



**HAL**  
open science

# Modélisation multi-échelle de biomatériaux pour des problématiques expérimentales

Jérémy Touzeau

► **To cite this version:**

Jérémy Touzeau. Modélisation multi-échelle de biomatériaux pour des problématiques expérimentales. Autre. Université Sorbonne Paris Cité, 2018. Français. NNT : 2018USPCC220 . tel-02466421

**HAL Id: tel-02466421**

**<https://theses.hal.science/tel-02466421v1>**

Submitted on 4 Feb 2020

**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 de doctorat de l'Université Sorbonne Paris Cité

Préparée à l'Université Paris Diderot

ECOLE DOCTORALE CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE ANALYTIQUE DE PARIS CENTRE (ED 388)

Laboratoire ITODYS

Equipe Chimie Théorique et Modélisation Moléculaire

**Par : Jérémie Touzeau**

Sous la direction de : Monsieur Florent Barbault

Soutenue le : 03 Décembre 2018 à Paris

---

## Modélisation multi-échelle de biomatériaux pour des problématiques expérimentales

---

### JURY :

François MAUREL	Professeur, Université Paris Diderot	Président du jury
Isabelle DEMACHY	Professeur, Université Paris-Sud	Rapporteur
Isabelle NAVIZET	Professeur, Université Paris-Est Marne-la-Vallée	Rapporteur
Hazar GUESMI	Chargé de recherches, Institut Charles Gerhardt	Examineur
David RINALDO	Docteur, Schrödinger	Examineur
Florent BARBAULT	Maitre de conférence, Université Paris Diderot	Directeur de thèse
Mahamadou SEYDOU	Maitre de conférence, Université Paris Diderot	Co-encadrant de thèse

## Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu M. François Maurel pour son accueil au sein du Laboratoire ITODYS ainsi que pour les précieux échanges scientifiques que nous avons pu avoir durant les 3 années de ma thèse.

Je voudrais également remercier l'ED388 pour son accueil au sein de l'école doctorale ainsi que son suivi tout au long de mes 3 années de thèse.

Je souhaiterais également vivement remercier M. Florent Barbault qui m'a permis d'effectuer ma thèse au sein de l'équipe de modélisation moléculaire et sous sa direction. Merci pour ton encadrement et ton investissement dans les travaux que nous avons menés ensemble durant ces 3 années, pour tes très nombreux conseils techniques et scientifiques sur la modélisation moléculaire et sur le monde de la recherche de manière générale, mais aussi pour nos nombreuses discussions autour de la vie quotidienne et ton écoute permanente. Je n'aurais pu terminer mes études de meilleure manière qu'ici.

Je remercie également très chaleureusement M. Mahamadou Seydou pour son co-encadrement aux côtés de Florent. Merci pour ces 3 années d'investissement mais aussi pour m'avoir donné goût à la modélisation il y a de cela 5 ans déjà, et avoir toujours été présent pour m'écouter et me soutenir dans les jours de doute. L'aventure scientifique était formidable mais l'aventure humaine l'était encore bien plus.

Ensuite, je tiens à remercier Isabelle Demachy, Isabelle Navizet, Hazar Guesmi, David Rinaldo et François Maurel pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail en acceptant d'être membre du jury.

Je remercie aussi Philippe Laval et Angela Mutschler pour nos travaux en collaboration sur la partie surface antimicrobienne de ma thèse. Merci à vous deux pour le partage de vos connaissances dans ce riche domaine scientifique.

Je tiens également à remercier l'équipe « Surface, Bioactive et Capteurs » du laboratoire ITODYS et plus particulièrement son directeur, Benoit Piro, ainsi que Guillaume Anquetin, pour la collaboration théorie-expérimentale que nous avons eue durant mes travaux et le temps que vous avez tous deux consacré à nos réunions et discussions.

J'adresse également de vifs remerciements à tous les collègues permanents, invités, stagiaires, doctorants et post-doctorants que j'ai pu rencontrer au sein de l'équipe de modélisation moléculaire durant mes 3 années ici. Notre partage au niveau scientifique, mais aussi au quotidien, fut des plus enrichissants pour moi. Un remerciement tout particulier pour Eric Bremond, dernier arrivant et non des moindres, qui m'a notamment appris toute la difficulté qu'il peut y avoir à parler de façon sérieuse des mollusques marins !

Je tiens également à remercier l'ensemble des collègues doctorants de l'ITODYS et du LEM que j'ai pu côtoyer durant ces 3 années, et tout particulièrement Alexis, Arnaud, Brandon, Dihia, Issam ainsi que Célia pour les multiples repas partagés ensemble et nos soirées !

Un remerciement tout particulier pour « l'équipe du jeudi midi » (Arnaud, Baptiste, Brandon, Eric, Fred, Guillaume, Juliette, Nawal et Simon) sans oublier l'infatigable Fabien.

Quelques remerciements un peu plus personnels à présent.

Je remercie en tout premier lieu mes parents pour leur soutien infaillible. Principaux moteurs de ma motivation quotidienne et de toutes mes ambitions, je vous dois l'entièreté du chemin que j'ai parcouru au travers de mes études, ainsi que le fait de ne jamais avoir baissé les bras dans aucun de mes projets, quel que soit l'obstacle à surmonter. Votre soutien a toujours été mon plus précieux atout dans la vie et je vous dédie l'intégralité de ces travaux en espérant qu'ils vous rendront fiers. Je remercie par la même occasion et pour les mêmes raisons, ma famille pour leur soutien durant toutes ces années, sans lequel je ne serais jamais allé aussi loin dans mes études.

Je voudrais également prendre le temps de remercier Océane. Si je peux citer la motivation que représente le soutien de mes parents, je ne peux pas ignorer la motivation que vouloir te rendre fière de moi a pu m'apporter. Tu as toujours su balayer mes doutes, dans ma vie personnelle comme dans mes études, m'aiguiller dans mes choix et je ne serais pas la personne que je suis aujourd'hui sans toi. Tu es la grande sœur que je n'ai jamais eue.

Un immense merci à ma seconde famille pour tout son soutien et l'amour de chacun d'entre eux. Les moments passés ensemble m'ont toujours été des plus précieux pour relativiser, décompresser et affronter sereinement le quotidien.

Merci aussi à toi Marion, qui a eu la lourde tâche de me supporter plus que les autres dans la dernière ligne droite et qui m'a rendu le quotidien bien plus joyeux.

Enfin je voudrais remercier toutes mes rencontres liées à la PAB production, pour la culture du sérieux et de la rigueur que nous avons toujours partagée et qui m'a été d'une très grande aide durant mes 3 années de thèses. J'en profite pour adresser un remerciement tout particulier à Tatiana, tu n'es pas ma précieuse alliée pour rien !

**Merci à tous !**

# Table des matières

Liste des abréviations .....	9
Introduction générale.....	11
<b>Chapitre 1 : Les interactions biomolécules surface d'un point de vue théorique : état de l'art et méthode.....</b>	<b>17</b>
<b>1. Les interactions biomolécules-surface en chimie théorique .....</b>	<b>18</b>
1.1. Les méthodes quantiques .....	18
1.2. Les méthodes de mécanique moléculaire.....	21
<b>2. Méthodes de calculs .....</b>	<b>24</b>
2.1. Les méthodes quantiques .....	24
2.2. Les méthodes de mécanique moléculaire.....	30
<b>Bibliographie .....</b>	<b>41</b>
<b>Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes .....</b>	<b>51</b>
<b>1. Les biocapteurs .....</b>	<b>52</b>
1.1. Historique .....	52
1.2. Définition.....	52
1.3. Classification des biocapteurs .....	53
1.4. Les transistors à effet de champ .....	58
<b>2. Les surfaces intelligentes.....</b>	<b>62</b>
2.1. Les peptides antimicrobiens.....	63
2.2. La dihydroxyphénylalanine.....	65
2.3. Staphylococcus Aureus.....	67
<b>Problématiques de la thèse .....</b>	<b>69</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>71</b>
<b>Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène .....</b>	<b>81</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>82</b>
<b>2. Détails techniques .....</b>	<b>84</b>
<b>3. Présentation des systèmes étudiés.....</b>	<b>85</b>
<b>4. Etude théorique de systèmes construits expérimentalement.....</b>	<b>87</b>
4.1. Exploration de la surface d'énergie potentielle .....	87
4.2. Dynamique moléculaire : adsorption à température ambiante .....	92
4.3. Propriétés électroniques : comparaison à l'expérience.....	95
<b>5. Design de métalloporphyrines .....</b>	<b>97</b>

5.1. Effet du centre métallique .....	97
5.2. Propriétés électroniques .....	102
<b>6. Conclusion .....</b>	<b>104</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>106</b>
<b>Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur .....</b>	<b>113</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>114</b>
<b>2. Détails techniques .....</b>	<b>118</b>
<b>3. Un ligand d'intérêt : le 2.4-D .....</b>	<b>118</b>
3.1. Détermination d'une structure consensus pour l'antigène 2.4-D .....	118
3.2. Etude du 2.4-D en interaction avec l'immunoglobuline .....	122
<b>4. Un autre ligand d'intérêt : le diclofenac .....</b>	<b>127</b>
<b>5. Conclusion .....</b>	<b>135</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>137</b>
<b>Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens .....</b>	<b>143</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>144</b>
<b>2. Détails techniques .....</b>	<b>147</b>
<b>3. Séquence d'accroche .....</b>	<b>147</b>
3.1. Paramétrage de la surface d'or au niveau quantique .....	148
3.2. Etude dynamique .....	150
3.3. Etude énergétique .....	156
3.4. Simplification du système .....	164
<b>4. Système tribloc en solution .....</b>	<b>168</b>
<b>5. Système tribloc sur une surface d'or .....</b>	<b>172</b>
<b>6. Enzyme V8 protease .....</b>	<b>174</b>
6.1. Protéase en solution .....	174
6.2. Analyse structurale avec le tribloc en solution .....	181
6.3. Protéase associée au peptide tribloc adsorbé sur une surface d'or .....	183
<b>7. Cateslytine sur Au .....</b>	<b>186</b>
<b>8. Une autre surface : le quartz .....</b>	<b>187</b>
<b>9. Conclusion .....</b>	<b>191</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>192</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>197</b>

## Table des abréviations

**2.4-D**: 2,4-dichlorophénoxyacétique

**AM1**: Austin Model 1

**AuBP**: Gold Binding Protein

**DFT**: Density Functional Theory

**DPPZn**: 7,12-Diethenyle-3,8,13,17-tetraméthyle-21H,23Hporphyrine-2,18 acide dipropanoïque Zinc

**DOS**: Density of States

**EGOFET**: Electrolyte-Gated Organic Field Effect Transistor

**FAB**: Fast Antigen Binding protein

**GGA**: Generalized Gradient Approximation

**GDPPZn**: Complexe 7,12-Diethenyle-3,8,13,17-tetraméthyle-21H,23Hporphyrine-2,18 acide dipropanoïque Zinc et graphène

**GPFCl**: Complexe porphyrine de Fer(III) Chlore et graphène

**GTPPFCl**: Complexe 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphyrine Fer(III) Chlore et graphène

**GTPPMn**: Complexe 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphyrine Mn et graphène

**GTPPTi**: Complexe 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphyrine Ti et graphène

**GTPPZn**: Complexe 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphyrine Zn et graphène

**L-DOPA**: L-3,4-dihydroxyphénylalanine

**PDB**: Protein Data Bank

**PDOS**: Projected Density of State

**Peptide Tribloc**: Séquence (L-DOPA)-K-(L-DOPA)-K-(L-DOPA)-TLRGGE-RSMRLSFRARGYGFR

**PMF**: Potential of Mean Force

**SSD**: Surface Separation Distance

**TPPFCl**: 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphyrine Fer(III) Chlore



## Introduction Générale

---

Depuis près d'une décennie, les biomatériaux ont gagné tous les domaines thérapeutiques. Vaisseaux artificiels, valves cardiaques, stents ou encore prothèses (dentaire, hanche, os etc) sont autant d'éléments visant à réparer ou régénérer le corps humain et ayant pour point commun d'appartenir à la catégorie des biomatériaux. Selon la Société Européenne des Biomateriaux, il s'agit de « matériaux conçus pour interagir avec les systèmes biologiques, qu'ils participent à la constitution d'un dispositif à visée diagnostique, ou à celle d'un substitut de tissu ou d'organe, ou bien encore à celle d'un dispositif de suppléance (et d'assistance) fonctionnelle » (Park and Lakes, 2007).

