QRs de deux longueurs différentes (QRs de 18 nm et QRs de 62 nm). Après fonctionnalisation, les QRs possédant l'ADN à leur surface, vont être mis en contact avec des nanoparticules d'or sphériques (particules de 50 nm ou de 10 nm de diamètre) présentant à leur surface soit le même brin d'ADN, soit le brin complémentaire.

A. Caractérisation des assemblages par SEM.

Nous allons commencer ici par l'étude en SEM de l'assemblage QRs/NPsAu. La préparation des wafers de silicium se fait de la façon suivante : dans un premier temps, ils sont nettoyées i) par sonification dans une solution à 1% d'Alconox (Alconox Inc., NY), ii) dans de l'eau désionisée pendant 15 min, iii) dans d'une solution piranha. Finalement les substrats sont rincés abondamment à l'eau millipore et séchées sous azote. Les substrats propres sont immergés dans une solution aqueuse de poly(chlorure de diallyldiméthylammonium) (PDDA) chargé positivement (1 mg / ml dans NaCl 0,5 M, Mw 10 000) pendant 30 mn. A ce stade, les wafers sont chargées positivement, ce qui favorise des interactions électrostatiques avec les QRs-DNA et les NPsAU-DNA chargé négativement. Une goutte de suspension des mélanges QRs-DNA/NPsAu-Dna est déposé sur le substrat et lavée à l'eau millipore dès que la goutte a séchée. Les échantillons sont alors analysés par SEM.

Comme contrôle, les NPsAu de 50 nm après fonctionnalisation avec l'ADN 3A (figure.V.11.a et b) ont été analysées par SEM. Ces deux photos ne montrent pas d'agrégation mais des particules positionnées de façon aléatoire sur le substrat.

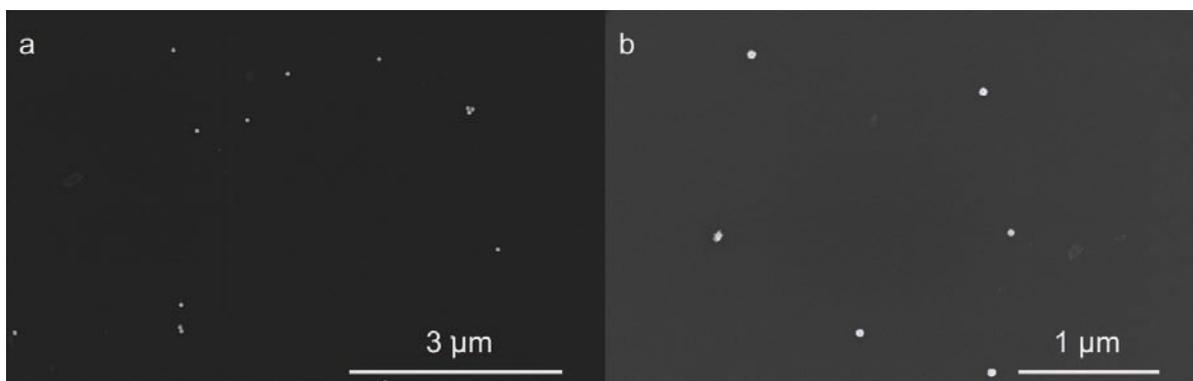


Figure.V.11. a) Image SEM de nanoparticules d'or de 50 nm de diamètre « fraîche » et b) après fonctionnalisation avec l'ADN 3A.

Comme ces particules sont non complémentaires, elle ne présente pas d'agrégation. Il est alors possible de les mélanger avec des QRs. Comme contrôle, les QRs de 62 nm fonctionnalisés avec l'ADN 3A (QRs62/3A) sont mélangés avec des NPsAu de 50 nm fonctionnalisés avec l'ADN 3A (Au50/3A) (figure.V.11.a et b). Les deux photos ne présentent pas de formation d'agrégats ni de formation de paire 1 : 1 ou autre de QRs/NPsAu.

Dans le cas du mélange complémentaire, les QRs 62 nm sont fonctionnalisés par de l'ADN 3B (QR62/3B) et mis en contact avec les Au50/3A nous observons la formation (figure.V.11.c et d).

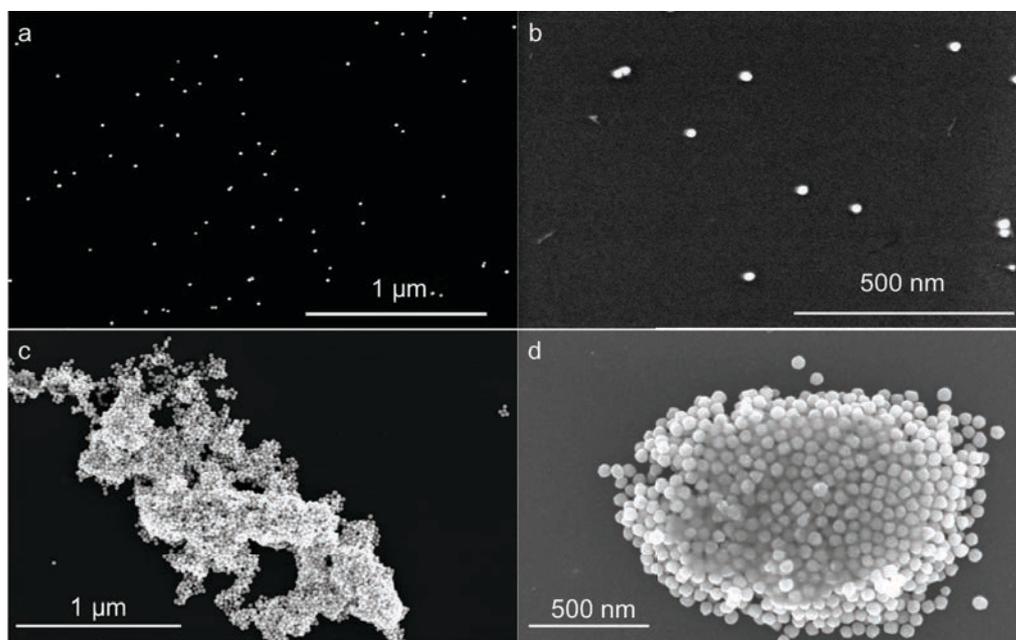


Figure.V.11. Image SEM des Au50/3B et mélangées au QR62/3B à différent grossissement (a) et (b). Image SEM présentant des gros agrégats après mélange des Au50/3B et des QR62/3A en utilisant des brins complémentaires (c) et (d).

Nous avons ensuite choisi d'explorer le cas des QRs plus petit. Des QRs de 18 nm ont alors été mélangés à des NPsAu 50 nm afin de tester les possibilités d'assemblages. La figure.V.13.a et b montre le contrôle composé d'un mélange de QRs 18 nm fonctionnalisés avec l'ADN 3A (QR8/3A) et des Au50/3A. Comme pour les QRs de plus grande taille, nous n'observons pas la formation

d'agrégats ni d'oligomère de QRs/NPsAu (contrôle). Dans le cas où les particules sont fonctionnalisées par des brins d'ADN complémentaires (figure.V.13.c et d) nous observons la formation d'agrégats non structurés comme précédemment.

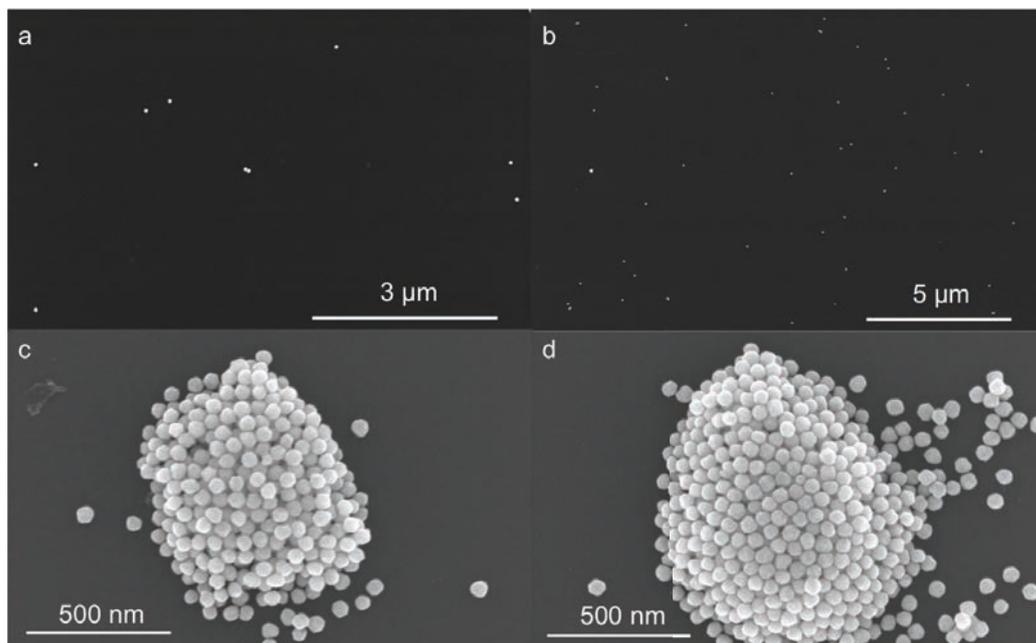


Figure.V.13. Image SEM de NPsAu de 50 nm fonctionnalisées par l'ADN 3A et mélangées aux QRs de 18 nm fonctionnalisés avec l'ADN 3A à différents grossissement (a) et (b). Image SEM présentant des agrégats après mélange des NPsAu de 50 nm et des QRs de 18 nm en utilisant des brins complémentaire 3A et 3B d'ADN (c) et (d).

Ces résultats préliminaires montrent donc qu'il est possible d'assembler des particules de structures et de tailles différentes.

B. Détermination de la structure cristalline par SAXS

L'étude des structures cristallines par SEM permet de voir ponctuellement des agrégats apparaître sur un substrat. Afin d'avoir plus de détails sur les agrégats formés, nous avons réalisés les mêmes mélanges de particules que précédemment mais dans des capillaires de rayon X.

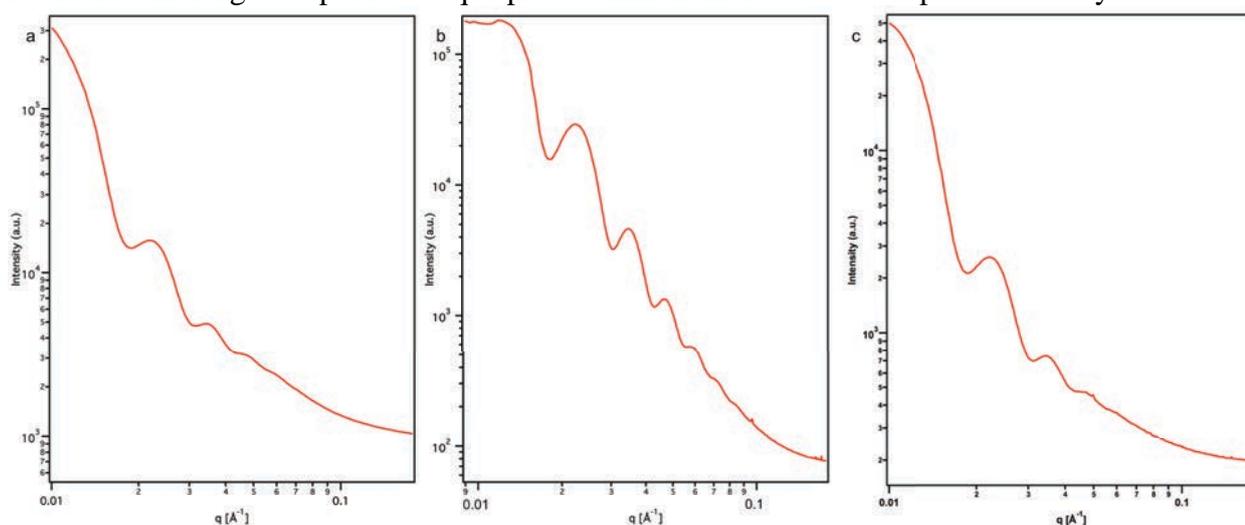


Figure.V.14. Spectre de diffusion des rayons X en solution des mélanges a) QRs 62 nm et NPsAu de 50 nm b) QRs 18 nm avec les NPsAu de 50 nm et c) spectre SAXS des NPsAu de 50 nm en solution.

Les spectres de diffusion présentent des ondulations qui correspondent au facteur de forme

des NPsAu de 50 nm (figure.V.14.c) dans le cas d'un mélange avec les bâtonnets de 62 nm (figure.V.14.a). Dans le cas des QRs (18 nm) (figure.V.14.b), on peut noter l'apparition d'un nouveau pic aux petits angles, mais les ondulations dues aux NPsAu restent toujours présentes. Ce nouveau pic indique tout de même la présence d'une distance bien définie entre les NPsAu. La distance mesurée est de 530 Å (figure.V.15).

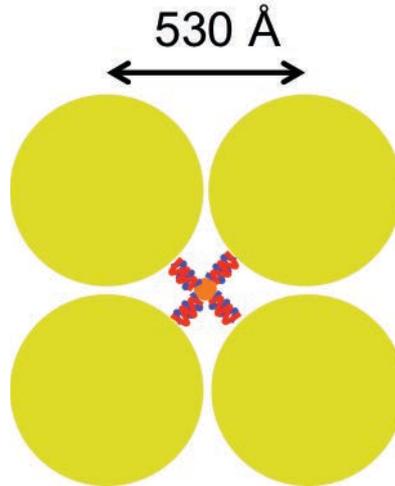


Figure.V.15. Schéma de la phase hybride NPsAu (sphères jaunes) de 50 nm /QRs (sphère orange) de 62 nm possédant une interdistance de 530 Å grâce à l'hybridation de brins complémentaire d'ADN.

L'assemblage proposé (figure.V.15) n'est possible que si les brins d'ADN sont délocalisés du même côté vers les QRs lors de l'hybridation, ce qui permet d'éviter les interactions des nanoparticules d'or entre elles. Mais ne possédant pas d'autre information, nous ne pouvons pas conclure sur la formation d'hétérostructures en solution de QRs/NPsAu possédant des interdistances de répétitions égales. La très grande différence de morphologie et de diamètre entre les particules ne permet sans doute pas un assemblage organisé à courte ou à grande échelle. Cela confirme les observations faite au MEB, où on note l'absence de structure organisée avec des distances de répétitions égales.