Plus largement, ces systèmes présentent de nombreuses applications dans des domaines médicaux tels que l'ophtalmologie (Lentille de contact, implants, etc.), l'odontologie (orthodontie, reconstruction maxilo-faciale, etc.), la chirurgie orthopédique (prothèses articulaires, ligaments et tendons artificiels, etc.), la chirurgie cardiovasculaire (valves cardiaques, cœurs artificiels, etc.), la protection de l'individu (revêtement intelligent) ou encore dans la détection avec la construction de biocapteurs, etc.

Un grand nombre de paramètres doit être pris en compte afin d'évaluer la capacité de ces matériaux à pouvoir être par exemple implantés dans le corps humain, avec des tests *in vitro* et *in vivo* menés au préalable. Dans la confection de ces édifices biocompatibles, nous retrouvons des métaux et alliages métalliques tel que les aciers inoxydables ou le titane, qui mettent à profit une résistance importante à la corrosion et de bonnes propriétés mécaniques.

On trouve également des céramiques, telles que l'alumine et la zircone, qui sont fortement employées dans les têtes de hanches ou les implants dentaires, ainsi que des polymères qui sont soit dotés d'une fonction chimique pour l'interface matériaux-tissus (reconstruction osseuse ou ligamentaire), soit utilisables dans le cadre de la chimie orthopédique ou traumatologique.

Les biomatériaux occupent également une place importante dans le cadre de la détection de maladies et d'infections (biocapteurs) ou encore dans un rôle de traitement de pathologies et de protection contre celles-ci (surfaces intelligentes).

De nombreuses études autour de la construction de biomatériaux impliquant des biomolécules de tailles diverses ont ainsi été menées depuis le début des années 2000. Dans chacun de ces systèmes, il est nécessaire d'immobiliser ces molécules sur des surfaces afin

## Introduction Générale

---

de pouvoir détecter et/ou quantifier un signal reçu. Bon nombre d'études impliquent ainsi l'interaction d'objets biologiques et de surfaces organique ou inorganique.

Plusieurs techniques analytiques, telles que la microscopie de force atomique (AFM), la résonance de surface plasmonique (SPR) ou encore la spectrométrie photoelectronique X (XPS) permettent notamment de mesurer leur propriétés d'adsorptions. Des informations telles que l'estimation du taux de recouvrement, l'épaisseur d'un film biomoléculaire adsorbé, sur une surface, en fonction du pH ou encore des informations relatives au potentiel électrochimique peuvent ainsi être accessibles (Ithurbide et al., 2007; Payet et al., 2010). L'ensemble de ces études apporte de nombreuses informations intéressantes pour la construction de systèmes impliquant des biomatériaux.

Néanmoins, des caractéristiques à l'échelle atomique pour les biomolécules, indispensable pour la construction de ces systèmes, restent manquantes en raison de la limite de taille impliquée par les outils d'études. Par exemple des informations relatives à la structure de ces biomolécules sont souvent absentes des bases de données comme la « Protein Data Bank » (PDB). (Berman, 2000; <https://www.rcsb.org/>)

Une solution pour explorer les systèmes à une échelle atomique est l'utilisation d'outils de modélisation moléculaire. Ce champs d'étude reste cependant assez récent et amène son lot de difficultés notamment dans l'élaboration de modèles rendant parfaitement compte du système expérimental.

Ma thèse de doctorat s'inscrit dans cette problématique avec pour objectif d'utiliser des outils de modélisation moléculaire et de réaliser une étude multi-échelle (à la fois en quantique et en mécanique moléculaire) afin d'étudier des systèmes (expérimentaux) impliquant des biomolécules. Nous proposons ici une étude au sein de deux projets menés chacun en étroite collaboration avec des équipes expérimentales pour répondre à un certain nombre de questions présentes dans chacun d'entre eux.

Dans le cadre du premier projet, nous nous intéressons à un biocapteur impliquant un transistor à effet de champs de type Electrolyte-Gated Organic Field-Effect Transistors (EGOFET). Plus précisément nous étudions le système sous deux approches : une première approche autour du transistor à effet de champs et plus particulièrement de sa couche semi-conductrice, élément très important pour l'optimisation d'un transistor à effet de champs, puis une seconde approche portée cette fois-ci sur l'interaction spécifique opérant entre les

## Introduction Générale

---

biomolécules du système. Ces travaux sont menés en collaboration avec l'équipe « Surfaces Bioactive et Capteurs » de notre laboratoire, dirigée par le Professeur Benoit Piro.

Le second projet consiste en l'étude d'un système antimicrobien, construit pour lutter contre des agents pathogènes spécifiques. Ce système est composé d'une surface biocompatible et d'un peptide décomposable en 3 parties : une partie d'accroche, une partie dite « clivable » qui est capable d'être coupée par une enzyme présente à la surface de la cible spécifique, afin de libérer dans le milieu la troisième partie qui est, elle, antimicrobienne. Il s'agit donc d'un système intelligent au ciblage précis.

Dans ce cadre, mon manuscrit se décompose de la façon suivante : un premier chapitre dans lequel je propose un aperçu de l'état de l'art de la modélisation moléculaire à l'interface solide-liquide ainsi qu'un aperçu sur les méthodes de modélisation moléculaire de façon plus générale. J'aborde ensuite, dans un second chapitre, des généralités sur les biocapteurs et les surfaces biocompatibles et/ou intelligentes. Les troisième et quatrième chapitres de cette thèse seront consacrés à notre premier projet relatif au biocapteur. Enfin le cinquième chapitre sera lui dédié à notre second projet traitant de surface antimicrobienne.

### **Bibliographie**

Berman, H.M. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research* 28, 235–242.

Ithurbide, A., Frateur, I., Galtayries, A., and Marcus, P. (2007). XPS and flow-cell EQCM study of albumin adsorption on passivated chromium surfaces: Influence of potential and pH. *Electrochimica Acta* 53, 1336–1345.

Payet, V., Dini, T., Brunner, S., Galtayries, A., Frateur, I., and Marcus, P. (2010). Pre-treatment of titanium surfaces by fibronectin: in situ adsorption and effect of concentration. *Surface and Interface Analysis* 42, 457–461.

**Chapitre 1 :**

**Les interactions biomolécule-  
surface d'un point de vue  
théorique : état de l'art et  
méthode**

# Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

## Sommaire

<b>1. Les interactions biomolécules-surface en chimie théorique.....</b>	<b>18</b>
1.1. Les méthodes quantiques.....	18
1.2. Les méthodes de mécanique moléculaire.....	20
<b>2. Méthodes de calculs.....</b>	<b>24</b>
2.1. Les méthodes quantiques.....	24
2.1.1. Calculs ab initio.....	26
2.1.2. Théorie de la fonctionnel de la densité (DFT).....	27
2.1.3. Bases de calculs.....	28
2.1.4. Calculs quantiques périodiques.....	29
2.1.5. Les modèles de charges.....	29
2.2. Les Méthodes de Mécanique Moléculaire.....	30
2.2.1. Le champ de force.....	31
2.2.2. Le champ de force AMBER.....	32
2.2.3. L'amarrage moléculaire.....	34
2.2.3.1. L'algorithme de recherche.....	34
2.2.3.2. La fonction de score.....	35
2.2.4. La dynamique moléculaire.....	35
2.2.5. Les méthodes de solvatation.....	37
2.2.5.1. Solvant Explicite.....	38
2.2.5.2. Solvant implicite.....	38
2.2.6. Umbrella Sampling.....	39
<b>Bibliographie.....</b>	<b>41</b>

# Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

## 1. Les interactions biomolécules-surface en chimie théorique

Des études relatives à l'interaction entre des biomolécules et des surfaces du point de vue de la modélisation moléculaire ont déjà été menées dans la littérature. Deux approches se distinguent avec des études quantiques à l'échelle moléculaire et des études de mécanique moléculaire au niveau macroscopique.

### 1.1. Les méthodes quantiques

De l'interaction spécifique entre les espèces biologiques de taille raisonnable (inférieure à 1000 atomes) jusqu'à l'interaction entre un lien moléculaire et la surface, la modélisation moléculaire à l'échelle quantique peut apporter des réponses pertinentes. L'étude multi-échelle, de l'interaction entre les molécules d'intérêt biologique et les surfaces, est en plein essor. En effet, les interactions de ce type ne sont pas uniquement guidées par les propriétés des objets biologiques mais également par la surface elle-même via ses propriétés chimiques, mécaniques, sa structure moléculaire et sa taille. Les surfaces inorganiques auront ainsi une réactivité variable en fonction de l'espèce en interaction ainsi qu'une stabilité et une adsorption spécifique caractéristique.

D'un point de vue quantique tout d'abord, pour des raisons de ressources de calculs, les surfaces et les biomolécules de taille importante ont très souvent été étudiées séparément. Seules des biomolécules de petite taille, telles que des acides aminés, des peptides isolés, des brins d'ADN, des médicaments ont été étudiés sur des surfaces. Diverses surfaces organiques et inorganiques (métalliques comme oxydées) ont été traitées avec des méthodes basées sur la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) décrivant avec précisions des interactions covalentes, ioniques, électrostatiques ou de van der Waals grâce notamment au développement des fonctionnelles hybrides enrichies de méthodes empiriques décrivant l'effet de dispersion. (Becke, 1993)

Le code de calcul périodique Vienna Ab-Initio Simulation Package (VASP) (Kresse and Furthmüller, 1996a, 1996b; Sun et al., 2003) est un outil de chimie quantique, permettant de décrire des surfaces infinies en interaction avec des adsorbats, car il permet de conserver des informations au niveau électronique (calcul des densités d'état (DOS) et des structures

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

de bande). De plus, il bénéficie de l'implémentation de forces dispersives avec l'approche de Grimme (DFT-D2 et plus récemment DFT-D3) qui apportent des corrections respectivement aux ordres 2 et 3 (Grimme, 2006, 2011; Grimme et al., 2010) qui seraient nécessaire pour l'étude de systèmes biocompatibles.

En effet l'une des faiblesses des méthodes quantiques réside dans la prise en compte des effets dispersifs à longue distance (interactions de London), amenant ainsi à des valeurs d'énergie sous-estimées et peu, voir pas, d'interaction dans certains complexes avec des surfaces, lorsque cette interaction est de type dipôle induit-dipôle induit.

L'efficacité de l'implémentation des forces dispersives a notamment pu être démontrée avec des études sur l'adsorption de petits peptides sur graphène (Akdin et al., 2013). D'autre part des études sur les biomolécules de petite taille (acides aminés isolés) ont également vu le jour avec l'étude de leur interaction avec des surfaces oxydées au moyen de méthodes ab-initio (Arrouvel et al., 2007; Carravetta et al., 2009; Costa et al., 2008, 2011; Gambino et al., 2004, 2006; Irrera et al., 2009; Koch et al., 2011; Nonella and Seeger, 2008; Rimola et al., 2006, 2008a, 2008b, 2009).

La DFT s'avère par exemple être une bonne méthode pour étudier la formation d'une liaison covalente entre une surface inorganique et un acide aminé, et des études impliquant des acides aminés et des surfaces métalliques ont été menées (Iori et al., 2008, 2009).

Parmi les nombreux systèmes étudiés au moyen des méthodes quantiques, on retrouve les catéchols (cf. figure 2), groupement de formule  $C_6H_4(OH)_2$  (qui est un d'un grand intérêt pour le chapitre 4 de ma thèse car il s'agit d'un fragment servant à l'immobilisation).

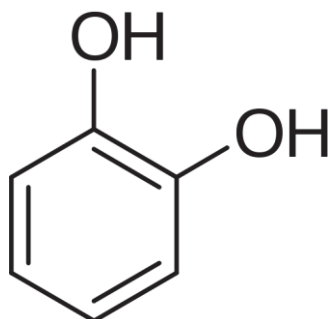


Figure 1 - Groupement chimique catéchol



## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Ainsi, Redfern *et al.* (Redfern et al., 2003) se sont intéressés à l'interaction des catéchols et de l'eau avec des particules de dioxyde de titane et ont montré que ces molécules interagissent avec les défauts de la surface de  $\text{TiO}_2$  afin de former des structures bidentates favorisant la dissociation ou l'adsorption moléculaire sur les surface anatase (101). Dans tous ces systèmes, la contribution électrostatique ainsi que celles des liaisons hydrogène et de van der Waals sont relativement importantes.

Dans le cadre d'un biocapteur il faudrait l'étudier d'abord au niveau quantique. Les résultats ainsi obtenus auraient vocation à donner une première approche assez précise sur une partie du système global (accroche d'un lien sur une surface auquel sera ensuite greffée une molécule biologique pour en faire un capteur par exemple). Un système qui serait ensuite étudié dans sa globalité grâce à des méthodes permettant l'investigation d'un nombre d'atomes plus important comme la MD à l'échelle mesoscopique.

Les calculs quantiques permettent également le paramétrage d'un champ de force en vue des calculs de mécanique moléculaire ou de MD. L'idée ici est de se baser sur l'énergie obtenue au niveau quantique pour des géométries optimisées (par exemple pour l'interaction entre un acide aminé ou l'un de ses analogues et une surface choisie), et d'ajuster les paramètres du champ de force de sorte à ce que les résultats obtenus par mécaniques moléculaires sur les plans énergétiques et géométriques soient les plus proches possible des résultats quantiques.

De nombreux exemples relatifs aux paramètres de champs de force sont disponibles dans la littérature (Bellucci et al., 2012; Carravetta and Monti, 2006; Di Felice and Corni, 2011).

Sur le même modèle, le paramétrage des interactions coulombiennes en utilisant les charges atomiques partielles générées en mécanique quantique est tout à fait envisageable.

### 1.2. Les méthodes de mécanique moléculaire

Les méthodes de mécanique moléculaire permettent d'étudier des systèmes de taille plus importante que les méthodes quantiques. En effet les simplifications drastiques de la mécanique moléculaire, explicitées dans la suite de ce chapitre, permettent d'étudier des systèmes avec un nombre d'atome très important.

Notamment cela permet :

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

- D'étudier les systèmes dans leur globalité : protéines et non plus seulement les acides aminés ; solvant explicite et force ionique adaptée
- D'explorer les surfaces d'énergie potentielle à l'aide de méthodes telles que la dynamique moléculaire

Les interactions entre deux systèmes biologiques (protéine-protéine par exemple) ont été très largement étudiées (Brooks et al., 1983; Cornell et al., 1995; Oostenbrink et al., 2004) avec une multitude de champs de force optimisés pour ce type de cas. Dans le cadre de l'étude des interactions entre molécules biologiques et surfaces inorganiques, des champs de force continuent à être développés et améliorés afin de répondre toujours mieux aux difficultés rencontrées dans le cadre de l'étude de ces complexes (Heinz et al., 2010, 2013; Kokh et al., 2010; de la Torre et al., 2009).

Les deux principaux points critiques en mécanique moléculaire sont :

- le choix du champ de force en fonction du système, un choix difficile car la description d'un matériau n'est pas simple
- la bonne représentation du solvant qui peut se faire de façon implicite grâce à l'implémentation d'un diélectrique, ou bien de façon explicite avec la représentation de toutes les molécules d'eau. Ce dernier point engendrera un coût de calcul plus important mais se révèle être un choix judicieux pour la description d'un très grand nombre de phénomènes. (Berendsen et al., 1987; Jorgensen et al., 1983; Vega et al., 2005)

En intégrant l'étude de la flexibilité, la méthode de la dynamique moléculaire nous renseigne par exemple sur la capacité d'un peptide ou d'une protéine à s'adsorber favorablement ou non sur une surface tout en donnant des informations structurales sur le groupement d'accroche. Les mouvements au cours du processus dynamique peuvent aussi mettre en lumière des changements conformationnels. (Dror et al., 2012)

Ainsi des interactions entre des molécules biologiques et diverses surfaces, ou oxydes métalliques, ont largement été étudiées grâce à cette méthode. (Diebold, 2003; Huang et al., 2014; Sun et al., 2010).

L'un des enjeux de la modélisation de systèmes « molécule biologique-eau-surface solide » réside dans la description de l'interface de ces trois objets, qui peut parfois présenter des propriétés chimiques particulières selon le cas considéré. Des facteurs tels que la structure

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

cristalline de la surface, la présence de défauts, les changements dans la nature de celle-ci (hydroxylation, oxydation, etc.) notamment à cause de la présence d'eau, sont autant de paramètres à considérer qui peuvent venir altérer l'interaction entre la molécule biologique et la surface solide. En effet, différents degrés de protonation peuvent être rencontrés selon le pH considéré, ce qui impacte la sélectivité quant à l'adsorption de protéines (Patwardhan et al., 2012).

Zou *et al.* se sont intéressés aux interactions entre diverses molécules d'intérêts biologique et le graphène grâce à la dynamique moléculaire. Ils ont notamment montré que l'interaction entre un peptide et cette surface de carbone était liée à un processus compétitif entre les résidus plans et hydrophiles qui composent le peptide et qu'il pourrait être possible de construire des peptides possédant des résidus spécifiques afin de manipuler l'interaction peptide-graphène pour obtenir une structure optimisée (Zou et al., 2017). Egalement, les interactions entre acide aminé et graphène ont été étudiées afin de déterminer d'une part, lequel d'entre eux interagissait le plus favorablement avec la surface, et d'autre part quel était le rôle de l'eau dans le processus (Camden et al., 2013).

D'autres études ont porté sur les interactions entre les biomolécules et les surfaces d'or. Par exemple, Ruan et ses collaborateurs ont mené l'étude de l'immobilisation d'un aptamère d'ARN à la flavine sur une surface d'or fonctionnalisée afin de comprendre la perte d'affinité qui était liée à cette immobilisation sur surface. Les études par MD ont mis en évidence que l'orientation de l'aptamère par rapport à la surface est en lien avec la distribution anisotrope des ions sodiums et induisent une modification sensible de la structure de l'aptamère à l'origine de la perte d'affinité (Ruan et al., 2017). Hoefling *et al.* quant à eux se sont intéressés à l'adsorption de protéines sur une surface d'or (111) qu'ils ont étudié en dynamique moléculaire. Ils ont notamment montré que l'acide aminé arginine (chargé positivement) facilitait le premier contact entre la surface d'or et les polypeptides. Ils ont également constaté que le polypeptide ne « tombait » pas sur la surface et que le processus d'adsorption demeurait rapide (Hoefling et al., 2011). Les « gold binding proteins » reconnues pour leur forte affinité pour l'or ont également fait l'objet de nombreuses études dans le cadre des interactions biomolécule-surface. Ainsi Hnilova *et al.* ont montré l'importance de la relation entre les propriétés et la structure d'une protéine y compris lorsque celle-ci s'accroche sur une surface inorganique solide. Grâce à l'étude de deux

## **Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode**

---

protéines AuBP, ils ont pu conclure que des différences en termes de propriétés d'adsorption pouvaient être corrélées suivant la conformation de la protéine étudiée. (Hnilova et al., 2008)

D'autres méthodes d'exploration peuvent également être employées dans le cadre de l'étude des interactions de systèmes biologiques avec des surfaces. Par exemple, l'amarrage moléculaire (ou « docking » en anglais) permettant de visualiser le site d'interaction entre une molécule biologique et son ligand et offre ainsi des informations précieuses dans le cadre de la conception d'un biocapteur comme la partie de celui-ci qui devra être laissée accessible à la molécule cible et la partie qui pourra être accrochée à une surface. (Jiang and Kim, 1991)

Deux revues très intéressants sur les interactions biomolécules et surfaces sont (Costa et al., 2013; Ozboyaci et al., 2016)

# Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

## 2. Méthodes de calculs

La modélisation moléculaire consiste en l'utilisation de méthodes théorique et de l'ordinateur pour représenter les structures tridimensionnelles de molécules et calculer toutes leurs propriétés (électroniques, spectroscopiques, optiques, etc.). Grâce au développement des ressources informatiques de ces trente dernières années, la modélisation a grandement évoluée. Elle permet aujourd'hui la compréhension d'un certain nombre de phénomènes tels que les mécanismes réactionnels, les interactions entre espèces, de la petite molécule organique jusqu'au système biologique tel qu'une protéine, ou encore permet la prédiction d'un grand nombre de propriétés, avec des informations structurales précieuses à l'échelle atomique.

Les différentes méthodes de modélisation moléculaire peuvent se classer en 2 catégories distinctes : méthodes de mécanique moléculaire et méthodes quantiques, chacune donnant accès à des informations avec un degré de précision variable. Les méthodes quantiques par exemple, comme explicité précédemment, mettent en jeu le niveau théorique le plus précis au prix de ressources informatiques très importantes, restreignant leur utilisation aux systèmes de tailles inférieures à 1000 atomes.

### 2.1. Les méthodes quantiques

Les méthodes quantiques (QM) décrivent explicitement les électrons en résolvant l'équation de Schrödinger. Elles donnent ainsi accès aux propriétés électroniques et permettent d'étudier les réactions chimiques mettant en jeu la formation ou la rupture de liaisons par exemple.

Pour un système stationnaire non dépendant du temps, le point de départ est la description quantique d'une particule de masse  $m$  dans un potentiel constant  $V$  grâce à l'équation de Schrödinger non dépendante du temps :

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V\right) \Psi(r) = E\Psi(r) \quad (1)$$

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Cette équation peut également s'écrire en introduisant l'opérateur Hamiltonien (équation 2).

$$H\Psi(r) = E\Psi(r) \text{ avec } H = -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V \quad (2)$$

Où  $r$  représente la position,  $\Psi(r)$  représente la fonction d'onde,  $E$  est l'énergie de l'état décrit par  $\Psi(r)$  (elle correspond à la valeur propre de l'Hamiltonien) et  $\nabla^2$  est défini par :

$$\nabla^2 = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \quad (3)$$

Dans le cas d'un système polyelectronique, il faut ainsi tenir compte des interactions entre toutes les particules constituant le système, résultant en une équation de Schrödinger dont il n'existe pas de solution analytique. On introduit ainsi des approximations apportant une aide à la résolution des cas complexes comme l'approximation de Born-Oppenheimer. Elle consiste à négliger l'énergie cinétique des noyaux compte tenu de la différence de masse entre ceux-ci et les électrons. Cette approximation suppose donc les noyaux fixes et implique que les électrons se déplacent dans le champ des noyaux immobiles.