III. Conclusion

Deux nouveaux types d'auto assemblages structurés en utilisant les QRs ont été présentés dans cette partie. La formation de ces structures repose sur la chimie de surface des QRs. En effet, afin de former des structures par interaction électrostatique, nous avons fonctionnalisé les QRs avec des ligands peptidiques chargés négativement à pH 7 permettant alors l'interaction avec des vésicules phospholipidiques chargées positivement. Dans le deuxième cas, grâce à la réactivité possible du ligand TCPAC, nous avons pu par simple réaction entre l'acide carboxylique du peptide et la fonction amine portée par les brins d'ADN, formé un liaison amide et donc posséder des brins d'ADN à la surface des QRs.

Nous avons montré dans le premier cas, que l'interaction entre des LUVs et des QRs de charges opposées abouti à la formation d'agrégats obtenus par neutralisation des charges. Dans le cas de LUV non chargés, aucune interaction n'est observée. Cela permet de conclure sur le modèle d'interaction possible qui correspond à l'ouverture des LUVs et l'adhésion des QRs à celle-ci. Ce modèle correspond à celui observé pour les QDs et le mélange QDs/actine.^{5,7}

Les agrégats (QRs/lipides) observés lors de la titration ont été préparés en capillaires et montrent la formation de fibres à partir de la zone de contact entre les deux suspensions (QRs et vésicules). Ces fibres sont colorées, fluorescentes et biréfringentes. En les analysant en SAXS et

HR-SAXS, nous avons démontré la formation d'une phase rectangulaire centrée qui présente une ondulation de la phase lamellaire des phospholipides. Les QRs se trouvent espacés régulièrement dans ces phases lamellaires entre deux bicouches de phospholipides. La phase obtenue est robuste et montre une transition classique L_{β} à L_{α} lors d'une montée en température tout en gardant le même paramètre $b = 269 \text{ \AA}$, paramètre latéral entre QRs dans le même plan. Cette structure existe également pour des ratios différents de DMTAP/DMPC mais possède des paramètres cristallins plus petits.

Dans le deuxième cas, nous avons étudié la formation d'hétérostructures préparées à partir de nanoparticules sphériques d'or et de QRs par hybridation d'ADN. Les images obtenues en SEM montre la formation d'agrégats non organisés mais seulement dans le cas où les brins d'ADN fonctionnalisant l'un et l'autre type des particules sont complémentaires. Ces observations de structures amorphes sont confirmées par SAXS, où nous observons seulement le facteur de forme des nanoparticules d'or avec l'apparition d'un pic seulement pour les QRs de 18 nm. Le fait de ne pas obtenir de structuration peut provenir de plusieurs facteurs, comme la trop grande différence de section efficace entre particules, au faible taux de couverture en des particules.

Références

1. J. O. Rädler, I. Koltover, T. Salditt, C. R. Safinya, Structure of DNA-Cationic Liposome Complexes: DNA Intercalation in Multilamellar Membranes in Distinct Interhelical Packing Regimes. *Science* 275, 810-814 (1997); published online Epub February 7, 1997 (10.1126/science.275.5301.810).
2. F. Artzner, R. Zantl, G. Rapp, J. O. Rädler, Observation of a Rectangular Columnar Phase in Condensed Lamellar Cationic Lipid-DNA Complexes. *Physical Review Letters* 81, 5015-5018 (1998).
3. R. Zantl, L. Baicu, F. Artzner, I. Sprenger, G. Rapp, J. O. Rädler, Thermotropic Phase Behavior of Cationic Lipid-DNA Complexes Compared to Binary Lipid Mixtures. *The Journal of Physical Chemistry B* 103, 10300-10310 (1999); published online Epub 1999/11/01 (10.1021/jp991596j).
4. G. Caracciolo, D. Pozzi, R. Caminiti, G. Mancini, P. Luciani, H. Amenitsch, Observation of a Rectangular DNA Superlattice in the Liquid-Crystalline Phase of Cationic Lipid/DNA Complexes. *Journal of the American Chemical Society* 129, 10092-10093 (2007); published online Epub 2007/08/01 (10.1021/ja073890s).
5. E. Henry, A. I. Dif, M. Schmutz, L. Legoff, F. B. Amblard, V. r. Marchi-Artzner, F. Artzner, Crystallization of Fluorescent Quantum Dots within a Three-Dimensional Bio-Organic Template of Actin Filaments and Lipid Membranes. *Nano Letters* 11, 5443-5448 (2011); published online Epub 2011/12/14 (10.1021/nl203216q).
6. E. Henry, Université de Rennes 1, (Thèse 2007).
7. A. Dif, E. Henry, F. Artzner, M. Baudy-Floc, M. Schmutz, M. Dahan, V. Marchi-Artzner, Interaction between Water-Soluble Peptidic CdSe/ZnS Nanocrystals and Membranes: Formation of Hybrid Vesicles and Condensed Lamellar Phases. *Journal of the American Chemical Society* 130, 8289-8296 (2008) 10.1021/ja711378g).
8. C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. *Nature* 382, 607-609 (1996); published online Epub 08/15/print (
9. A. L. Stadler, D. Sun, M. M. Maye, D. van der Lelie, O. Gang, Site-Selective Binding of Nanoparticles to Double-Stranded DNA via Peptide Nucleic Acid "Invasion". *ACS Nano* 5, 2467-2474 (2011); published online Epub 2011/04/26 (10.1021/nn101355n).
10. S. Vial, D. Nykypanchuk, K. G. Yager, A. V. Tkachenko, O. Gang, Linear Mesostructures in DNA-Nanorod Self-Assembly. *ACS Nano* 7, 5437-5445 (2013); published online Epub 2013/06/25 (10.1021/nn401413b).
11. R. J. Macfarlane, B. Lee, M. R. Jones, N. Harris, G. C. Schatz, C. A. Mirkin, Nanoparticle Superlattice Engineering with DNA. *Science* 334, 204-208 (2011)
12. Zhang, F. Lu, K. G. Yager, D. van der Lelie, O. Gang, A general strategy for the DNA-mediated self-assembly of functional nanoparticles into heterogeneous systems. *Nature Nanotechnology* 8, 865-872 (2013)

Chapitre VI: Étude des propriétés de fluorescences

Chapitre VI: Étude des propriétés de fluorescences.....	143
I. Propriétés de Fluorescence des QRs en suspension.....	145
A. Suivi de la synthèse par émission de Fluorescence	145
B. Effet de l'échange de ligands	146
C. Spectre d'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect.....	148
D. Mesures des temps de vie	149
II. Spectroscopie sur particule unique	151
A. Mesures des temps de vie	151
B. Spectres d'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect	153
III. Etude des propriétés de fluorescence sur les assemblages.....	155
A. Séchage spontané.....	155
B. Séchage dirigé organisé en « murs »	156
1. Mesures de l'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect.....	157
2. Mesure des temps de vie	158
IV. Etude des assemblages hybrides.....	160
A. Assemblage par interaction électrostatique QRs/phospholipides.....	160
B. Assemblage par hybridation de l'ADN.....	161
1. Extinction de la fluorescence.	162
2. Apparition d'un nouveau pic de fluorescence	163
3. Exaltation de la fluorescence	163
D. Discussion	165
V. Conclusion.....	166
Références	169

L'un des objectifs de cette thèse est de générer des nouvelles propriétés optiques collectives grâce à des assemblages macroscopiques de nanoparticules structurés et dirigés géométriquement. Dans les parties précédentes, nous avons mis en forme des assemblages structurés de QRs sur une grande échelle, formés des structures hybrides de QRs/phospholipide par interaction électrostatique et obtenu des assemblages de nanoparticules d'or et de QRs par hybridation de brins complémentaire d'ADN.

Dans ce chapitre, nous étudierons les propriétés d'émission de fluorescence des QRs dans les différents stades de leur préparation puis nous nous intéresserons aux assemblages que nous avons obtenus précédemment.

Les propriétés optiques sont étudiées en suspension puis sur une particule unique pour les mêmes lots de QRs. Nous continuerons par des mesures de fluorescences sur des objets formés par assemblage sous surface microstructurée. Les différentes phases obtenues sont caractérisées par spectroscopie d'émission de fluorescence ainsi que par spectroscopie de fluorescence résolue en temps.

Enfin nous étudierons les assemblages obtenus par interaction. Les phases cristallines formées par interaction entre des phases lamellaires de phospholipide avec des QRs sont analysées par spectroscopie d'émission de fluorescence. Nous terminerons par l'étude des agrégats d'or/QRs obtenus par hybridation de brins d'ADN complémentaire.

I. Propriétés de Fluorescence des QRs en suspension

Dans cette première partie nous cherchons à mieux comprendre l'origine de la fluorescence des QRs en suspension. En effet il est important de savoir si la fluorescence provient du cœur de CdSe seulement ou si le fait de faire croître une coquille de CdS engendre des modifications. Cette étude se fera grâce au suivi de l'évolution de la fluorescence des QRs lors de leur synthèse. L'effet de l'échange de ligands sur la fluorescence des QRs sera ensuite étudié. Enfin, nous nous concentrerons sur quatre lots de QRs de rapport d'aspect différents (3,6, 4,8, 6,7 et 10) dont on mesure les spectres d'émissions de fluorescence ainsi que les temps de vie fluorescence.

A. Suivi de la synthèse par émission de Fluorescence

Nous avons vu dans la partie III, qu'il est possible de suivre les variations de la fluorescence lors de la croissance de la coquille sur les germes.

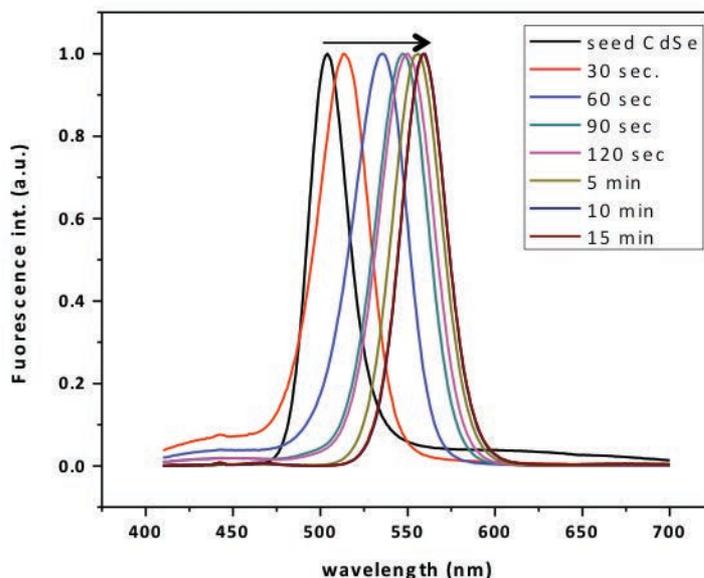


Figure.VI.1. Suivi en fluorescence dans le temps de la croissance de la coquille de CdSe sur les germes de CdS.

Lors de la synthèse des QRs, nous pouvons observer 3 phases dans le déroulement de la réaction chimique (figure.VI.1) : i) de l'injection jusqu'à environ 30 secondes (spectre noir et rouge), phase où le CdS croît sur le germe selon son axe C_3 ; ii) à partir d'une minute jusqu'à 90 secondes de réactions (deuxième phase spectre bleu à vert), nous observons alors un décalage important de l'émission de fluorescence qui semble correspondre à une phase de croissance de la coquille autour du germe et non plus selon l'axe C_3 . iii) de 90 seconde jusqu'à la fin de la réaction, où la croissance se fait à nouveau surtout selon l'axe C_3 de la particule.

Du fait de ce décalage vers de plus grandes longueurs d'onde, la croissance d'une coquille de CdS sur un germe de CdSe, diminue la valeur du gap en énergie qui permet de former la paire électron-trou.

B. Effet de l'échange de ligands

Après la synthèse en milieu organique, les QRs sont fonctionnalisés par des dérivés peptidiques. Comme nous voulons obtenir des assemblages de particules fluorescentes, il est important de vérifier si cet échange ne modifie pas de façon importante les propriétés optiques des QRs.

La première étape dans cette caractérisation est la comparaison des spectres d'émission de fluorescence des QRs avant et après échange de ligand.

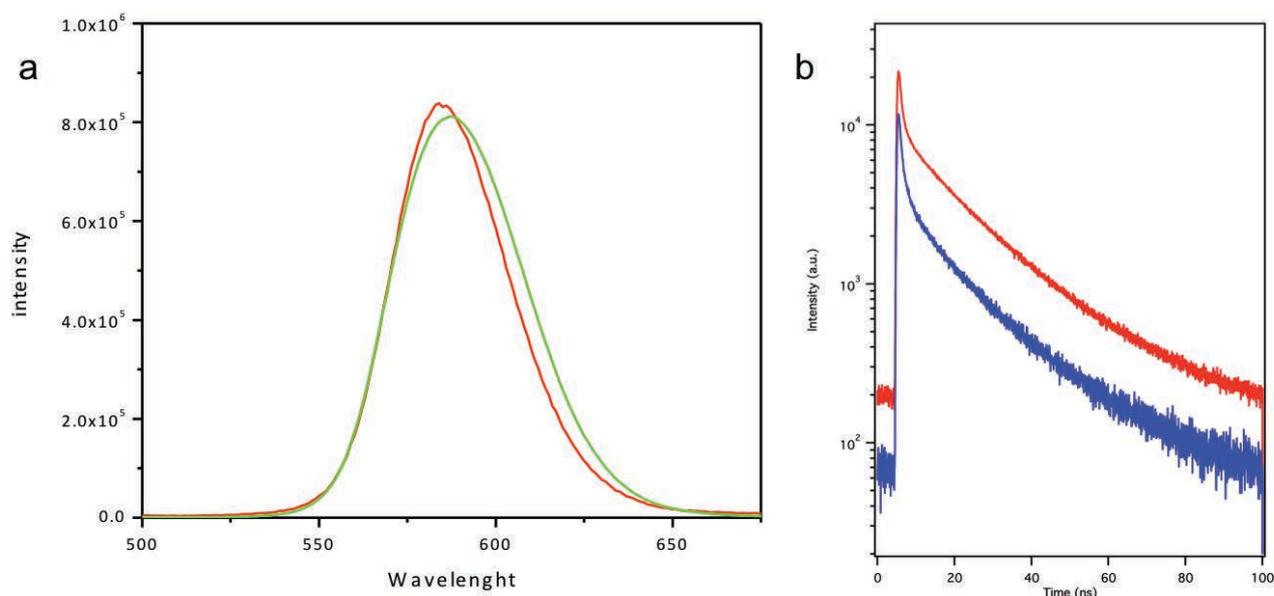


Figure.VI.2. (a) Spectre d'émission de fluorescence des QRs en solvant organique (rouge) et en solvant aqueux après changement de ligand (vert). Le spectre des QRs en solution aqueuse est normalisé par rapport à celui des QRs en solution organique. (b) Courbe de décroissance de fluorescence des QRs hydrophobes (rouge) et hydrophiles (bleu).