La détermination analytique des orbitales étant, en général, impossible, on applique le principe des variations pour en chercher une valeur approchée. La plus répandue est de simuler le système par des Combinaisons Linéaires d'Orbitales Atomiques, une approximation que l'on nomme la méthode LCAO. Sur le principe de cette méthode, une orbitale moléculaire s'écrit :

$$\phi_i = \sum_i C_i \quad (4)$$

Avec  $C_i$  les coefficients LCAO. Ainsi résoudre l'équation de Schrödinger consiste ici à trouver un jeu de coefficients qui minimisera l'énergie  $E$  du système.

# Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

## 2.1.1. Calculs ab initio

Ces méthodes ont la particularité de ne pas reposer sur des bases de données empiriques pour la résolution des calculs. (Leach, 2001; Strich, 1992)

L'une d'entre elle est l'approche Hartree-Fock (Slater, 1951) dans laquelle la fonction d'onde du système peut être construite à partir du déterminant des fonctions d'onde monoélectronique : le déterminant de Slater.

Le déterminant de Slater pour un système à N électrons et N spin-orbitales est donné par l'équation 5 :

$$\Psi^{HF} = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(1) & \chi_2(1) & \chi_3(1) & \dots & \chi_N(1) \\ \chi_1(2) & \chi_2(2) & \chi_3(2) & \dots & \chi_N(2) \\ \chi_1(3) & \chi_2(3) & \chi_3(3) & \dots & \chi_N(3) \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \chi_1(N) & \chi_2(N) & \chi_3(N) & \dots & \chi_N(N) \end{vmatrix} \quad (5)$$

Où  $\chi_j(i)$  est le j spin-orbital pour un électron i (n'importe lequel des électrons peut occuper l'orbital car ils sont indiscernables). L'énergie électronique totale peut être décomposée comme la somme des énergies de chaque électron considéré comme mouvant dans le champ du noyau, de l'énergie de chaque électron dans le champ des autres électrons et de « l'interaction d'échange ». L'énergie totale quant à elle est obtenue en ajoutant à l'énergie électronique le terme d'énergie de répulsion entre les noyaux (qui est une constante selon l'approximation de Born-Oppenheimer).

Comme dit précédemment il n'existe pas de solution analytique pour l'équation de Schrödinger, mais le théorème des variations stipule qu'une solution approximée engendrera toujours une énergie plus haute que l'énergie réelle. Par conséquent, trouver des fonctions qui diminuent l'énergie calculée permet d'obtenir des approximations toujours plus proches de la réalité. En conséquence, c'est sur cette loi que repose la méthode du champ auto-cohérent (SCF) employée dans la méthode Hartree-Fock afin de d'obtenir des valeurs d'énergie de plus en plus basses jusqu'à un minimum.

# Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

## 2.1.2. Théorie de la fonctionnel de la densité (DFT)

La DFT repose sur le fait que les systèmes riches en électrons peuvent être décrits en utilisant une fonctionnelle dépendante de la densité électronique. Dans cette méthode, toutes les propriétés sont déterminées grâce à la densité électronique  $\rho(x,y,z)$  et ainsi l'énergie devient une fonctionnelle de la densité :

$$E = F(\rho) \quad (6)$$

Le problème étant de déterminer F. Cette énergie est décomposable en quatre fonctions : l'énergie cinétique T, l'énergie potentielle électron-noyaux  $V_{ne}$ , l'énergie potentielle électrons-électrons  $V_{ee}$  et le terme d'échange et corrélation  $E_{xc}$ , toutes les quatre dépendantes de  $\rho$ . (cf. équation 7)

$$E = T(\rho) + V_{ne}(\rho) + V_{ee}(\rho) + E_{xc}(\rho) \quad (7)$$

Alors que le premier terme est négligé selon l'approximation de Born Oppenheimer pour la partie de l'interaction noyau-noyau, que le second terme s'exprime facilement à partir de la densité électronique, que le troisième peut s'exprimer comme une interaction de coulomb, le quatrième terme est inconnu. L'enjeu de la DFT consiste à obtenir une approximation la plus précise possible de  $E_{xc}(\rho)$ .

En effet, la réelle difficulté est de déterminer cette partie échange et corrélation qui n'est pas connue excepté pour un gaz d'électron libre.

Les méthodes Hartree-Fock étant capable de représenter correctement la partie échange, des types de fonctionnelle dites hybrides ont été développées en incluant ces méthodes.

Pour reproduire des valeurs d'énergie, ces méthodes hybrides sont paramétrées à partir de données issues de calculs ab-initio ou expérimentales. (Hohenberg and Kohn, 1964; Kohn and Sham, 1965). C'est par exemple le cas de la fonctionnelles B3LYP (Becke, 1993). Aujourd'hui ces fonctionnelles hybrides sont les plus utilisées aussi bien pour l'étude de systèmes moléculaires que pour l'étude d'interfaces solide-liquide.



# Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

## 2.1.3. Bases de calculs

Les bases de calculs couramment utilisées mettent en jeu des combinaisons linéaires de gaussiennes s'exprimant sous la forme :

$$x^a y^b z^c e^{-\alpha r^2} \quad (8)$$

avec pour propriété intéressante que le produit de deux Gaussiennes est toujours une Gaussienne, ce qui simplifie drastiquement un certain nombre de calculs.

Il existe deux types de bases pour décrire la fonction d'onde du système : les bases d'orbitales atomiques pour décrire les systèmes moléculaires, ainsi que les bases d'ondes planes, pour décrire les systèmes périodiques, dont l'expression est la suivante :

$$\phi_j(\vec{r}) = \exp(i\vec{K} \cdot \vec{r}) \quad (9)$$

avec  $\vec{K}$  un vecteur d'onde. La taille de cette base est fixée par la valeur maximale de l'énergie  $\varepsilon$  d'une onde plane (cut-off), donnée par l'équation :

$$\varepsilon = \frac{\hbar^2 |\vec{k} + \vec{K}|^2}{2m_e} \quad (10)$$

Cette méthode est parfaitement adaptée à la symétrie cristalline et permet de n'utiliser qu'un seul paramètre : l'énergie du cut-off. De plus, près du noyau la fonction d'onde oscille rapidement alors qu'elle est monotone loin de celui-ci, entraînant une difficulté à décrire simultanément les deux comportements. Les solutions possibles sont le calcul tout électron avec une grande base, trop coûteux en termes de ressources de calcul, ou bien l'emploi de la base d'onde plane et de pseudos-potentiels. Le principe de ces dernières repose sur la séparation des électrons de valence et des électrons de cœur. On suppose que la probabilité de trouver un électron de cœur loin du noyau est quasiment nulle. On se positionne ainsi dans le cadre de l'approximation du cœur gelé. Les électrons de cœur ne sont pas traités explicitement et on remplace leurs effets sur les électrons de valence par un pseudo-

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

potentiel. Le modèle ici utilisé est celui des pseudos-potentiels projetés PAW (Projector Augmented Waves). (Kresse and Joubert, 1999)

### 2.1.4. Calculs quantiques périodiques

Pour des systèmes de taille importante impliquant des surfaces (type molécule adsorbée sur une surface) plusieurs problèmes peuvent se poser comme celui des effets de bord. En effet cette « coupure » en bout de surface engendre nécessairement un impact sur la stabilité globale du système. Une solution pour s'en affranchir est l'emploi d'un code périodique permettant une réplication du motif de base dans les 3 directions de l'espace. Egalement la richesse électronique du système implique un temps de calculs très important, qui peut être amoindri grâce au modèle d'ondes planes couplé aux pseudo-potentiels décrit ci-dessus. Lors de mes calculs, j'ai utilisé le logiciel Vienna Ab-initio Simulation Package (VASP) (Kresse, 1996) qui est un logiciel qui permet de faire des calculs ab-initio, de DFT ainsi que de dynamique moléculaire. Il permet d'étudier des systèmes 3D en utilisant les conditions aux limites périodiques.

Dans ce code de calcul, les électrons de valence sont décrits par des ondes planes et ceux de cœur par des pseudo-potentiels. La fonctionnelle pure PBE, qui a été proposée par Perdew et Wang (Perdew, 1991), a été utilisée pour tous les calculs car le logiciel VASP est optimisée pour l'utilisation de fonctionnelles pures.

### 2.1.5. Les modèles de charges

Plusieurs modèles de charges partielles sont exploitables au niveau quantique en modélisation moléculaire. Le plus courant est le modèle de Mulliken. Il correspond à une analyse de population selon Mulliken, c'est-à-dire, la distribution de charge en termes de population d'orbitales moléculaires. Pour cela elle se base sur la méthode de combinaison linéaire des orbitales atomiques (LCAO).

Les coefficients de la matrice densité sont donnés par l'équation 11.

$$D_{\mu\nu} = 2 \sum C_{\mu i} C_{\nu i}^* \quad (11)$$

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

C correspond aux coefficients LCAO, avec  $\mu$  et  $v$  les fonctions de base considérées et  $i$  l'orbitale moléculaire considérée. La méthode de Mulliken consiste à répartir sur l'ensemble des fonctions de base les  $N$  électrons, de manière égale, en tenant compte des éléments diagonaux. La répartition des charges partielles est ainsi corrélée aux orbitales de valence de l'atome considéré, amenant des approximations quant à cette répartition lorsque les atomes sont de natures chimiques proches mais de tailles différentes. Ce modèle engendre donc des approximations très critiques dans certains systèmes complexes. (Mulliken, 1955)

Parmi les autres modèles de charges atomiques existant, le modèle de Bader exploite les propriétés topologiques de la densité de charge afin de la répartir dans l'espace autour des différents noyaux atomiques. Il consiste à utiliser la densité de charge afin de diviser l'espace en volume atomique possédant chacun un unique maximum de densité de charge, et séparé des autres volumes par une zone de densité de charge minimale. Cette méthode présente ainsi l'avantage de se corrélérer à la densité de charge, qui est une grandeur quantifiable et mesurable expérimentalement, contrairement à la méthode de Mulliken qui elle se base sur une analyse de population. De plus, la densité électronique offre l'avantage de ne pas être dépendante de la base sélectionnée pour le calcul ce qui la rend beaucoup plus robuste par rapport à une méthode basée sur la fonction d'onde. Cette méthode a été largement utilisée pour évaluer les répartitions de charge dans différents systèmes en fonction de chaque atome. (BIEGLER et al., 2001; Henkelman et al., 2006; Katan et al., 2003; Madsen et al., 1999; Noury et al., 1999; Popelier, 1998; Sanville et al., 2007; Tang et al., 2009).