Nous observons alors un léger décalage vers le rouge de 2 à 3 nm lorsque les particules se retrouvent fonctionnalisées (figure.VI.2.a). Le shift en longueur d'onde est explicable par deux phénomènes : la photooxydation des thiols^{1,2} et celle du CdS³. En effet, le greffage de thiols à la surface des QRs, va introduire des niveaux énergétiques supplémentaires, qui vont constituer des pièges à la surface des QRs pour les trous. Ce qui amène un transfert de trous plus facile vers les thiols et donc une oxydation.

Nous observons également une diminution du rendement quantique de fluorescence de 55% (dans le toluène) à 40% (dans l'eau) en moyenne ce qui est comparable à la littérature.⁴

QRs en solution organique	τ (ns) (%)	19,6 (69)	6 (21)	0,8 (10)
QRs en solution aqueuse	τ (ns)(%)	18,7 (72)	5,1 (19)	0,8 (9)

Tableau.VI.1. Mesures de temps de vie sur des particules en solution organique et aqueuse.

La comparaison des mesures de temps de vie de la fluorescence entre QRs hydrophobes et hydrophiles, montre une diminution du temps de vie de 1 ns, pour la composante principale (tableau.VI.1). Cette modification relativement faible correspond également à un changement d'environnement des nanoparticules.

1. S. Tamang, G. g. Beaune, I. Texier, P. Reiss, Aqueous Phase Transfer of InP/ZnS Nanocrystals Conserving Fluorescence and High Colloidal Stability. *ACS Nano* **5**, 9392-9402 (2011).

2.S. F. Wuister, C. de Mello Donegá, A. Meijerink, Influence of Thiol Capping on the Exciton Luminescence and Decay Kinetics of CdTe and CdSe Quantum Dots. *The Journal of Physical Chemistry B* **108**, 17393-17397 (2004).

3. X. Wang, L. Qu, J. Zhang, X. Peng, M. Xiao, Surface-Related Emission in Highly Luminescent CdSe Quantum Dots. *Nano Letters* **3**, 1103-1106 (2003).

4. A. Dif, E. Henry, F. Artzner, M. Baudy-Floc, Ådh, M. Schmutz, M. Dahan, V. Marchi-Artzner, Interaction between Water-Soluble Peptidic CdSe/ZnS Nanocrystals and Membranes: Formation of Hybrid Vesicles and Condensed Lamellar Phases. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 8289-8296 (2008).

C. Spectre d'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect

Nous savons que la fonctionnalisation de QRs par des dérivés peptidiques ne modifie pas les propriétés optiques des QRs de manière trop importante. La fluorescence est gardée même si elle diminue. Nous présentons ici les caractérisations optiques de quatre types de QRs de longueurs variables (18 nm, 24nm, 40 nm et 62 nm) dans l'eau. Les mesures sont effectuées à Brookhaven National Laboratory sur chaque lot de QRs après dépôt d'une goutte sur une lame de verre. Les spectres sont enregistrés au point focal pour chaque lot. Le temps d'acquisition est de 500 ms.

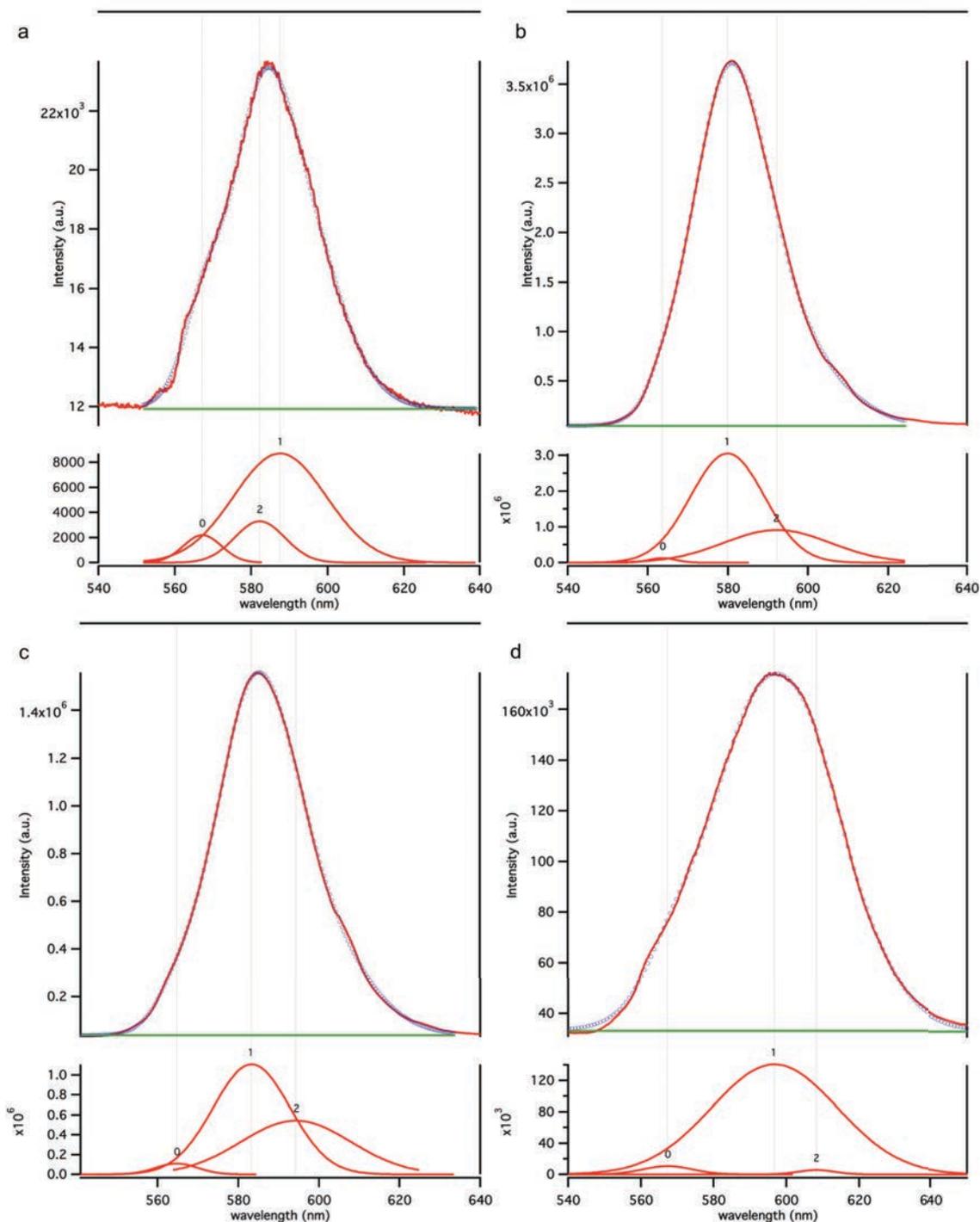


Figure.VI.3. Spectres d'émission de fluorescence des QRs 18 nm (a), 24nm (b), 40 nm(c) et 62 nm(d) dans l'eau après déconvolution par 3 gaussiennes.

Les spectres obtenus (figure.VI.3) présentent tous l'apparition de deux pics supplémentaires sous le pic principal. Par déconvolution de chaque spectre, nous voyons qu'il comporte au moins 3 composantes. La composante majoritaire semble fixer la longueur d'onde maximale de fluorescence. Les deux autres composantes indiquent la présence d'états multiples de fluorescence dans la particule (figure.VI.3 et tableau.VI.2).

Lot de QRs	λ moyen (nm)				
18 nm	584	λ (%)	566 (14)	584 (66,2)	598 (19,8)
24nm	581	λ (%)	563 (0,1)	579 (72.1)	593 (27.8)
40 nm	585	λ (%)	564 (3,3)	583 (58)	594 (38,7)
62 nm	596	λ (%)	567 (6,7)	596 (90)	608 (3,5)

Tableau.VI.2. Longueurs d'ondes correspondantes aux mesures de d'intensité de fluorescence moyenne pour chaque lot de QRs et détails de chaque pics après déconvolution.

En considérant seulement le pic moyen, nous observons que la longueur d'onde d'émission de fluorescence des QRs n'est pas corrélée à la longueur du bâtonnet (tableau.VI.2).

De plus, lorsque l'on considère les émissions de fluorescence en fonction du diamètre de chaque lot de bâtonnets, aucune corrélation n'est observée (tableau.VI.3). Les mesures sont comparables car nous avons utilisé les mêmes germes pour la synthèse des QRs de quatre longueurs différentes. Le seul élément qui diffère dans la synthèse est la concentration des précurseurs de cadmium et de soufre.

Longueur des QRs	Diamètre du bâtonnet (nm)	Longueur d'onde d'émission de fluorescence (nm)
18	$5,2 \pm 0,3$	590
24	$5,8 \pm 0,3$	581
40	$6 \pm 0,4$	585
62	$6,2 \pm 4$	596

Tableau.VI.3. Etude de la longueur d'onde d'émission maximale de fluorescence en fonction du diamètre de chaque lot de particule.

La longueur d'onde d'émission de fluorescence n'est sans doute pas seulement fonction du diamètre de la particule (coquille + germe) ni de sa longueur.

D. Mesures des temps de vie

La mesure de fluorescence résolue en temps nous permet ici d'avoir des informations sur le comportement des QRs en solution. Les mesures sont faites sur les gouttes des QRs de quatre longueurs différentes. De même que pour les mesures de fluorescence, des filtres atténuateurs neutres sont appliqués au système afin d'éviter toute saturation du détecteur. Nous observons pour les quatre longueurs de QRs (18 nm, 24nm, 40 nm et 60 nm) le même comportement : un taux de décroissance rapide de la fluorescence suivi d'un ralentissement. Dans le cas des QR 26, nous observons une diminution plus lente de la fluorescence dans les premières nanosecondes de l'enregistrement par rapport aux autres QRs. (figure.VI.4.b).

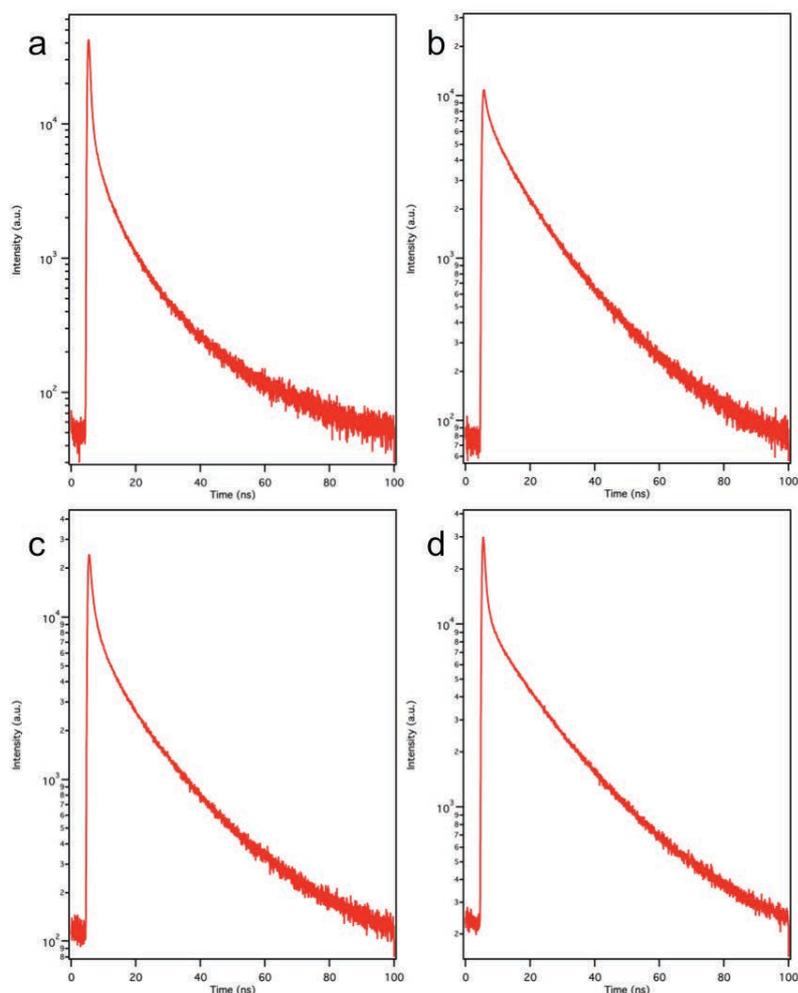


Figure.VI.4. Courbes de décroissance de fluorescence des QRs 18 nm (a), 24nm (b), 40 nm(c) et 62 nm(d) dans l'eau.

Ces courbes ont été ajustées par le logiciel ShymPhoTime, afin d'estimer le temps de vie de fluorescence des QRs (tableau.VI.4).

QR 18 nm	τ (ns) (%)	18.7 (72)	5.1 (19)	0.8 (9)
QR 26 nm	τ (ns) (%)	9.1 (73)	7.9 (20)	1.2 (7)
QR 40 nm	τ (ns) (%)	18.5 (71)	4.5 (15)	0.6 (14)
QR 62 nm	τ (ns) (%)	21 (70)	8.3 (22)	0.8 (8)

Tableau.VI.4. Mesures des temps de vie en fonction de leurs prépondérance pour chaque lot de QRs.

Nous voyons premièrement qu'il existe une composante majoritaire, qui possède un taux de décroissance long (> 18 ns). La deuxième observation est l'ajustement de courbes à 3 paramètres exponentiels (τ_1 , τ_2 , τ_3) pour chaque courbe de décroissance. Cela indique que le phénomène d'émission de fluorescence est complexe pour les QRs. Ce type de décroissance a déjà été observé pour des protéines portant un ou plusieurs tryptophanes, qui en fonction de leur environnement

respectif vont posséder des valeurs de décroissance différentes.⁵ La forme anisotrope de la particule, lui donne plus de possibilité de recombinaison électron-trou qui n'auront pas tous la même énergie et de plus la fluorescence peut provenir de différents émetteurs dans la nanoparticule.

II. Spectroscopie sur particule unique

Dans la partie précédente nous avons montré que les QRs en suspension, émettent des pics fin de fluorescence et possèdent des courbes de décroissance de fluorescence multi-exponentielle (lorsque leur concentration est de l'ordre du nanomolaire, afin d'éviter tout quenching). Afin de mieux comprendre la fluorescence de ces objets, les mesures d'intensité et d'émission ont été effectuées sur particules uniques à sec par fluorimétrie résolue en temps.

Les mesures sont faites dans les conditions suivantes : après forte dilution des QRs, une goutte de la suspension a été « spin-coaté » sur une surface de verre afin de répartir le plus d'objets uniques sur la surface, les mesures sont donc faites à sec. Un pré-scan de la surface a été effectué afin de déterminer la présence d'objets fluorescents sur la surface. Après la localisation d'un objet fluorescent, celui-ci est alors analysé. Le temps d'accumulation pour les mesures des temps de vie est de 60 secondes et le temps d'intégration des spectres d'émission de fluorescence est de 500 ms. Nous avons effectué les mesures sur chaque objet en enlevant les filtres d'absorption précédemment utilisés afin de recueillir assez de signal

A. Mesures des temps de vie

Les courbes de décroissances de l'intensité de fluorescence en fonction du temps présentent comme précédemment observé une décroissance très rapide suivi d'un ralentissement (figure.VI.5) comme celle obtenue en suspension colloïdale (figure.VI.4). Elles sont également ajustées par une triple exponentielle.

5. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence spectroscopy*. (Springer, 2006).

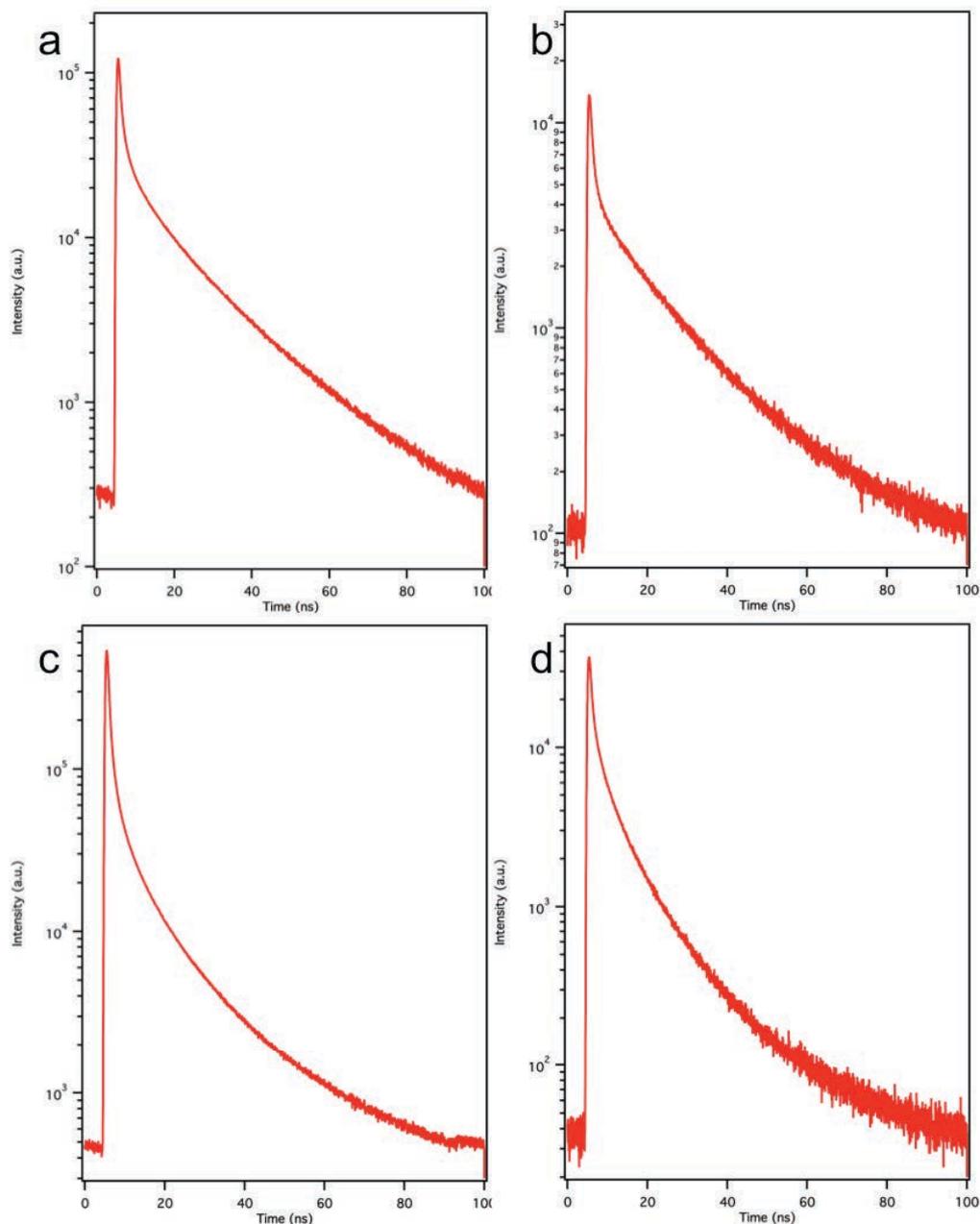


Figure.VI.5. Courbes de décroissance de fluorescence sur particule unique des QRs 18 nm (a), 24nm (b), 40 nm(c) et 62 nm(d).

Les temps de vie alors mesurés sur les particules uniques sont très proches de ceux mesuré sur les QRs en suspension (tableau.VI.5).

QR 18 nm	τ (ns) (%)	16.5 (75)	5.8 (16)	0.7 (9)
QR 24 nm	τ (ns) (%)	16 (68)	8 (22)	0.8 (10)
QR 40 nm	τ (ns) (%)	18.6 (77)	5.8 (13)	1 (10)
QR 62 nm	τ (ns) (%)	21.2 (73)	8.9 (21)	0.8 (6)

Tableau.VI.5. Mesures des temps de vie sur particule unique e pour différents lots de QR de rapports d'aspect variés.

Les légères différences sont de l'ordre de 1 à 2 ns, pourraient être attribuées au changement d'environnement de la particule. En effet nous nous trouvons dans un système de particule unique à sec. Les différentes mesures sur particule unique après séchage, permettent de dire que les propriétés spectrales ne sont pas modifiées par ces conditions.

B. Spectres d'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect

Nous observons des pics différents de ceux obtenus en suspension. Comme on peut le voir sur la figure.VI.6, les pics présentent plusieurs maxima. L'apparition de ces maxima est réversible en fonction du temps, c'est à dire que toutes les demi-secondes les maxima ne sont plus aux mêmes longueurs d'ondes. Ces variations dans l'émission de fluorescence restent dans la zone de la longueur d'onde correspondant au pic présent sur les spectres d'émission de fluorescence enregistrée en suspension.

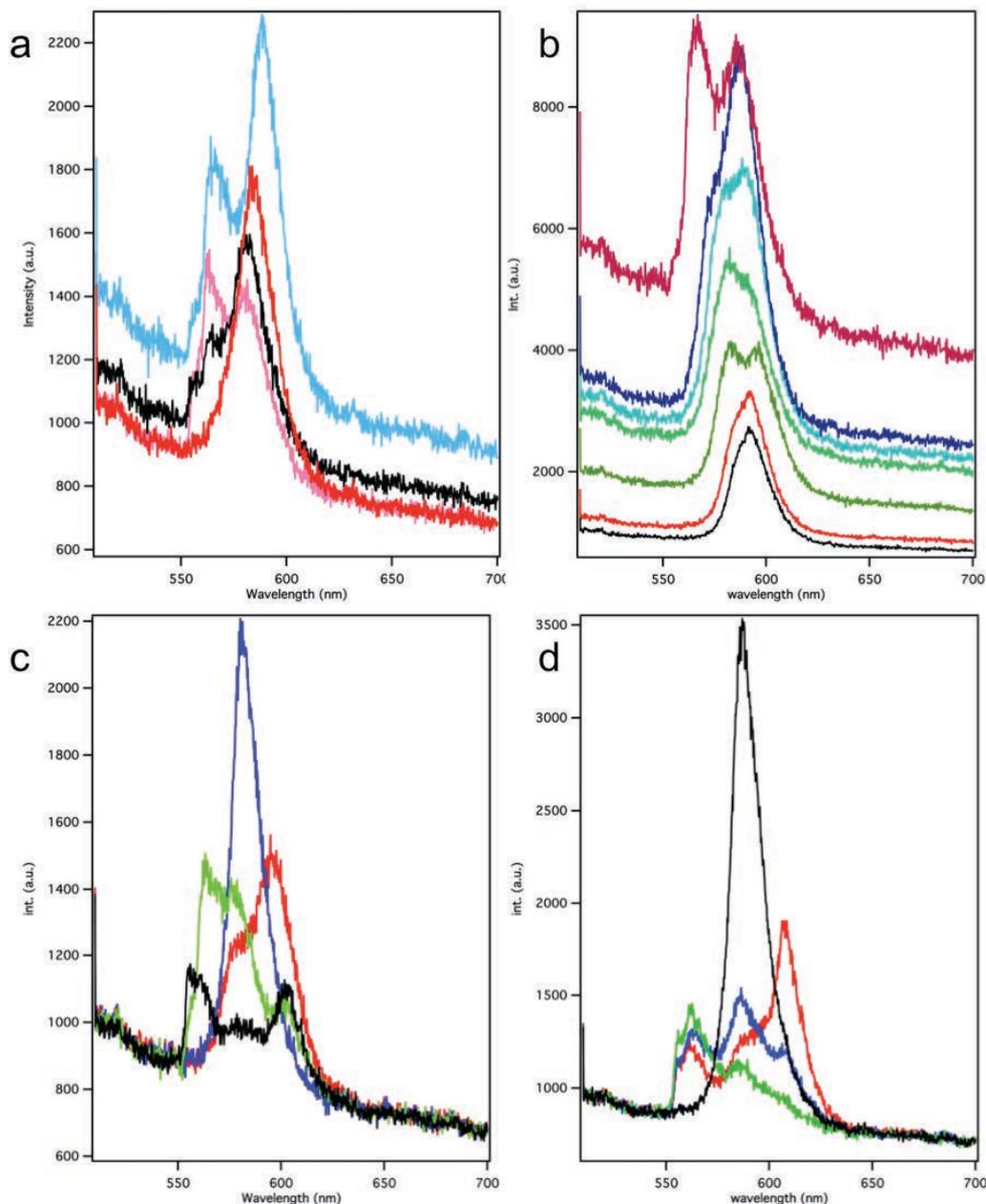


Figure.VI.6. Spectres d'émission de fluorescence sur QRs unique. QRs 18 nm (a), 24nm (b), 40 nm(c) et 62 nm(d) dans l'eau en fonction du temps. Chaque spectre est enregistré à 0,5 seconde d'intervalle.

En considérant les spectres des QRs 18 et 24nm (figure.VI.6.a et b), nous observons la formation de deux maxima simultanés. Il est également visible que lorsque il y a deux maxima quand l'intensité de l'un diminue, celle de l'autre augmente.

Dans le cas des QRs 40 et 62 nm (figure.VI.6.c et d) nous observons jusqu'à trois pics simultanés. Nous observons le même effet de diminution de l'intensité de fluorescence lorsqu'il y a plusieurs pics et l'augmentation de celle-ci lorsqu'il y a un seul pic.

Le fait d'observer plusieurs pics lors de ces mesures conforte l'hypothèse que pendant les mesures résolues en temps sur les QRs en suspension il y a plusieurs états émetteurs de photon de fluorescence. Ces mesures confirment aussi les résultats obtenus lors des mesures d'émission des spectres de fluorescences en suspension du fait de la présence de plusieurs composants dans les spectres d'émission de fluorescence.

Une autre propriété intéressante qui ressort de ces spectres est la durée de vie d'un état. En effet, nous pouvons les détecter durant au moins 500 ms. Nous pouvons en déduire qu'il existe une émission séquentielle de fluorescence dans les QRs. Les états que nous observons sont successifs et réversibles. Cela pourrait être dû à des excitations multiples dans les QRs⁶.

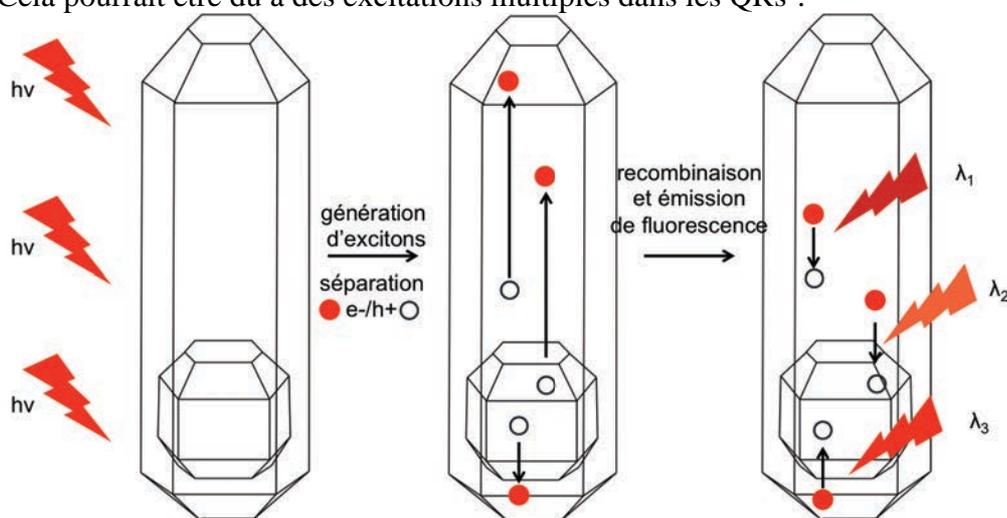


Figure.VI.7. Schéma simplifié expliquant l'émission de photons fluorescents de plusieurs énergies. Sous excitation lumineuse, le QRs génère des couples électron/trou (e^-/h^+) dans le germe mais aussi dans la coquille du fait de ses propriétés semi-conductrices, il y a séparation des charges. Lors de la recombinaison, les paires e^-/h^+ de différentes énergies émettent alors des photons de fluorescence d'énergies différentes.

En effet la présence d'un germe de CdSe dans une coquille de CdS et l'anisotropie des QRs, permet de former des excitons à la fois dans le cœur mais aussi dans la coquille (figure.VI.7), ceci implique une différence d'énergie significative entre les différents excitons et permet d'émettre des photons de différentes énergies lors de la recombinaison des paire électron/trou. Les multi-excitons sont tous émissifs dans les mesures, ce qui indique l'absence d'état dit « éteint ».