### 2.2. Les méthodes de mécanique moléculaire

La mécanique moléculaire est une méthode où le système est approximé car l'on y représente un ensemble noyau plus électrons. Elle est utilisée pour étudier les systèmes de taille importante. L'interaction entre les atomes est modélisée en utilisant des potentiels interatomiques (champs de force) dérivés à partir de calculs ab-initio ou de résultats expérimentaux. On obtient ainsi un accès aux propriétés thermodynamiques permettant d'étudier un très grand nombre de processus comme des interactions intermoléculaires, des interactions de molécules avec des surfaces ou encore la dynamique de protéines.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

### 2.2.1. Le champ de force

De nombreux champs de force ont été développés pour différents systèmes moléculaires, en se basant sur des fonctions d'énergie potentielles décrivant les forces inter et intra moléculaires du système, avec des énergies qui y sont calculées par rapport à la géométrie d'équilibre. L'énergie potentielle est divisée en deux contributions : une partie liante et une partie non liante. A la partie liante est associée l'énergie de liaison ( $E_{\text{liaison}}$ ), l'énergie d'angle ( $E_{\text{angle}}$ ), l'énergie d'angle de torsion ( $E_{\text{torsion}}$ ) et l'énergie d'angle impropre ( $E_{\text{impropre}}$ ) :

$$E_{\text{liante}} = E_{\text{liaison}} + E_{\text{angle}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{impropre}} \quad (12)$$

A la partie non liante est associée l'énergie de Van der Waals ( $E_{\text{vdw}}$ ), l'énergie électrostatique ( $E_{\text{électrostatique}}$ ) et dans certains champs de force à l'énergie de liaison hydrogène ( $E_{\text{Hbond}}$ ) (Leach, 2001) :

$$E_{\text{non liante}} = E_{\text{vdw}} + E_{\text{électrostatique}} + E_{\text{Hbond}} \quad (13)$$

Les champs de forces dépendent de données expérimentales ou théoriques. Les paramètres typiques contiennent des distances de liaisons, des valeurs d'angles d'équilibre et d'angles de torsion etc. De nombreux logiciels de mécanique moléculaire permettent le traitement de macromolécules comme des protéines ou de l'ADN, avec des paramètres dérivés de ceux obtenus pour des molécules organiques de taille moindre, expérimentalement et/ou théoriquement. Ceux-ci sont ensuite validés expérimentalement. (Lindorff-Larsen et al., 2012; Piana et al., 2011)

Le jeu de paramètres ainsi mis en place est souvent unique pour un champ de force spécifique et devrait ainsi ne pas être utilisé dans un autre champ de force pour garder des résultats pertinents.

Pour chaque classe de molécule, on peut trouver un champ de force adapté. Durant nos travaux, nous avons utilisé le champ de force AMBER, permettant de traiter des systèmes tels que des protéines et des acides nucléiques, des lipides, des sucres et des molécules organiques. (Pearlman et al., 1995; Wang et al., 2004)

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

### 2.2.2. Le champ de force AMBER

Développé au départ par l'équipe de Peter Kollman (Pearlman et al., 1995), le champ de force AMBER apparaît très pertinent pour l'étude de molécules biologiques.

La fonction d'énergie potentielle implémentée dans le champ de force AMBER comporte 5 contributions d'énergie pour les liaisons, les angles, les angles de torsion, les interactions de type van der Waals et électrostatiques :

$$V = \sum_{liaisons} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i0})^2 + \sum_{angles} \frac{a_i}{2} (\theta_i - \theta_{i0})^2 + \sum_{torsions} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \gamma)) + \sum_{i=1}^{NB} \sum_{j=i+1}^{NB} \left\{ \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} + \epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{r_{ij}^{min}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left( \frac{r_{ij}^{min}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right\} \quad (14)$$

Dans le premier terme où  $k_i$  correspond à la constante de raideur,  $l_i$  la longueur de liaison et  $l_0$  la longueur de liaison d'équilibre (ou de référence). Cette équation met en avant l'aspect harmonique du potentiel interatomique. Il s'agit d'une approximation du potentiel de Morse autour de la longueur d'équilibre de la liaison. Notons que, selon ce potentiel, il n'est pas possible de modéliser une rupture ou une formation de liaison.

Le second terme est un potentiel harmonique où  $a_i$  est la constante de force,  $\theta_{i0}$  est la valeur de référence pour l'angle  $i$  et  $\theta_i$  est la valeur d'angle.

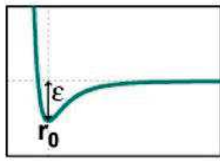
Le troisième terme traite des angles de torsions.  $V_n$  est appelé barrière d'énergie,  $n$  est la multiplicité (nombre de minimas de la fonction quand l'angle  $\omega$  varie de  $0^\circ$  à  $360^\circ$ ).  $\gamma$  est la phase à l'origine. La plupart du temps, dans AMBER, les valeurs de  $V_n$  sont identiques pour un angle dièdre donné, le terme Van der Waals (terme 1-4) affine la représentation des angles.

Le dernier terme contient les contributions de van der Waals et électrostatique. Le terme  $r_{ij}$  correspond à la distance entre les atomes  $i$  et  $j$ . Le terme en « puissance 12 » décrit le comportement à faible distance interatomique et représente la forte répulsion entre les deux atomes, alors que le terme en « puissance 6 » traduit les effets à longue distance et l'attraction due à la force de Van der Waals.  $r_{ij}$  est le rayon pour lequel l'énergie de Van der Waals est minimale (égale à  $-\epsilon_{ij}$ ).

L'expression du dernier terme de l'équation (potentiel de Lennard-Jones) peut se déduire facilement à partir de la figure 3.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

### van der Waals



$$\sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} \right]$$

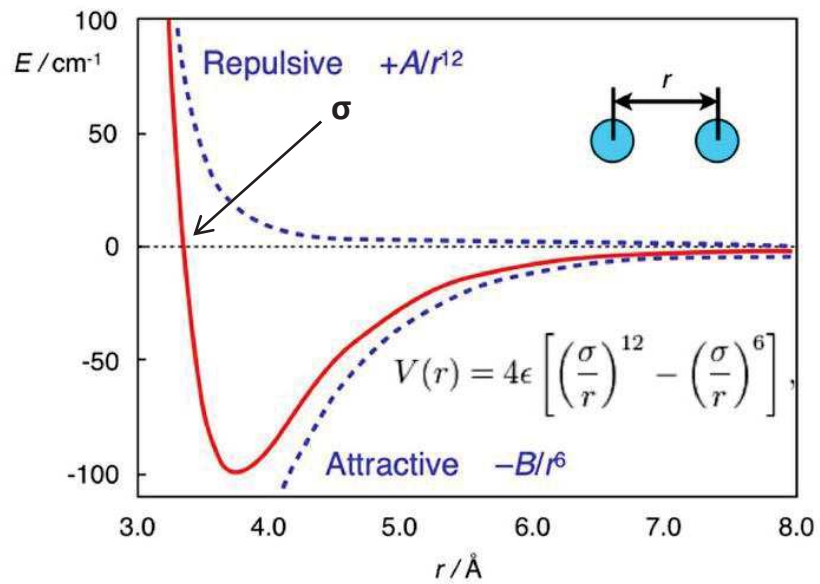


Figure 2 - Potentiel de Lennard-Jones d'après Elodie Laine, upmc

Où  $\sigma$ ,  $r_0$  (correspondant à  $r_{\min}$ ) et  $\epsilon$  sont identifiés. L'équation 15 mène ainsi à l'expression présentée précédemment.

$$V(r) = 4\epsilon \left[ \left( \frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (15)$$

Pour décrire le terme électrostatique, la loi de Coulomb est employée avec  $\epsilon_0$  qui est la constante diélectrique dans le vide,  $q_i$  et  $q_j$  sont les charges des atomes.

On peut noter que l'interaction de van der Waals entre deux atomes liés par une liaison covalente est normalement négligée. Usuellement, on considère l'interaction de van der Waals comme une interaction prise en compte à partir d'un écart de 4 atomes (1-4 vdW interaction dans AMBER). Pour certains types d'interactions, d'autres termes peuvent être ajoutés. Par exemple un terme de polarisation pour un dipôle centré sur un atome peut être considéré.

# Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

## 2.2.3. L'amarrage moléculaire

L'utilisation de l'amarrage moléculaire dans le cadre de nos travaux permet de trouver rapidement l'interaction non-liante entre 2 molécules.

Le but de la plupart des méthodes d'amarrage moléculaire est de prédire le mode de liaison d'une petite molécule dans son récepteur macromoléculaire. (Taylor et al., 2002) Les problèmes d'amarrage peuvent être séparés en deux aspects différents : générer des conformations (algorithme de recherche) du complexe cible-ligand et utiliser la bonne fonction de score pour discriminer les bonnes et mauvaises poses obtenues. Plusieurs programmes existent pour ce type de calculs tel que Autodock (Goodsell et al., 1996) que nous avons utilisé durant ces travaux de thèse.

### 2.2.3.1. L'algorithme de recherche

Pour générer des conformations, la cible est souvent considérée comme rigide. Un système de grille (nommé « grid maps » en anglais) est utilisée (cf. figure 4). L'espace autour de la cible rigide est divisé en une grille. A chaque point de cette grille, des valeurs d'énergie sont calculées en se basant sur le type atomique, les charges et la position au sein de la grille.

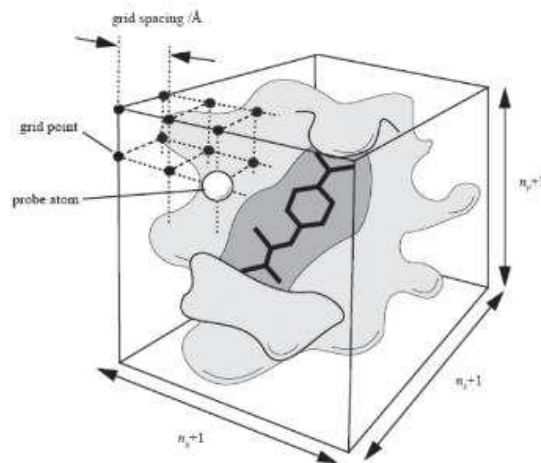


Figure 3 - Schéma des "grid maps" utilisées pour les amarrages moléculaires

Bien qu'un désavantage d'une telle méthode soit justement le fait que le récepteur ne soit pas en mesure de bouger, cette approximation réduit drastiquement le temps de recherche des conformations. Autodock met ainsi en jeu plusieurs algorithmes pour prédire le meilleur déplacement possible du ligand à l'intérieur de sa cible (Morris et al., 2001)

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

### 2.2.3.2. La fonction de score

Dans ce contexte, une pose pertinente d'amarrage moléculaire est une conformation présentant une énergie assez basse. La méthode consiste à estimer l'énergie de liaison grâce à différentes contributions dans la fonction de score obtenue à partir de données expérimentales. Ainsi l'intérêt majeur de ces fonctions en comparaison à des méthodes plus rigoureuses est le gain de temps en termes de ressource de calcul ainsi que l'accès à des informations (géométrique et énergétique) sur l'interaction ayant lieu au cœur du site actif. Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé le logiciel Autodock (Goodsell et al., 1996). La fonction de score y est implémentée de la façon suivante :

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{vdW} + \Delta G_{Hbond} + \Delta G_{elec} + \Delta G_{tors} + \Delta G_{sol} \quad (16)$$

Elle emploie ainsi un modèle mixte mécanique moléculaire et énergie libre, et est basée sur une analyse de la régression linéaire afin d'obtenir des valeurs pour certains paramètres, et a été calibrée sur un jeu de 188 combinaisons ligands-protéines dont les structures et les affinités d'interaction sont connues. (Goodsell et al., 1996; Morris et al., 1996; Trott and Olson, 2010) Cette fonction de score inclut cinq termes dont les trois qui résultent de termes standards de mécanique moléculaire.