III. Etude des propriétés de fluorescence sur les assemblages.

Nous allons maintenant étudier les propriétés optiques des QRs après séchage sans intervention externe, puis sur les assemblages 3D obtenus par séchage dirigé.

A. Séchage spontané

Le séchage spontané sur un substrat aboutit généralement à une figure en tache de café. Ce type de séchage ne donne pas de structure macroscopique régulière.

Les mesures sont effectuées à l'IPR sur le montage développé par Etienne Henry sur une goutte de QRs hydrophobes ou de QRs hydrophiles déposés sur une lame de verre et séchés pendant 12h.

Les mesures d'émission de fluorescence ont été mesurées sur une goutte de suspension avant séchage afin d'obtenir une référence. Les QRs hydrophobes et hydrophiles proviennent du même lot et sont préparés à la même concentration. Dans les deux cas nous mesurons la même longueur d'émission maximale à 590 nm (figure.VI.8.a. courbe rouge et figure.VI.8.b. courbe mauve).

6. G. Zohar, R. Baer, E. Rabani, Multiexciton Generation in IV, VI Nanocrystals: The Role of Carrier Effective Mass, Band Mixing, and Phonon Emission. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 317-322 (2012).

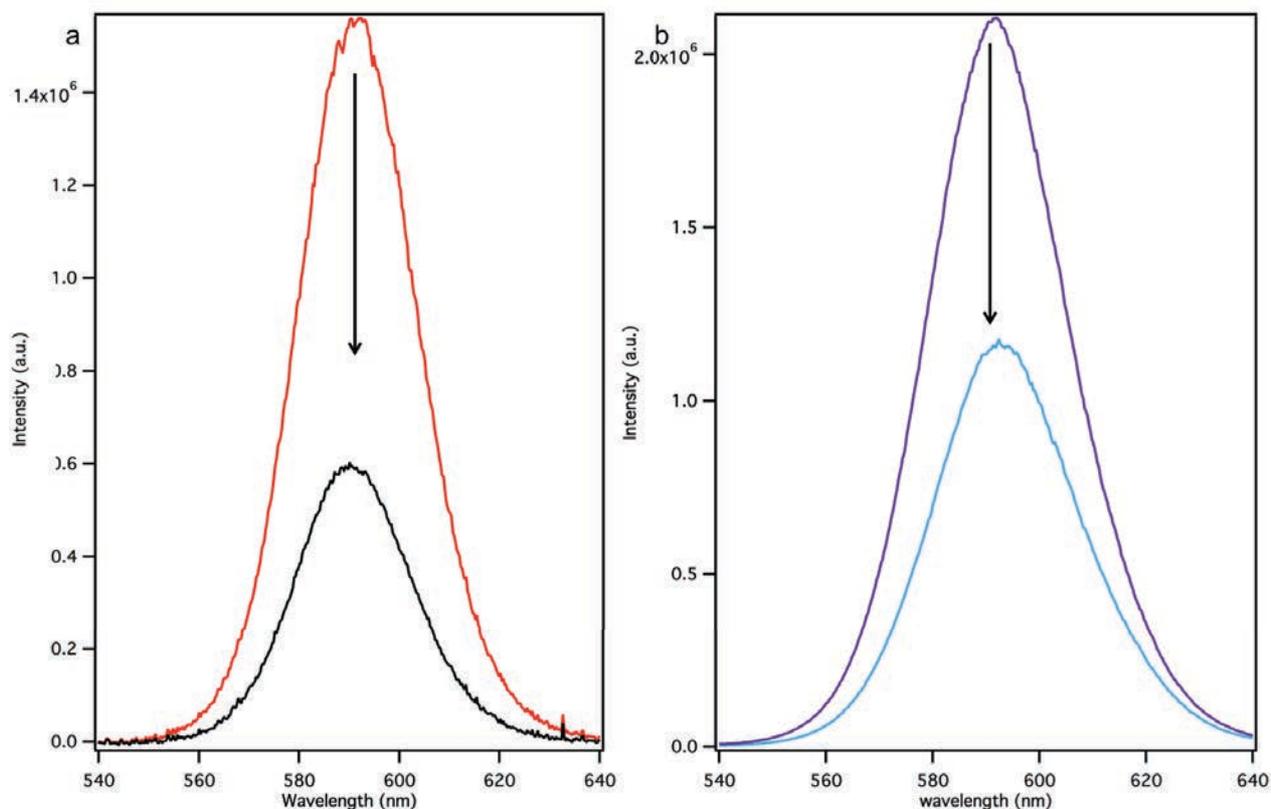


Figure.VI.8. Spectre d'émission de fluorescence des QRs 18 nm a) hydrophobes en solution (spectre rouge) et des QRs après séchage simple (spectre noir et b) hydrophiles en solution (spectre mauve) et des QRs après séchage simple (spectre bleu).

On note une différence d'intensité du spectre d'émission de fluorescence pour les QRs hydrophobes et les QRs hydrophiles qui se justifie par le changement de solvant et une légère différence de concentration. Après 12h de séchage, nous avons mesuré en différents points des deux séchages les spectres d'émission. Dans les deux cas, nous observons une diminution de l'intensité de fluorescence. Par contre les longueurs d'onde des maximum d'émission ne présentent pas de changement significatif : nous mesurons $591 \text{ nm} \pm 0,8 \text{ nm}$ pour les QRs hydrophobes secs (figure.VI.8.a courbe noire) et $592 \pm 0,6 \text{ nm}$ pour les QRs hydrophiles secs (figure.VI.8.b courbe bleue).

Il n'y a pas de modification des spectres de fluorescence. Le décalage de 1 nm est lié au séchage lui-même. En effet, les QRs sont secs et donc l'environnement des particules est différent. La diminution de l'intensité de fluorescence peut être due à une plus faible concentration des particules à l'endroit où a été effectuée la mesure ou alors à un quenching de la fluorescence à cause d'une trop forte concentration locale de QRs.

B. Séchage dirigé organisé en « murs »

La formation de cristal 3D mis en forme à l'échelle macroscopique par séchage dirigé des QRs 18 nm sous un moule de PDMS, nous permet d'effectuer des mesures sur les propriétés de fluorescence de matériaux qui, selon des études précédentes devrait posséder des propriétés de

fluorescence remarquable.⁷ Nous avons commencé par l'enregistrement des spectres d'émission de fluorescence sur les murs, puis par des mesures de fluorescence résolues en temps possibles en différents endroits du mur grâce à l'utilisation d'un microscope confocal à Brookhaven National Laboratory.

1. Mesures de l'émission de fluorescence des QRs en fonction de leurs rapport d'aspect

Nous avons mesuré sur différents murs de l'échantillon les spectres d'émissions de fluorescence et nous les avons comparé au même échantillon avant et après séchage. Les mesures effectuées en différents points de l'échantillon macrostructuré, donnent un déplacement de 9 nm vers le rouge du maximum d'intensité de fluorescence (figure.VI.9.a courbe orange) pour les QRs de 18 nm, qui forment la phase cristalline la mieux structurée.

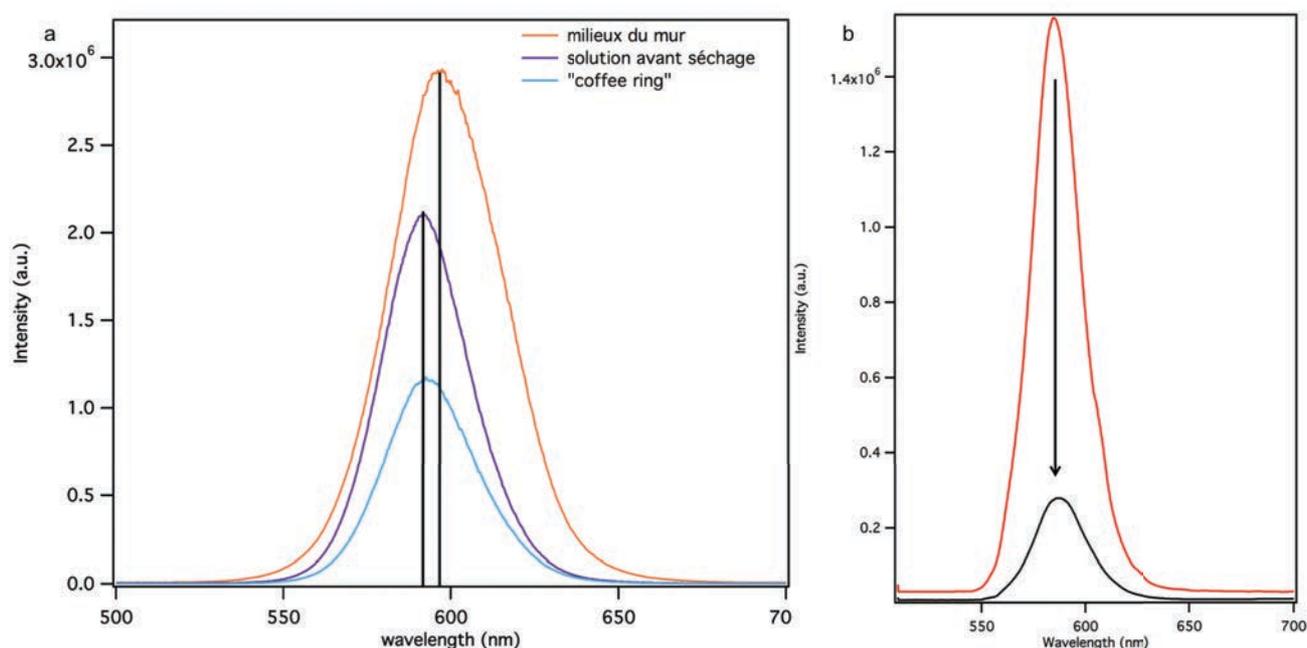


Figure.VI.9. (a) Spectres d'émission de fluorescence des QRs 18 nm au milieu du mur (spectre orange), de la solution avant séchage (spectre mauve) et séché de façon aléatoire (spectre bleu). (b) Spectres d'émission de fluorescence des QRs 40 nm au milieu du mur (spectre noir) et en solution avant séchage (spectre rouge).

Nous observons une augmentation de $\sim 40\%$ de la fluorescence par rapport au même QRs en solution et de $\sim 70\%$ par rapport au QRs séchés aléatoirement.

Les QRs de 40nm forment aussi des phases cristallines 3D après séchage dirigé, mais de qualité inférieure par rapport aux QRs 18 nm. Dans ce cas, nous obtenons une très forte diminution de l'intensité de fluorescence d'environ 90% par rapport à la suspension avant séchage et aucun déplacement du maximum de fluorescence n'est observé (figure.VI.9.b).

En conclusion l'assemblage dirigé des QRs ne doit donc pas être le seul facteur d'obtention de nouvelles propriétés. La qualité du cristal obtenu après séchage dirigé doit aussi être prise en compte. En effet, les QRs de 40 nm forment des phases smectiques tandis que les QRs de 18 nm forment des phases smectiques B type ABC (chapitre IV). Le cristal de QRs de 18 nm possédant

7. E. Henry, A. I. Dif, M. Schmutz, L. Legoff, F. B. Amblard, V. r. Marchi-Artzner, F. Artzner, Crystallization of Fluorescent Quantum Dots within a Three-Dimensional Bio-Organic Template of Actin Filaments and Lipid Membranes. *Nano Letters* **11**, 5443-5448 (2011).

une structuration 3D locale sur une plus grande échelle présente les meilleurs résultats pour l'obtention de nouvelles propriétés optiques.

2. Mesure des temps de vie

L'étude des propriétés optiques des murs est poursuivie en mesurant les temps de vie en plusieurs endroits d'un mur formé par les QRs 18 nm. En effet, grâce à la taille du faisceau laser, il est possible d'obtenir des mesures au pied du mur, puis de remonter vers le milieu d'une des faces et enfin tout en haut de celui-ci.

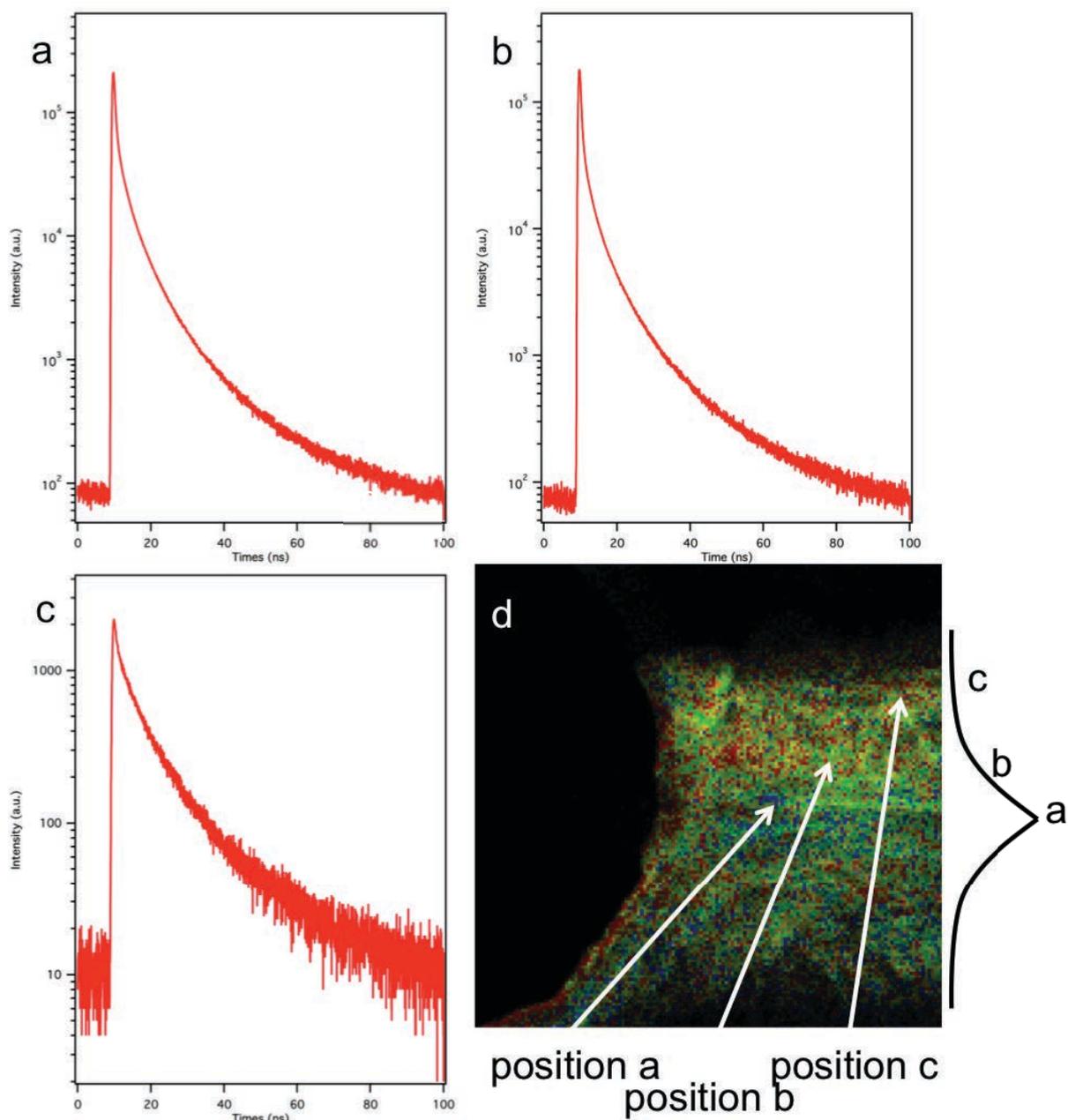
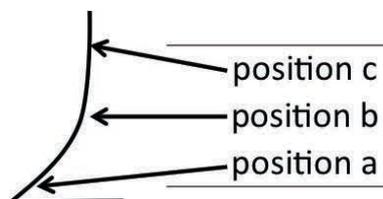


Figure.VI.10. Courbes de décroissance de la fluorescence enregistré en différent point du mur . position a (a), position b (b) et position c (c). L'image d présente le mur vu de dessus et un schéma présentant une vue de profil.

En partant de la position a et en allant vers la position c (figure.VI.10.d), nous observons une modification du spectre de la décroissance de fluorescence en intensité. En effet plus on s'éloigne de la position a plus l'intensité baisse.

En ajustant ces courbes, nous obtenons des courbes à 3 composantes exponentielles comme dans les cas précédents, mais avec des temps de vie très faibles pour la composante majeure (tableau.VI.6) inférieure à 1 ns pour les position a et b et de 5.5 ns pour la position c.



position c	τ (ns) (%)	16.4 (19)	5.5 (49)	0.8 (32)
position b	τ (ns) (%)	11.5 (5)	3.0 (25)	0.4 (69)
position a	τ (ns) (%)	11.1 (4)	3.2 (22)	0.5 (73)

Tableau.VI 6. Mesures des temps de vie des QRs de 18 nm en fonction de leurs prépondérance pour chaque position dans le mur vu de profil de la figure.VI.10.d.

De plus pour les positions a et b, les composantes secondaire et tertiaire sont également faibles en comparaison à celles obtenues précédemment. Le temps de vie de fluorescence en position c, se présente comme ceux obtenus en suspension et pour particule unique, mais avec une prépondérance différente.

Dans le cas des QRs 40 nm, nous obtenons une courbe de décroissance similaire à celle des QRs 18 nm (figure.VI.11).

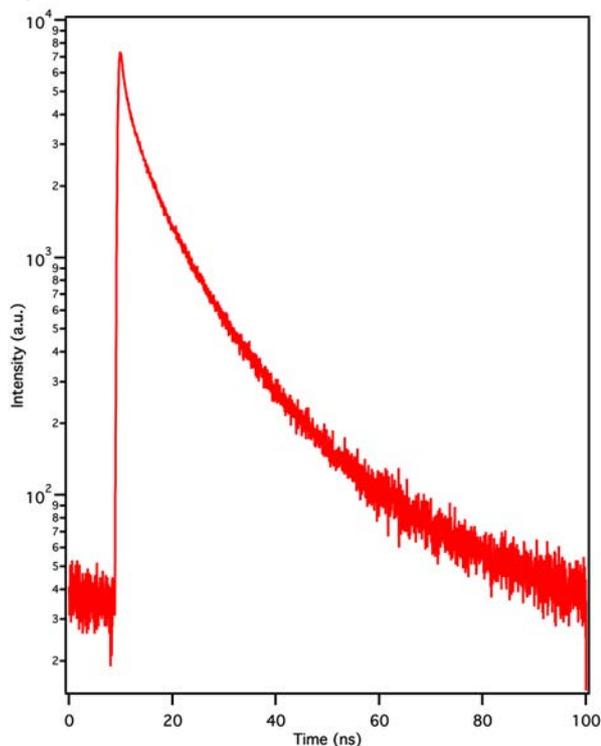


Figure.VI.11. Courbe de décroissance de la fluorescence des QRs 40 dans le mur.

Cette courbe peut être ajustée en utilisant trois composantes exponentielles. Les temps de vie en sont extraits (tableau.VI.7).

QR 40 nm	τ (ns) (%)	15.9 (18)	5.4 (51)	0.8 (31)
----------	-----------------	-----------	----------	----------

Tableau.VI.7. Mesures du temps de vie des QRS 40 nm dans le mur.

Nous observons une différence par rapport aux QRs 18 nm. La mesure prise en haut du mur pour les QRs 40 nm correspond à celle prise au pied du mur pour les QRs 18 nm. Ces mesures confirment la nécessité de posséder des structures très bien organisées localement et à grande échelle.

IV. Etude des assemblages hybrides.

Nous allons dans cette partie regarder les propriétés optiques d'assemblage obtenus par interaction électrostatique. L'étude se porte sur les assemblages QRs/SUV et AUsNP/QRs décrit dans la partie IV.

Ces assemblages sont analysés en spectroscopie de fluorescence d'émission dans le cas des SUV/QRs et en spectroscopie de fluorescence d'émission et résolue en temps pour les assemblages AUsNP/QRs.

A. Assemblage par interaction électrostatique QRs/phospholipides

Dans la partie IV, nous avons montré la formation de structures hybrides 2D QRs/phospholipides. Les particules ayant une interdistance latérale fixe, nous avons mesuré leur émission de fluorescence en différents points des fibres obtenues. Les meilleurs clichés de diffraction ayant été obtenus avec les QRs 24nm, nous avons effectué les mesures les plus poussées sur ces échantillons. Les différentes mesures effectuées en différents points ne montrent pas de modification de longueur d'onde d'émission maximale (figure.VI.12), de plus en comparant ces spectres avec la référence (figure.VI.12. courbe noire), aucune modification du spectre n'est observable. La référence a été obtenue en mesurant l'émission de fluorescence en fond de capillaire, où il n'y a pas eu formation de fibre ou d'agrégat.

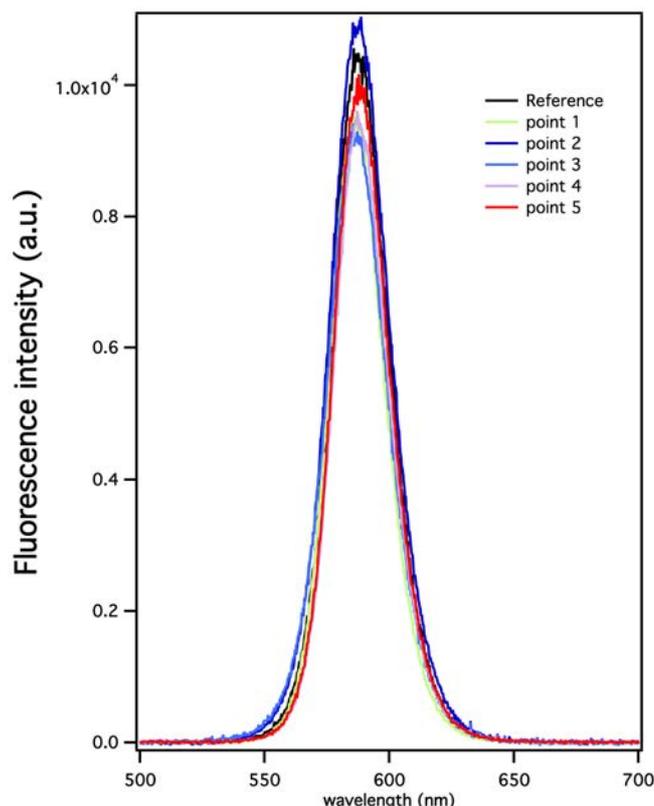


Figure.VI.12. Spectre d'émission de fluorescence en différents points de la fibre de l'assemblage QRs/SUV (couleurs) et référence (spectre noir).

Les mesures d'émission de fluorescence sur la fibre de QR/phospholipide ne montrent pas de modification du spectre. Les modifications en intensité pour chaque spectre sont faibles en les comparant les uns aux autres. Une faible modification de la longueur d'onde maximale d'émission est observable, mais celle-ci n'est que de 1,5 nm et peut correspondre au fait que les QRs possèdent un environnement différent. En effet, les QRs dans la fibre sont en présence de phospholipides auxquels ils sont liés par interaction électrostatique (figure.VI.12).

Ces mesures d'émission de fluorescence sur des cristaux 2D de QRs/phospholipides, ne montrent pas de changement ni de modification des propriétés optiques par rapport à des QRs non structurés. Cette absence de modification nous amène penser que la structuration 2D ne permet pas le couplage de l'émission de photons entre QRs comme dans le cas des murs de type smectique B ABC. De plus il faut noter quand dans les cristaux de QRs/phospholipides les QRs sont à des distances plus élevées latéralement les un des autres mais très proches longitudinalement. Nous pouvons penser que l'obtention de propriétés nouvelles ne peut se passer que lors d'interactions latérales entre QRs.

B. Assemblage par hybridation de l'ADN

Dans la partie V, nous avons montré la possibilité de former des assemblages AUsNP/QRs. Ces assemblages semblent prometteurs pour la formation d'interactions entre le plasmon de surface de la nanoparticule d'or et l'exciton des QRs. Des mesures de fluorescence résolue en temps et d'émission de fluorescence ont été effectuées sur plusieurs échantillons de ces mélanges (tableau.VI.8).

mélange	ratio NPsAu:QRs	QR	NPsAu	ADN (QR/NPsAu)	Nombre de paire de bases
0	1:1	62 nm	10 nm	3B/3B	45/45
1	1:1	18 nm	10 nm	3A/3B	45/45
2	1:1	18 nm	10 nm	3A/1B	45/30
3	1:1	18 nm	10 nm	3A/4B	45/60
4	1:1	18 nm	10 nm	3A/3B	45/45
5	1:1	18 nm	50 nm	3A/3B	45/45
6	1:1	62 nm	10 nm	3A/3B	45/45
7	1:1	62 nm	50 nm	3A/3B	45/45
8	1:1	62 nm	10 nm	3A/1B	45/30
9	1:1	62 nm	50 nm	3A/4B	45/60

Tableau.VI.8. Liste des échantillons préparés pour les mesures d'émission de fluorescence et de mesure de temps de vie de fluorescence (la partie grisée comporte les échantillons dont nous montrons les résultats).

Lors des mesures d'émission et de temps de vie de fluorescence, plusieurs comportements ont été observés. Les résultats des mesures, peuvent être divisés en trois groupes : quenching de la fluorescence, apparition de nouveaux pics et augmentation de l'intensité de fluorescence.

1. Extinction de la fluorescence.

Le premier cas est montré par l'assemblage des QRs 62 nm et des AUsNP de 50 nm, fonctionnalisés respectivement par l'ADN 3A et 3B, composés de 45 bases complémentaires dans un ratio 1 : 1 (tableau.VI.8, mélange 7).

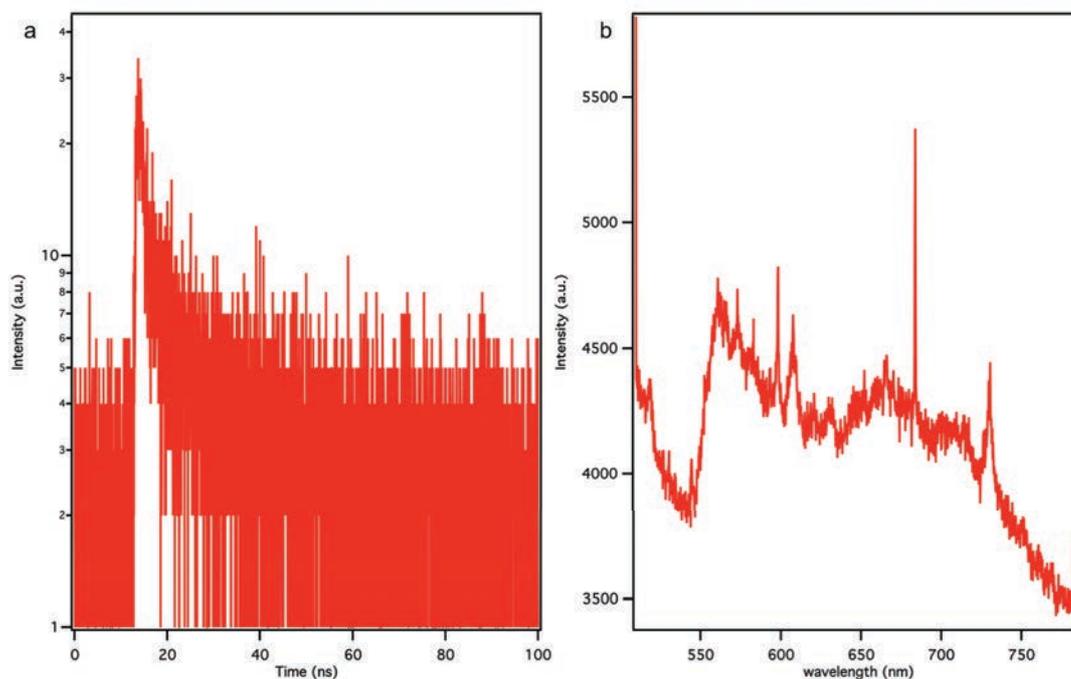


Figure.VI.13. (a) Courbe de décroissance de la fluorescence des QRs de 62 nm et (b) spectre d'émission de fluorescence après assemblage avec des NPsAu de 50 nm fonctionnalisés respectivement avec les brins d'ADN 3A et 3B .

Une extinction totale de la fluorescence est observée (figure.VI.13.b) et un temps de vie à une seule composante très faible (4,8 ns) (figure.VI.13.a) est mesuré.

Même si dans le chapitre précédent, nous avons vu que ce mélange produit des agrégats, ceux-ci ne présentent pas de propriétés de fluorescence intéressante.

2. Apparition d'un nouveau pic de fluorescence

Nous avons alors effectué des mesures (figure.VI.14) sur un nouveau mélange (tableau.VI.8, mélange 5): QRs de 18 nm et les AUsNP de 50 nm, fonctionnalisés avec les mêmes brins d'ADN que précédemment, dans un ratio 1 : 1.