$\Delta G_{tors}$  décrit bien les torsions internes du système et représente ainsi la perte de degrés de libertés quand la complexation a lieu.

### 2.2.4. La dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire (MD) fut introduite par Alder et Wainwright à la fin des années 1950 (Alder and Wainwright, 1957, 1959) afin d'étudier les interactions des sphères dures. De nombreuses idées par rapport au comportement des liquides simples ont émergé de ces études. L'avancée majeure suivante a été réalisée en 1964 lorsque Rahman amena la première simulation mettant en œuvre un potentiel réaliste pour de l'argon liquide (Rahman, 1964). La première simulation sur protéine apparut en 1977 avec l'étude d'un inhibiteur pancréatique bovin (McCammon et al., 1977) et apporta un grand nombre de contributions importantes dans le domaine de la dynamique moléculaire.



## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

La MD est une méthode de mécanique statistique dans laquelle l'évolution dans le temps des interactions interatomique est suivie grâce à l'intégration des équations de mouvement. La dynamique moléculaire dite classique est basée sur la mécanique moléculaire afin d'étudier des déformations, des mouvements et des interactions moléculaires. En accord avec la mécanique statistique, pour relier l'énergie potentielle d'un système à des propriétés thermodynamiques expérimentales mesurables, il faut générer des configurations thermiquement accessibles. Dans la MD, la force exercée sur un atome ( $F_i$ ) à un temps  $t$  est calculée à partir du gradient,  $\overrightarrow{grad}_i(E)$  de la fonction potentielle en mécanique moléculaire. La seconde loi de Newton est ainsi utilisée pour calculer l'accélération ( $a_i$ ) d'un atome :

$$\overrightarrow{a}_i = \frac{\overrightarrow{F}_i}{m_i} = -\frac{1}{m_i} \overrightarrow{grad}_i(E) \quad (17)$$

Avec  $m_i$  la masse d'un atome. A partir de l'accélération, on peut déterminer approximativement la vitesse et la position à un temps  $t+\Delta t$  à partir du développement limité de Taylor tronqué. Ce qui nous intéresse ici est la position  $r(t+\Delta t)$ . Pour obtenir cette grandeur, un certain nombre d'algorithmes existent.

Un algorithme populaire est la méthode de Leap-Frog (Hockney, 1970), qui est utilisé dans AMBER, dans laquelle les positions et les vitesses sont obtenues à partir de :

$$r_i(t + \Delta t) = r_i(t) + v_i(t + \frac{1}{2}\Delta t)\Delta t \quad (18)$$

$$v_i(t + \frac{1}{2}\Delta t) = v_i(t - \frac{1}{2}\Delta t) + a_i(t)\Delta t \quad (19)$$

avec  $r_i$ ,  $v_i$  et  $\Delta t$  correspondant à la position, la vitesse et le temps d'intégration, respectivement. En dynamique moléculaire de biomolécules, le temps d'intégration est en général de quelques femtosecondes et les vitesses initiales sont données à partir de la distribution de Maxwell-Boltzmann.

L'un des objectifs de la MD est notamment de comprendre les propriétés d'assemblage des molécules et de s'intéresser à l'interaction opérant entre elles.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

L'application de la dynamique moléculaire conduit à générer des ensembles statistiques afin de déterminer des propriétés énergétiques, thermodynamiques, structurales ou encore dynamiques et permet d'effectuer de la recherche conformationnelle.

Aujourd'hui, de très nombreuses études en dynamique moléculaire ont été réalisées, que ce soit sur des protéines solvatées, des interactions ADN-protéine, des complexes protéines-protéines ou encore sur des systèmes lipidiques (Paschek et al., 2007; Villa et al., 2005; Almlöf et al., 2006; Knecht et al., 2006). Plusieurs logiciels permettent l'utilisation de la MD comme AMBER (Pearlman et al., 1995), GROMACS (Berendsen et al., 1995), CHARMM (Brooks et al., 1983) ou encore NAMD (Nelson et al., 1996). Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé le logiciel AMBER qui est bien maîtrisé dans l'équipe.

Parce que certaines liaisons vibrent à une fréquence importante et impose ainsi un temps d'intégration faible, l'utilisation de l'algorithme SHAKE (Ryckaert et al., 1977) apparaît comme pertinent. Celui-ci permet de considérer de connectivités atomiques avec l'hydrogène sans liaison harmonique. On peut ainsi étendre l'étude à des intervalles de temps plus long (exemple  $\Delta t = 2$  fs).

Dans un système contraint, les coordonnées des particules ne sont pas indépendantes les unes des autres et les équations de mouvement pour chaque direction sont reliées. Cette force est appliquée à chaque instant.

### 2.2.5. Les méthodes de solvation

Le corps humain est composé à 80% d'eau et la majorité des réactions chimiques qui ont lieu dans celui-ci se déroulent en phase aqueuse. C'est pourquoi une représentation précise des propriétés de ce solvant est essentielle pour bien décrire les phénomènes impliquant des biomolécules. Il existe plusieurs méthodes pour représenter le solvant, allant de la description la plus détaillée où chaque molécule d'eau est représentée, jusqu'à la description plus approximée qui ne reproduit que les propriétés globales du solvant (Orozco and Luque, 2000).

Les calculs de mécanique moléculaire peuvent être menés dans le vide ( $\epsilon_0 = 1$ ) mais les dipôles, ainsi que les molécules contenant des charges, nécessitent que les effets de solvants soient pris en compte. Les champs de force ont tendance à maximiser les interactions électrostatiques attractives, résultant en une conformation de très basse énergie, très

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

stable, mais irréaliste. La force de cette interaction électrostatique décroît lentement avec  $r^{-1}$ . En effet, la constante diélectrique est dépendante de la distance pour décroître rapidement et s'affranchir des interactions avec les atomes très éloignés. Ceci permet de simuler le déplacement des molécules de solvant lorsque le ligand s'approche de la cible d'interaction.

### 2.2.5.1. Solvant Explicite

La représentation la plus réaliste consiste à utiliser un solvant explicite. Ceci correspond à positionner la molécule d'étude dans une boîte contenant des molécules de solvant explicitement représentées, c'est-à-dire avec tous les atomes représentés. Le point clé consiste à choisir le bon modèle de potentiel pour représenter les interactions entre les différentes molécules (Paschek, 2004). Il en existe plusieurs (Vega et al., 2005). Usuellement les plus employés sont les modèles SPC, SPC/E (Berendsen et al., 1987), TIP3P et TIP4P (Jorgensen et al., 1983). Tous ces modèles mettent en jeu 2 applications principales : Un potentiel de Lennard-Jones localisé sur l'atome d'oxygène et des charges positives positionnées sur les atomes d'hydrogène. Pour le modèle le plus largement utilisé, TIP3P (Jorgensen et al., 1983) que nous avons-nous même employé durant nos travaux, une molécule d'eau est représentée par une sphère de van der Waals centrée sur l'oxygène et des charges localisées positionnées sur chacun des 3 atomes. Le développement des modèles d'eau s'est concentré sur la reproduction des propriétés les plus importantes de l'eau liquide comme l'énergie (obtenue expérimentalement), la densité et la distribution de fonctions radiales (Jorgensen and Tirado-Rives, 2005).

La représentation en solvant explicite contraint à réaliser des simulations impliquant des milliers d'atomes en conditions périodiques, ce qui alourdit considérablement le temps de calcul nécessaire à l'étude d'un système.

### 2.2.5.2. Solvant implicite

Dans un modèle de solvant implicite, la représentation tout-atomes est remplacée par un continuum décrivant les propriétés générales de l'eau (Baker, 2005; Feig and Brooks III, 2004; Orozco and Luque, 2000; Simonson, 2001; Warshel et al., 2006). Dans ce cas, l'énergie libre de la phase aqueuse est calculée directement sans échantillonnage des degrés de libertés des molécules de solvant.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Lors d'une étude d'un complexe ligand-biomolécule, la différence d'énergie de solvation peut être évaluée et le solvant est traité comme un continuum représenté par une constante diélectrique  $\epsilon$ .

L'énergie libre de solvation  $\Delta G_{\text{sol}}$  est la variation d'énergie libre observée lors du transfert d'une molécule du vide au solvant. Cette valeur est considérée comme la somme de 2 contributions. (cf. équation 20)

$$\Delta G_{\text{sol}} = \Delta G_{\text{elec}} + \Delta G_{\text{nonelec}} \quad (20)$$

$\Delta G_{\text{elec}}$  est la composante électrostatique

$\Delta G_{\text{nonelec}}$  est la composante non-électrostatique entre le soluté et le solvant.

Des modèles comme « Generalised Born » ou « Poisson-Boltzmann » permettent d'estimer l'énergie libre électrostatique moyenne mais ne tiennent pas compte directement des effets entropiques provenant des contraintes, imposées par le soluté, à la disposition des molécules d'eau ou de solvant plus généralement. Les modèles de solvation implicite peuvent être améliorés avec des termes tenant compte des effets hydrophobiques.

### 2.2.6. Umbrella Sampling

La méthode Umbrella Sampling (Leach, 2001) permet de résoudre les problèmes d'échantillonnages en modifiant le potentiel permettant ainsi d'échantillonner suffisamment les états non favorables. Cette méthode peut s'employer avec des simulations de dynamique moléculaire ou bien des simulations Monte Carlo. La modification du potentiel peut se traduire par une perturbation :

$$E'(r^N) = E(r^N) + W(r^N) \quad (21)$$

Où  $W(r^N)$  est une fonction de poids, prenant souvent une forme quadratique :

$$W(r^N) = k_w(r^N - r_0^N)^2 \quad (22)$$

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Pour des configurations se trouvant loin de l'état d'équilibre  $r_0^N$  la fonction de poids sera large et ainsi la simulation utilisant l'énergie modifiée  $E'(r^N)$  sera biaisée le long d'une coordonnée de réaction. La distribution résultante sera évidemment non-boltzmann. La distribution de boltzmann correspondante pourra être extraite de la configuration non boltzmann en utilisant une méthode introduite par Torrie et Valleau (Torrie and Valleau, 1977) dont le résultat est le suivant :

$$\langle A \rangle = \frac{\langle A(r^N) \exp[+W(r^N)/k_B T] \rangle_w}{\langle \exp[+W(r^N)/k_B T] \rangle_w} \quad (23)$$

L'indice  $w$  indique que la moyenne est basée sur la probabilité  $P_w(r^N)$ , qui est-elle même déterminée par la fonction d'énergie modifiée  $E'(r^N)$ .

Aujourd'hui, il est largement admis que la méthode Umbrella Sampling est une méthode très intéressante pour calculer des différences d'énergies libres. (Kästner, 2011)

La méthode Weighted Histogram Analysis Method (WHAM) permet de « débiaiser » la quantité échantillonnée (coordonnée de réaction) afin de reconstruire le potentiel de force moyenne. Celle-ci a été introduite par Kumar (Kumar et al., 1992). Dans chaque fenêtre la probabilité obtenue vérifie l'équation :

$$P_b^i(x) = e^{-[F(x) + V_{\text{bias}}^i(x)]/k_B T} \quad (24)$$

Elle est corrigée par un facteur  $\exp(V_{\text{bias}}^i(x)]/k_B T)$ . Le potentiel de force moyenne  $F$  lui est reconstruit de façon à garder une cohérence entre les différentes fenêtres. La méthode WHAM effectue ces deux étapes de façon itérative. L'incertitude liée à cette méthode demeure cependant difficile à évaluer (Kästner and Thiel, 2005; Kumar et al., 1992; Roux, 1995).

# Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

## Bibliographie

Akdim, B., Pachter, R., Kim, S.S., Naik, R.R., Walsh, T.R., Trohalaki, S., Hong, G., Kuang, Z., and Farmer, B.L. (2013). Electronic properties of a graphene device with peptide adsorption: insight from simulation. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5, 7470–7477.

Alder, B.J., and Wainwright, Te. (1957). Phase transition for a hard sphere system. *J. Chem. Phys.* 27, 1208–1209.

Alder, B.J., and Wainwright, T.E. (1959). Studies in molecular dynamics. I. General method. *J. Chem. Phys.* 31, 459–466.

Arrouvel, C., Diawara, B., Costa, D., and Marcus, P. (2007). DFT Periodic Study of the Adsorption of Glycine on the Anhydrous and Hydroxylated (0001) Surfaces of  $\alpha$ -Alumina. *J. Phys. Chem. C* 111, 18164–18173.

Baker, N.A. (2005). Improving implicit solvent simulations: a Poisson-centric view. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 15, 137–143.

Becke, A.D. (1993). A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories. *J. Chem. Phys.* 98, 1372–1377.

Bellucci, L., Brancolini, G., Calzolari, A., Carrillo Parramon, O., Corni, S., and Di Felice, R. (2012). Proteins and peptides at gold surfaces: insights from atomistic simulations. In *Proteins at Interfaces III State of the Art*, (ACS Publications), pp. 229–250.

Berendsen, H.J., van der Spoel, D., and van Drunen, R. (1995). GROMACS: a message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Comput. Phys. Commun.* 91, 43–56.

Berendsen, H.J.C., Grigera, J.R., and Straatsma, T.P. (1987). The missing term in effective pair potentials. *J. Phys. Chem.* 91, 6269–6271.

BIEGLER, K.F., Schnbohm, J., and Bayles, D. (2001). A Program to Analyze and Visualize Atoms in Molecules.

Brooks, B.R., Brucoleri, R.E., Olafson, B.D., States, D.J., Swaminathan, S. a, and Karplus, M. (1983). CHARMM: a program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. *J. Comput. Chem.* 4, 187–217.

Camden, A.N., Barr, S.A., and Berry, R.J. (2013). Simulations of peptide-graphene interactions in explicit water. *J. Phys. Chem. B* 117, 10691–10697.

Carravetta, V., and Monti, S. (2006). Peptide–TiO<sub>2</sub> surface interaction in solution by ab initio and molecular dynamics simulations. *J. Phys. Chem. B* 110, 6160–6169.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Carravetta, V., Monti, S., and Zhang, W. (2009). Interaction of biomolecular systems with titanium-based materials: computational investigations. *Theor. Chem. Acc.* *123*, 299–309.

Cornell, W.D., Cieplak, P., Bayly, C.I., Gould, I.R., Merz, K.M., Ferguson, D.M., Spellmeyer, D.C., Fox, T., Caldwell, J.W., and Kollman, P.A. (1995). A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *J. Am. Chem. Soc.* *117*, 5179–5197.

Costa, D., Tougeri, A., Tielens, F., Gervais, C., Stievano, L., and Lambert, J.F. (2008). DFT study of the adsorption of microsolvated glycine on a hydrophilic amorphous silica surface. *Phys. Chem. Chem. Phys.* *10*, 6360–6368.

Costa, D., Garrain, P.-A., Diawara, B., and Marcus, P. (2011). Biomolecule– Biomaterial Interaction: A DFT-D Study of Glycine Adsorption and Self-Assembly on Hydroxylated Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Surfaces. *Langmuir* *27*, 2747–2760.

Costa, D., Garrain, P.-A., and Baaden, M. (2013). Understanding small biomolecule-biomaterial interactions: A review of fundamental theoretical and experimental approaches for biomolecule interactions with inorganic surfaces. *J. Biomed. Mater. Res. A* *101*, 1210–1222.

Di Felice, R., and Corni, S. (2011). Simulation of peptide–surface recognition. *J. Phys. Chem. Lett.* *2*, 1510–1519.

Diebold, U. (2003). The surface science of titanium dioxide. *Surf. Sci. Rep.* *48*, 53–229.

Dror, R.O., Dirks, R.M., Grossman, J.P., Xu, H., and Shaw, D.E. (2012). Biomolecular simulation: a computational microscope for molecular biology. *Annu. Rev. Biophys.* *41*, 429–452.

Feig, M., and Brooks III, C.L. (2004). Recent advances in the development and application of implicit solvent models in biomolecule simulations. *Curr. Opin. Struct. Biol.* *14*, 217–224.

Gambino, G.L., Lombardo, G.M., Grassi, A., and Marletta, G. (2004). Molecular modeling of interactions between L-lysine and a hydroxylated quartz surface. *J. Phys. Chem. B* *108*, 2600–2607.

Gambino, G.L., Grassi, A., and Marletta, G. (2006). Molecular modeling of interactions between L-lysine and functionalized quartz surfaces. *J. Phys. Chem. B* *110*, 4836–4845.

Goodsell, D.S., Morris, G.M., and Olson, A.J. (1996). Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock. *J. Mol. Recognit.* *9*, 1–5.

Grimme, S. (2006). Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction. *J. Comput. Chem.* *27*, 1787–1799.

Grimme, S. (2011). Density functional theory with London dispersion corrections. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* *1*, 211–228.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Grimme, S., Antony, J., Ehrlich, S., and Krieg, H. (2010). A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu. *J. Chem. Phys.* *132*, 154104.

Heinz, H., Jha, K.C., Luettmmer-Strathmann, J., Farmer, B.L., and Naik, R.R. (2010). Polarization at metal–biomolecular interfaces in solution. *J. R. Soc. Interface* rsif20100318.

Heinz, H., Lin, T.-J., Kishore Mishra, R., and Emami, F.S. (2013). Thermodynamically consistent force fields for the assembly of inorganic, organic, and biological nanostructures: the INTERFACE force field. *Langmuir* *29*, 1754–1765.

Henkelman, G., Arnaldsson, A., and Jónsson, H. (2006). A fast and robust algorithm for Bader decomposition of charge density. *Comput. Mater. Sci.* *36*, 354–360.

Hnilova, M., Oren, E.E., Seker, U.O., Wilson, B.R., Collino, S., Evans, J.S., Tamerler, C., and Sarikaya, M. (2008). Effect of molecular conformations on the adsorption behavior of gold-binding peptides. *Langmuir* *24*, 12440–12445.

Hockney, R.W. (1970). POTENTIAL CALCULATION AND SOME APPLICATIONS. (Langley Research Center, Hampton, Va.).

Hoefling, M., Monti, S., Corni, S., and Gottschalk, K.E. (2011). Interaction of  $\beta$ -sheet folds with a gold surface. *PLoS One* *6*, e20925.

Hohenberg, P., and Kohn, W. (1964). Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.* *136*, B864–B871.

Huang, L., Gubbins, K.E., Li, L., and Lu, X. (2014). Water on titanium dioxide surface: a revisiting by reactive molecular dynamics simulations. *Langmuir* *30*, 14832–14840.

Iori, F., Corni, S., and Di Felice, R. (2008). Unraveling the interaction between histidine side chain and the Au (111) surface: a DFT study. *J. Phys. Chem. C* *112*, 13540–13545.

Iori, F., Di Felice, R., Molinari, E., and Corni, S. (2009). GolP: An atomistic force-field to describe the interaction of proteins with Au (111) surfaces in water. *J. Comput. Chem.* *30*, 1465–1476.

Irrera, S., Costa, D., and Marcus, P. (2009). DFT periodic study of adsorption of glycine on the (0001) surface of zinc terminated ZnO. *J. Mol. Struct. Theochem* *903*, 49–58.

Jiang, F., and Kim, S.-H. (1991). "Soft docking": matching of molecular surface cubes. *J. Mol. Biol.* *219*, 79–102.

Jorgensen, W.L., and Tirado-Rives, J. (2005). Potential energy functions for atomic-level simulations of water and organic and biomolecular systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *102*, 6665–6670.



## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Jorgensen, W.L., Chandrasekhar, J., Madura, J.D., Impey, R.W., and Klein, M.L. (1983). Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* *79*, 926–935.

Kästner, J. (2011). Umbrella sampling. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* *1*, 932–942.  
Kästner, J., and Thiel, W. (2005). Bridging the gap between thermodynamic integration and umbrella sampling provides a novel analysis method: "Umbrella integration." *J. Chem. Phys.* *123*, 144104.

Katan, C., Rabiller, P., Lecomte, C., Guezo, M., Oison, V., and Souhassou, M. (2003). Numerical computation of critical properties and atomic basins from three-dimensional grid electron densities. *J. Appl. Crystallogr.* *36*, 65–73.

Koch, R., Lipton, A.S., Filipek, S., and Renugopalakrishnan, V. (2011). Arginine interactions with anatase TiO<sub>2</sub> (100) surface and the perturbation of <sup>49</sup>Ti NMR chemical shifts—a DFT investigation: relevance to Renu-Seeram bio solar cell. *J. Mol. Model.* *17*, 1467–1472.

Kohn, W., and Sham, L.J. (1965). Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Phys. Rev.* *140*, A1133–A1138.

Kokh, D.B., Corni, S., Winn, P.J., Hoefling, M., Gottschalk, K.E., and Wade, R.C. (2010). ProMetCS: An atomistic force field for modeling protein– metal surface interactions in a continuum aqueous solvent. *J. Chem. Theory Comput.* *6*, 1753–1768.

Kresse, G. (1996). Software vasp, vienna, 1999; g. kresse, j. furthmüller. *Phys Rev B* *54*, 169.

Kresse, G., and Furthmüller, J. (1996a). Efficiency of ab-initio total energy calculations for metals and semiconductors using a plane-wave basis set. *Comput. Mater. Sci.* *6*, 15–50.

Kresse, G., and Furthmüller, J. (1996b). Efficient iterative schemes for ab initio total-energy calculations using a plane-wave basis set. *Phys. Rev. B* *54*, 11169.

Kresse, G., and Joubert, D. (1999). From ultrasoft pseudopotentials to the projector augmented-wave method. *Phys. Rev. B* *59*, 1758.

Kumar, S., Rosenberg, J.M., Bouzida, D., Swendsen, R.H., and Kollman, P.A. (1992). The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method. *J. Comput. Chem.* *13*, 1011–1021.

Leach, A.R. (2001). *Molecular modelling: principles and applications* (Pearson education).  
Lindorff-Larsen, K., Maragakis, P., Piana, S., Eastwood, M.P., Dror, R.O., and Shaw, D.E. (2012). Systematic validation of protein force fields against experimental data. *PloS One* *7*, e32131.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Madsen, G.K.H., Gatti, C., Iversen, B.B., Damjanovic, L., Stucky, G.D., and Srdanov, V.I. (1999). F center in sodium electrosodalite as a physical manifestation of a non-nuclear attractor in the electron density. *Phys. Rev. B* 59, 12359.

McCammon, J.A., Gelin, B.R., and Karplus, M. (1977). Dynamics of folded proteins. *Nature* 267, 585.

Morris, G.M., Goodsell, D.S., Huey, R., and Olson, A.J. (1996). Distributed automated docking of flexible ligands to proteins: parallel applications of AutoDock 2.4. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 10, 293–304.

Morris, G.M., Goodsell, D.S., Huey, R., Hart, W.E., Halliday, S., Belew, R., and Olson, A.J. (2001). AutoDock. *Autom. Docking Flex. Ligands Recept.-User Guide*.