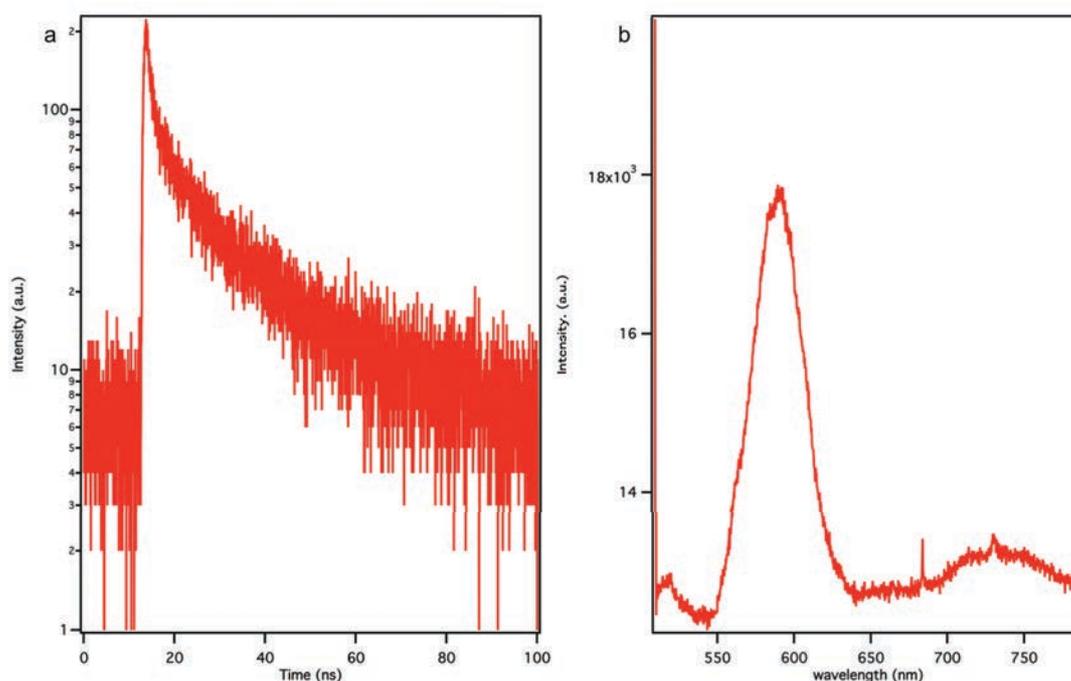


Figure.VI.14. (a) Courbe de décroissance de la fluorescence des QRs 18 nm et (b) spectre d'émission de fluorescence après assemblage avec des NPsAu de 50 nm.

Dans ce cas, nous obtenons des mesures où il n'y a pas d'effet d'extinction de la fluorescence des QRs par les particules d'or (la faible intensité des spectres est due à la faible concentration en QRs). Nous observons l'apparition d'un temps de vie long pour la composante tertiaire après ajustement de la courbe de décroissance de fluorescence (tableau.VI.9). Nous observons également l'apparition d'un pic large vers 725 nm sur le spectre d'émission de fluorescence (figure.VI.14.b).

QRs 18 nm	τ (ns) (%)	1.24 (61)	11.2 (27)	39.9 (12)
-----------	-----------------	-----------	-----------	-----------

Tableau.VI.9. Mesures du temps de vie des QRs 18 nm après assemblage avec les NPsAu.

3. Exaltation de la fluorescence

Le dernier cas est celui du mélange 6 (tableau.VI.9). Nous n'avons malheureusement pas eu la possibilité de prendre des clichés en MEB à cause de la difficulté de visualisation de l'échantillon. Mais des mesures spectroscopiques ont tout de même été effectuées. Cela concerne le mélange de QRs de 62 nm avec des particules d'or de 10 nm, fonctionnalisés avec les mêmes brins d'ADN que précédemment, dans des proportions 1 : 1 et préparés dans les mêmes conditions que les échantillons précédents.

Lors des mesures de l'intensité de la fluorescence résolue en temps, nous observons un comportement différent la courbe de décroissance de l'intensité d'émission en fonction du temps (figure.VI.15.a) par rapport à la courbe de référence des QRs 62 nm (figure.VI.4.d).

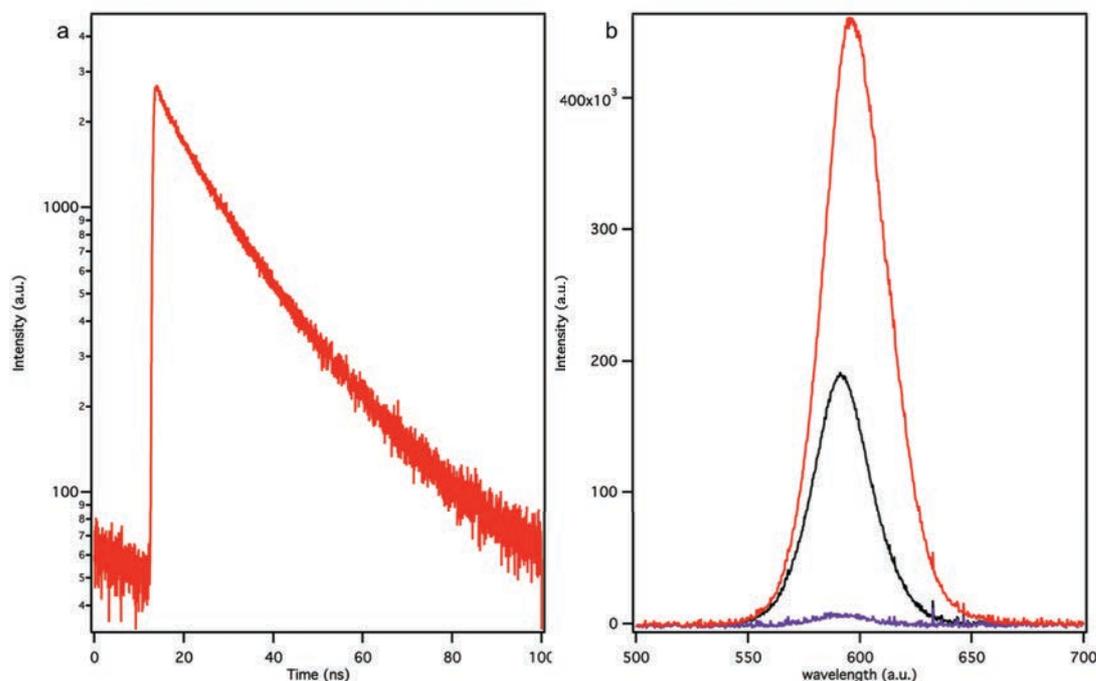


Figure.VI.15. (a) Courbe de décroissance de la fluorescence des QRs 62nm et (b) spectres d'émission de fluorescence i) après assemblage avec des NPsAu de 10nm (spectre rouge), ii) référence avant assemblage (spectre noir) et iii) mélange avec des brins d'ADN non complémentaires (spectre mauve).

Lorsque les temps de vie sont extraits de l'ajustement de la courbe, nous trouvons seulement un ajustement à 2 composantes exponentielles. Ces deux composantes sont similaires aux 2 premières composantes de la courbe de décroissance de référence (tableau.VI.4 et 10).

QRs 18 nm	τ (ns) (%)	18.1 (73)	5,95 (27)
-----------	-----------------	-----------	-----------

Tableau.VI.10. Mesure du temps de vie des QRS 62 nm en fonction de leur prépondérance après assemblage avec les NPsAu de 10 nm.

Les mesures d'émission de fluorescence montrent une augmentation en intensité de fluorescence accompagnée du décalage vers le rouge (12 nm) du spectre du mélange QRs 62 nm et AUsNP 10 nm portant des brins d'ADN complémentaires (figure.VI.14.b courbe rouge) par rapport aux QRs avant mélange avec les AUsNP (figure.VI.14.b courbe noire). Afin de confirmer que les brins d'ADN complémentaires sont nécessaires pour obtenir un tel changement, nous avons préparé les mêmes particules mais cette fois-ci avec des brins d'ADN non complémentaires (mélange 0). Nous observons alors une inhibition quasi-totale de la fluorescence des QRs (figure.VI.14.b courbe mauve).

Afin de mieux étudier les possibilités d'obtention de propriétés optiques nouvelles, nous avons également étudié d'autres mélanges de particules (tableau.VI.11). Nous avons dans un premier temps effectué le mélange 1 qui permet d'assembler les QRs de 18 nm avec les NPsAu de 10 nm afin de compléter la série de mélange avec les brins d'ADN 3A et 3B. Et dans un deuxième temps nous avons modifié les longueurs des brins d'ADN qui fonctionnalisent les particules d'or

(mélange 2, 3, 4, 8 et 9). Nous avons alors utilisé l'ADN 4B (60 paires de bases) et 1B (30 paires de bases).

Mélange	ratio NPsAu:QR s	QR	NPsAu	ADN (QR/NPsAu)	spectroscopie
1	1:1	18 nm	10 nm	3A/3B	quenching
2	1:1	18 nm	10 nm	3A/1B	quenching
3	1:1	18 nm	10 nm	3A/4B	quenching
4	1:1	18 nm	10 nm	3A/3B	quenching
8	1:1	62 nm	10 nm	3A/1B	quenching
9	1:1	62 nm	50 nm	3A/4B	quenching

Tableau.VI.11. Exemple de mélanges de NPs d'or et de QRs fonctionnalisés avec des brins d'ADN de longueurs différentes.

Nous observons alors dans tous les cas une extinction de la fluorescence des QRs.

D. Discussion

L'apparition de propriétés optiques nouvelles ne semble apparaître que lors de mélanges spécifique entre deux types de particules de section efficace réellement différente avec de l'ADN complémentaire (tableau.VI.8). Nous savons de façon sûre que cet effet est dû à une interdistance spécifique entre particules car nous avons l'apparition de propriétés optiques seulement avec une longueur de brins d'ADN, les brins 3A et 3B.

En regardant les spectres d'émission de fluorescence des QRs superposés aux spectres d'absorption des NPsAu, nous pouvons voir que le maximum d'émission de fluorescence ne coïncide pas avec le maximum d'absorption de la bande plasmon des NPsAu (figure.VI.16).

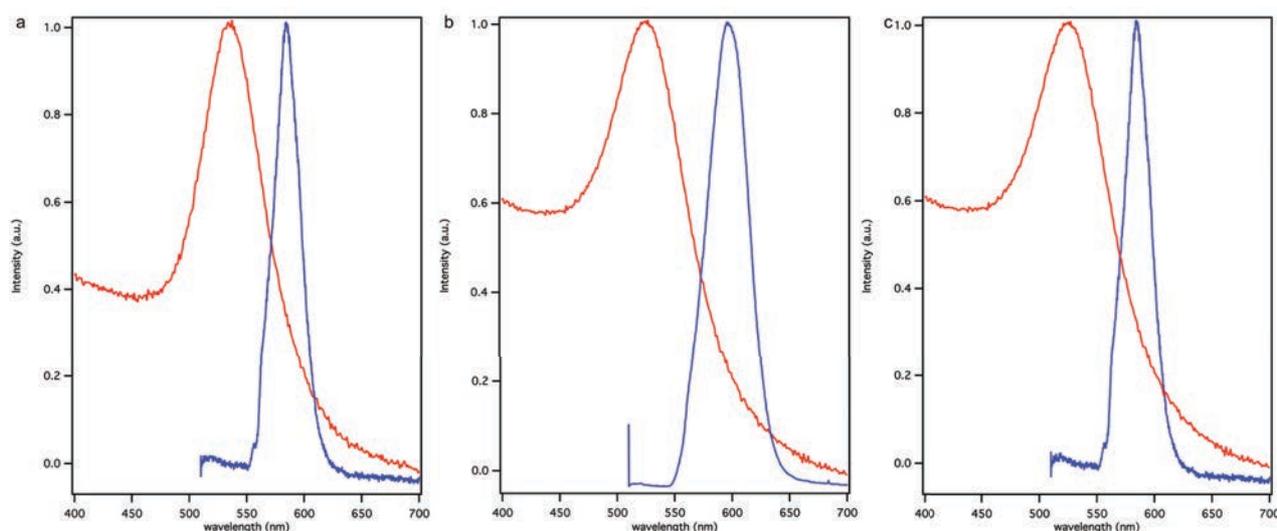


Figure.VI.16. Superposition des spectres d'absorption des NPsAu et des spectres d'émission de fluorescence des QRs : a) QRs de 18 nm avec NPsAu de 50 nm et b) QRs de 62 nm avec NPsAu de 10 nm et c) QRs de 18 nm avec NPsAu de 10 nm.

Néanmoins, les pics d'émission de fluorescence se trouvent toujours dans une région où les AuNPs absorbent. Nous pouvons alors penser que dans les deux cas, où nous observons des changements dans les propriétés optiques des QRs, il peut y avoir transfert d'énergie de fluorescence des QRs vers les NPs d'or par un processus à identifier.

Dans le cas des QRs de 62 nm avec des particules d'or de 10 nm, nous observons un phénomène différent. Cette fois-ci, le pic est décalé vers le rouge (bornes du pic). De plus, lorsqu'il est comparé à une référence (QRs en suspension à la même concentration sans or) on observe une exaltation de la fluorescence. Nous pouvons penser que cet effet est dû à la présence localisée de champ électromagnétique autour des particules d'or,⁸ ce qui exalte la fluorescence des QRs.

V. Conclusion

Dans cette partie nous avons, étudié les propriétés optiques des QRs utilisés tout au long de cette thèse en suspension dans l'eau puis sur particule unique à sec, sur des assemblages 2D et enfin 3D. Nous avons ensuite étendu ces études au mélange AUsNP/QRs.

Lors des mesures d'émission de fluorescence sur particules en suspension dans l'eau mais aussi dans le cas des mesures sur particule unique à sec, nous observons la présence de plusieurs pics d'émission de fluorescence. De plus, lors des mesures des temps de vie, une décroissance de fluorescence de type multi-exponentiel est détectée. Ces mesures permettent de confirmer la présence de multi-exciton au sein de la particule lorsqu'elle est soumise à une source lumineuse.

Des mesures d'émission et de temps de vie de fluorescence sur les assemblages de QRs par séchage dirigé ont été réalisées. Grâce à ces mesures, nous pouvons sortir deux comportements : exaltation et extinction de la fluorescence qui sont fonction de deux paramètres : i) la longueur des QRs qui influe directement sur la phase cristalline obtenue. Dans les mesures effectuées, les QRs possédant une petite longueur (18 nm) permettent de former une phase cristalline très bien organisée et donc d'obtenir une exaltation de la fluorescence tandis que des QRs plus long (40 nm), même si ils se trouvent dans la même phase cristalline sont moins bien organisés, vont montrer une extinction forte de la fluorescence ; ii) l'effet de concentration des particules, qui dépend de la position du faisceau laser dans le mur. L'exaltation va être beaucoup plus intense lorsque le faisceau est positionné sur la crête du mur et elle va diminuer lorsque l'on descend vers les pieds du mur.

Lors de la formation de structure hybride de phospholipides et de QRs, nous n'observons pas de nouvelles propriétés optiques. Dans ce cas, malgré une organisation 2D du matériau obtenu, les particules ne sont plus aussi « proches » latéralement les unes des autres, par rapport aux phases cristallines obtenues dans les murs lors de séchage dirigé.

Le cas de l'assemblage de particules d'or sphériques et de QRs grâce à l'interaction de deux brins d'ADN complémentaires présente trois types de comportements : extinction de la fluorescence, apparition d'un nouveau pic et exaltation de la fluorescence. Les deux derniers comportements sont les plus intéressants car lorsque l'on change un des paramètres de l'assemblage, la fluorescence des QRs est éteinte. En effet, si l'on modifie la taille d'un brin d'ADN en augmentant ou diminuant sa longueur pour un mélange présentant des effets optiques nouveaux, il y a extinction total de la fluorescence. En modifiant la taille d'une des particules dans le mélange qui présente par exemple une exaltation de la fluorescence (cas du mélange 6) (NPsAu de 10 nm et les QRs de 62 nm tableau.VI.8) par les particules du mélange 4, un quenching de la fluorescence des

8. O. Kulakovich et al., Enhanced Luminescence of CdSe Quantum Dots on Gold Colloids. Nano Letters 2, 1449 (2002).

QRs est observé. Il faut aussi noter que les propriétés nouvelles apparaissent dans le cas où les NPsAu et les QRs possèdent des sections efficaces très différentes.

Nous pouvons donc dire que dans le cas des assemblages de QRs seuls, la très bonne qualité du cristal mais également la présence d'interactions latérales sont nécessaires afin d'obtenir des propriétés optiques nouvelles.

Dans le cas des assemblages NPsAu et QRs, il existe une interdistance idéale entre particules ainsi qu'une forte différence de forme et de taille qui permet d'obtenir des nouvelles propriétés optiques.

De plus du fait des interdistances entre les objets, nous ne nous trouvons pas dans un régime d'interaction de type Förster, mais plutôt dans des interactions qui vont se faire grâce à la propriété d'onde électromagnétique de la lumière, ce qui permettrait une interaction à plus grande distance. Des recherches supplémentaires sont requises afin de confirmer cette hypothèse.⁹

9. **a)** E. Prodan, C. Radloff, N. J. Halas, P. Nordlander, A Hybridization Model for the Plasmon Response of Complex Nanostructures. *Science* 302, 419-422 (2003). **b)** J. B. Pendry, A. Aubry, D. R. Smith, S. A. Maier, Transformation Optics and Subwavelength Control of Light. *Science* 337, 549-552 (2012). **c)** J.-H. Song, T. Atay, S. Shi, H. Urabe, A. V. Nurmikko, Large Enhancement of Fluorescence Efficiency from CdSe/ZnS Quantum Dots Induced by Resonant Coupling to Spatially Controlled Surface Plasmons. *Nano Letters* 5, 1557-1561 (2005). **d)** A. O. Govorov, G. W. Bryant, W. Zhang, T. Skeini, J. Lee, N. A. Kotov, J. M. Slocik, R. R. Naik, Exciton-Plasmon Interaction and Hybrid Excitons in Semiconductor-Metal Nanoparticle Assemblies. *Nano Letters* 6, 984-994 (2006).

Références

1. S. Tamang, G. g. Beaune, I. Texier, P. Reiss, Aqueous Phase Transfer of InP/ZnS Nanocrystals Conserving Fluorescence and High Colloidal Stability. *ACS Nano* **5**, 9392-9402 (2011); published online Epub2011/12/27 (10.1021/nn203598c).
2. S. F. Wuister, C. de Mello Donegá, A. Meijerink, Influence of Thiol Capping on the Exciton Luminescence and Decay Kinetics of CdTe and CdSe Quantum Dots. *The Journal of Physical Chemistry B* **108**, 17393-17397 (2004); published online Epub2004/11/01 (10.1021/jp047078c).
3. X. Wang, L. Qu, J. Zhang, X. Peng, M. Xiao, Surface-Related Emission in Highly Luminescent CdSe Quantum Dots. *Nano Letters* **3**, 1103-1106 (2003); published online Epub2003/08/01 (10.1021/nl0342491).
4. A. Dif, E. Henry, F. Artzner, M. Baudy-Floc, Åh, M. Schmutz, M. Dahan, V. Marchi-Artzner, Interaction between Water-Soluble Peptidic CdSe/ZnS Nanocrystals and Membranes: Formation of Hybrid Vesicles and Condensed Lamellar Phases. *Journal of the American Chemical Society* **130**, 8289-8296 (2008)10.1021/ja711378g).
5. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence spectroscopy*. (Springer, 2006).
6. G. Zohar, R. Baer, E. Rabani, Multiexciton Generation in IV, ÅVI Nanocrystals: The Role of Carrier Effective Mass, Band Mixing, and Phonon Emission. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 317-322 (2012)10.1021/jz301892z).
7. E. Henry, A. I. Dif, M. Schmutz, L. Legoff, F. Å. Amblard, V. r. Marchi-Artzner, F. Artzner, Crystallization of Fluorescent Quantum Dots within a Three-Dimensional Bio-Organic Template of Actin Filaments and Lipid Membranes. *Nano Letters* **11**, 5443-5448 (2011); published online Epub2011/12/14 (10.1021/nl203216q).
8. E. Prodan, C. Radloff, N. J. Halas, P. Nordlander, A Hybridization Model for the Plasmon Response of Complex Nanostructures. *Science* **302**, 419-422 (2003); published online EpubOctober 17, 2003 (10.1126/science.1089171).
9. J. B. Pendry, A. Aubry, D. R. Smith, S. A. Maier, Transformation Optics and Subwavelength Control of Light. *Science* **337**, 549-552 (2012); published online EpubAugust 3, 2012 (10.1126/science.1220600).
10. J.-H. Song, T. Atay, S. Shi, H. Urabe, A. V. Nurmikko, Large Enhancement of Fluorescence Efficiency from CdSe/ZnS Quantum Dots Induced by Resonant Coupling to Spatially Controlled Surface Plasmons. *Nano Letters* **5**, 1557-1561 (2005); published online Epub2005/08/01 (10.1021/nl050813r).
11. A. O. Govorov, G. W. Bryant, W. Zhang, T. Skeini, J. Lee, N. A. Kotov, J. M. Slocik, R. R. Naik, Exciton-Plasmon Interaction and Hybrid Excitons in Semiconductor-Metal Nanoparticle Assemblies. *Nano Letters* **6**, 984-994 (2006); published online Epub2006/05/01 (10.1021/nl0602140).

Conclusion générale

L'objectif de cette thèse était de fabriquer des matériaux présentant la génération de nouvelles propriétés optiques collectives grâce à des auto-assemblages de nanoparticules structurés et dirigés géométriquement.

Plusieurs procédés ont été développés au cours de ce travail : i) l'assemblage en cristaux des QRs par séchage lent sous un moule microstructuré, ii) la formation de structures hybrides formées par des QRs et des bicouches de phospholipides et iii) l'assemblage d'objets par hybridation de brins complémentaires d'ADN entre des QRs et des particules sphériques d'or.

L'étape clés pour pouvoir réaliser ces stratégies a été le développement de systèmes chimiques adaptés à ces procédés. Pour cela, nous avons choisi des nanobâtonnets anisotropes optiquement actifs fonctionnalisés par des ligands peptidiques hydrophiles permettant une solubilisation stable dans l'eau. Cet échange de ligands les rend compatible avec les procédés d'assemblages.

Ces procédés dans des cas particuliers ont montré l'apparition d'effet optiques. L'assemblage de particules par séchage, montre un effet de superradiance, et cela, dans des systèmes chimiques très précis. En effet, l'apparition du phénomène est observée pour une phase cristalline 3D de type smectique B (ABC) de QRs de 18 nm de long fonctionnalisés par le peptide TCCPAC, chargé négativement, qui permet de fixer une interdistance moyenne entre QRs de 45Å. Pour cela, nous avons analysé des assemblages de nanobâtonnet en capillaire par rayon X. Nous avons montré qu'il existe un polymorphisme en fonction du solvant utilisé. Les séchages obtenus à partir d'un solvant organique présente le même type de phases cristallines tandis que les séchages obtenus à partir d'une solution aqueuse présentent une variation des phases cristalline en fonction de la longueur des nanobâtonnets. La meilleure structuration est obtenue pour les séchages à partir des suspensions aqueuses, où nous avons observé une phase smectique B 3D. Nous avons mis en forme les assemblage de QRs à l'échelle macroscopique par séchage entre plots, ce qui résulte en la formation de mur formant des crêtes. L'étude de ces murs par MEB et les mesures d'émission de fluorescence nous ont permis de montrer que si l'assemblage de particules ne possède pas une structuration de haute qualité, il y a absence de superradiance. Il y a donc corrélation entre l'ordre cristallin et l'observation de la superradiance.

Le procédé permettant la formation de structure hybride de QRs et de bicouche phospholipidiques (ii) quant à lui ne montre pas l'apparition de nouvel effet optique. Nous avons cependant observé la formation de structures lamellaires très fortement ondulées constituées de bicouche lipidiques et de nanobâtonnet par un effet d'attraction électrostatique entre les deux partenaires.

Finalement, l'assemblage d'objets par hybridation de brins complémentaires d'ADN présente principalement une inhibition de la fluorescence. Cependant, dans deux cas particulier, soit il y a une exaltation de la fluorescence et soit il y a apparition d'un nouveau pic de fluorescence. En effet, en faisant varier les distances entre particules mais également la taille des particules, il y a disparition ou apparition des effets optiques. Cette étude exploratoire montre qu'il existe des

conditions particulières d'interdistance et de taille d'objet idéale pour obtenir l'apparition d'effets optiques nouveaux. Cependant beaucoup de questions et de travail sur ce système restent à faire afin de comprendre quels sont les phénomènes photophysiques qui permettent l'obtention de nouvelles propriétés optiques.

Afin de réaliser ces procédés, tout ce travail est basé sur le développement et l'adaptation de la synthèse des bâtonnets de la littérature au laboratoire. Nous avons appris à contrôler et à affiner les conditions de synthèse afin d'obtenir des objets monodisperses en taille de façon reproductible. Ce travail a été possible grâce à la conception de ligands peptidique modulable a souhait. Pour cela, nous avons dû utiliser une fonction d'ancrage qui possède une affinité pour la surface des particules plus forte que celle des ligands phosphoré résultant de la synthèse. Dans ce cas, nous avons utilisé un trimère de cystéine qui grâce à les fonctions thiol portées par leurs chaînes latérales va s'ancrer fortement à la surface de la particule. Une chaîne alkyle a également été insérée dans le but d'obtenir une structuration des ligands à la surface des QRs. Afin d'obtenir des ligands soluble dans l'eau, nous avons ajouté une chaîne polyéthylène glycol à quatre unités. Finalement, une fonction terminale permettant l'introduction ou l'absence de charge, une réactivité chimique après échange de ligands a été introduites. Dans notre cas particuliers, les meilleurs résultats de fonctionnalisation et de stabilité et donc de formation de cristaux 3D sont obtenus en présence d'une fonction acide carboxylique, qui introduit une charge négative à pH neutre à la surface de la particules. Cette fonction acide carboxylique permet également l'apparition d'attraction électrostatique avec les bicouches de phospholipides et est réactive ce qui permet un couplage amide avec des brins d'ADN.

Ce travail nous a permis de montrer que la maîtrise de la chimie de surface des particules à travers l'utilisation de ligands hydrophiles, permet de moduler les phases cristallines et les interdistance entre les particules dans les structures formées. Ces modulations de structures sont essentielles pour faire apparaître de nouvelles propriétés photophysiques. De plus, peut de phénomènes collectifs de ce type ont été observés dans le cas d'interdistance entre particules supérieures au rayon de Förster. La compréhension des interactions permettant l'apparition de ces effets optiques reste cependant à comprendre et à utiliser.

- AA : Acide Aminé
- ACN : Acétonitrile
- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- AFM : Atomic Force Microscopy (microscopie à force atomique)
- CMC : concentration micellaire critique
- CTAB : cetyltriméthylammonium bromide
- kDa : Kilo Dalton
- DCM : dichlorométhane
- DLS : Diffusion Dynamique de la Lumière
- DMPC : 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine
- DMTAP : 1,2-tétradécanoyl-3-triméthylammonium-propane
- DIPEA : N,N-diisopropyléthylamine
- EDC : -Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
- EDT : Ethane dithiol
- FIB : Focus Ion Beam
- Fmoc : Chlorure de Fluorenylméthoxy-carbonyle
- FTIR Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
- HAADF : High Angle Annular dark-field imaging
- HCTU : 2-(6-Chloro-1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthylammonium hexafluorophosphate
- HPA : Acide HexylPhosphonique
- HPLC : Chromatographie en phase liquide sous haute pression
- HRTEM : Microscopie électronique à transmission à haute résolution
- ITO : Oxyde d'Indium dopé à l'Étain
- LUV : Grande vésicule uni-lamellaire
- MeOH : méthanol
- NMP : n-Méthylpyrrolidinone
- ODPA : Acide OctaDecylPhosphonique
- PDMS : polydiméthylsiloxane
- TOP : TryOctilPhosphine
- TOPO : Oxyde de TryOctilPhosphine

PEG : PolyÉthylène Glycol

RMN : Résonance magnétique nucléaire

SAXS : Diffusion des rayons X aux petits angles

SDS : Sodium dodecyl sulfate

SEM : Microscopie Électronique à balayage

Sulfo-NHS : *N*-Hydroxysulfosuccinimide

SPPS : Synthèse peptidique sur support solide

STEM : Microscope électronique à balayage par transmission

SUV : petite vésicule uni-lamellaire

t-Bu : tert-butyle ester

TEM : Microscopie électronique à transmission

TFA : Acide trifluoro acétique

TMAOH : Hydroxyde de tetraméthyl-ammonium

UV : Ultraviolet

WAXS : Diffusion des rayons X aux grands angles