Mulliken, R.S. (1955). Electronic population analysis on LCAO–MO molecular wave functions. I. *J. Chem. Phys.* 23, 1833–1840.

Nelson, M.T., Humphrey, W., Gursoy, A., Dalke, A., Kalé, L.V., Skeel, R.D., and Schulten, K. (1996). NAMD: a parallel, object-oriented molecular dynamics program. *Int. J. Supercomput. Appl. High Perform. Comput.* 10, 251–268.

Nonella, M., and Seeger, S. (2008). Investigating Alanine–Silica Interaction by Means of First-Principles Molecular-Dynamics Simulations. *ChemPhysChem* 9, 414–421.

Noury, S., Krokidis, X., Fuster, F., and Silvi, B. (1999). Computational tools for the electron localization function topological analysis. *Comput. Chem.* 23, 597–604.

Oostenbrink, C., Villa, A., Mark, A.E., and Van Gunsteren, W.F. (2004). A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: the GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *J. Comput. Chem.* 25, 1656–1676.

Orozco, M., and Luque, F.J. (2000). Theoretical methods for the description of the solvent effect in biomolecular systems. *Chem. Rev.* 100, 4187–4226.

Ozboyaci, M., Kokh, D.B., Corni, S., and Wade, R.C. (2016). Modeling and simulation of protein–surface interactions: achievements and challenges. *Q. Rev. Biophys.* 49.

Paschek, D. (2004). Temperature dependence of the hydrophobic hydration and interaction of simple solutes: An examination of five popular water models. *J. Chem. Phys.* 120, 6674–6690.

Paschek, D., Nymeyer, H., and García, A.E. (2007). Replica exchange simulation of reversible folding/unfolding of the Trp-cage miniprotein in explicit solvent: on the structure and possible role of internal water. *J. Struct. Biol.* 157, 524–533.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Patwardhan, S.V., Emami, F.S., Berry, R.J., Jones, S.E., Naik, R.R., Deschaume, O., Heinz, H., and Perry, C.C. (2012). Chemistry of aqueous silica nanoparticle surfaces and the mechanism of selective peptide adsorption. *J. Am. Chem. Soc.* *134*, 6244–6256.

Pearlman, D.A., Case, D.A., Caldwell, J.W., Ross, W.S., Cheatham III, T.E., DeBolt, S., Ferguson, D., Seibel, G., and Kollman, P. (1995). AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. *Comput. Phys. Commun.* *91*, 1–41.

Perdew, J.P. (1991). *Electronic structure of solids' 91* (Akademie Verlag, Berlin).

Piana, S., Lindorff-Larsen, K., and Shaw, D.E. (2011). How robust are protein folding simulations with respect to force field parameterization? *Biophys. J.* *100*, L47–L49.

Popelier, P.L.A. (1998). *Morphy98* A program written by PLA Popelier with a contribution from RGA Bone. UMIST Manch. Engl.

Rahman, A. (1964). Correlations in the motion of atoms in liquid argon. *Phys. Rev.* *136*, A405.  
Redfern, P.C., Zapol, P., Curtiss, L.A., Rajh, T., and Thurnauer, M.C. (2003). Computational studies of catechol and water interactions with titanium oxide nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* *107*, 11419–11427.

Rimola, A., Sodupe, M., Tosoni, S., Civalleri, B., and Ugliengo, P. (2006). Interaction of glycine with isolated hydroxyl groups at the silica surface: First principles B3LYP periodic simulation. *Langmuir* *22*, 6593–6604.

Rimola, A., Corno, M., Zicovich-Wilson, C.M., and Ugliengo, P. (2008a). Ab initio modeling of protein/biomaterial interactions: glycine adsorption at hydroxyapatite surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* *130*, 16181–16183.

Rimola, A., Civalleri, B., and Ugliengo, P. (2008b). Neutral vs zwitterionic glycine forms at the water/silica interface: structure, energies, and vibrational features from B3LYP periodic simulations. *Langmuir* *24*, 14027–14034.

Rimola, A., Sodupe, M., and Ugliengo, P. (2009). Affinity scale for the interaction of amino acids with silica surfaces. *J. Phys. Chem. C* *113*, 5741–5750.

Roux, B. (1995). The calculation of the potential of mean force using computer simulations. *Comput. Phys. Commun.* *91*, 275–282.

Ruan, M., Seydou, M., Noel, V., Piro, B., Maurel, F., and Barbault, F. (2017). Molecular dynamics simulation of a RNA aptasensor. *J. Phys. Chem. B* *121*, 4071–4080.

Ryckaert, J.-P., Ciccotti, G., and Berendsen, H.J. (1977). Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J. Comput. Phys.* *23*, 327–341.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Sanville, E., Kenny, S.D., Smith, R., and Henkelman, G. (2007). Improved grid-based algorithm for Bader charge allocation. *J. Comput. Chem.* *28*, 899–908.

Simonson, T. (2001). Macromolecular electrostatics: continuum models and their growing pains. *Curr. Opin. Struct. Biol.* *11*, 243–252.

Slater, J.C. (1951). A simplification of the Hartree-Fock method. *Phys. Rev.* *81*, 385.

Strich, A. (1992). *Quantum chemistry*, By Ira N. Levine, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1991, X+ 629 pp. *Elementary quantum chemistry*, By Frank L. Pilar, McGraw-Hill International Editions, New York, 1990, XVI+ 599 pp. *Int. J. Quantum Chem.* *43*, 439–441.

Sun, C., Liu, L.-M., Selloni, A., Lu, G.Q.M., and Smith, S.C. (2010). Titania-water interactions: a review of theoretical studies. *J. Mater. Chem.* *20*, 10319–10334.

Sun, G., Kürti, J., Rajczyk, P., Kertesz, M., Hafner, J., and Kresse, G. (2003). Performance of the Vienna ab initio simulation package (VASP) in chemical applications. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* *624*, 37–45.

Tang, W., Sanville, E., and Henkelman, G. (2009). A grid-based Bader analysis algorithm without lattice bias. *J. Phys. Condens. Matter* *21*, 084204.

Taylor, R.D., Jewsbury, P.J., and Essex, J.W. (2002). A review of protein-small molecule docking methods. *J. Comput. Aided Mol. Des.* *16*, 151–166.

de la Torre, J.G., Hernández Cifre, J.G., Ortega, A., Schmidt, R.R., Fernandes, M.X., Pérez Sánchez, H.E., and Pamies, R. (2009). Simuflex: algorithms and tools for simulation of the conformation and dynamics of flexible molecules and nanoparticles in dilute solution. *J. Chem. Theory Comput.* *5*, 2606–2618.

Torrie, G.M., and Valleau, J.P. (1977). Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling. *J. Comput. Phys.* *23*, 187–199.

Trott, O., and Olson, A.J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* *31*, 455–461.

Vega, C., Sanz, E., and Abascal, J.L.F. (2005). The melting temperature of the most common models of water. *J. Chem. Phys.* *122*, 114507.

Wang, J., Wolf, R.M., Caldwell, J.W., Kollman, P.A., and Case, D.A. (2004). Development and testing of a general amber force field. *J. Comput. Chem.* *25*, 1157–1174.

Warshel, A., Sharma, P.K., Kato, M., and Parson, W.W. (2006). Modeling electrostatic effects in proteins. *Biochim. Biophys. Acta BBA-Proteins Proteomics* *1764*, 1647–1676.

## Chapitre 1 : Les interactions biomolécule-surface d'un point de vue théorique: état de l'art et méthode

---

Zou, X., Wei, S., Jasensky, J., Xiao, M., Wang, Q., Brooks III, C.L., and Chen, Z. (2017). Molecular Interactions between Graphene and Biological Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* *139*, 1928–1936.

**Chapitre 2 :**  
**Généralités sur les biocapteurs**  
**et les surfaces intelligentes**

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

### Sommaire

<b>1. Les biocapteurs</b> .....	<b>52</b>
1.1. Historique .....	52
1.2. Définition .....	52
1.3. Classification des biocapteurs .....	53
1.3.1. Nature du biorécepteur .....	53
1.3.2. Nature du transducteur.....	55
1.4. Les transistors à effet de champ .....	58
1.4.2. Principe de fonctionnement .....	58
1.4.3. L'utilisation du graphène comme canal semi-conducteur.....	60
<b>2. Les surfaces intelligentes</b> .....	<b>62</b>
2.1. Les peptides antimicrobiens.....	63
2.1.1. Caractéristiques des peptides antimicrobiens.....	63
2.1.2. Mode d'action des peptides antimicrobiens .....	64
2.2. La dihydroxyphénylalanine.....	65
2.3. Staphylococcus Aureus.....	67
2.3.1. Caractéristiques générales .....	67
2.3.2. Protéines sécrétées par le staphylocoque doré.....	67
<b>Problématiques de la thèse</b> .....	<b>69</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>71</b>

### 1. Les biocapteurs

#### 1.1. Historique

C'est en 1956 que Leland Clark réalise le premier biocapteur (Clark, 1956), afin de mesurer la concentration d'oxygène dissous dans le sang, puis son dispositif sera ensuite réadapté en 1962 dans le but de quantifier cette fois-ci la teneur de glucose dans le sang (Clark and Lyons, 1962). A partir des années 70, de nombreux moyens seront mis en œuvre afin de promouvoir le développement des biocapteurs en raison du large champ d'application dans lesquels ils peuvent être utilisés (médecine, agro-alimentaire, environnement etc). La miniaturisation, notamment des transducteurs de même que leur nature variée, et la possibilité d'utiliser les biocapteurs *in vivo*, font de ces dispositifs des éléments d'analyses pertinents, entre autre pour le domaine de la santé.

#### 1.2. Définition

Un biocapteur (ou « biosensor » en anglais) est un dispositif qui utilise la haute spécificité des phénomènes de reconnaissance biologique et les adapte pour les applications analytiques. Un dispositif biocapteur (figure 1) comprend une partie biorécepteur capable de détecter un analyte et d'interagir spécifiquement avec celui-ci, une partie transducteur qui détecte les modifications physico-chimique de l'environnement dues à la reconnaissance de cet analyte, et le traduit en signal physique mesurable par le système de détection du signal. Il est également souvent nécessaire de mettre en jeu un système permettant l'amplification et le traitement de ce signal afin d'obtenir une information pertinente.

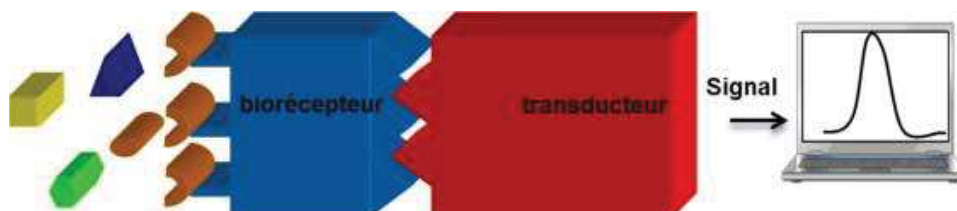


Figure 1 - Schéma général d'un biocapteur d'après (Gorgy, 2015)

Plusieurs paramètres sont modulables au sein de ces systèmes comme la nature de l'élément biologique utilisé ou bien celle du transducteur. On relève ainsi différents types de systèmes.



### 1.3. Classification des biocapteurs

Usuellement les biocapteurs sont classés selon deux critères : la nature du biorécepteur et la nature du transducteur. On retrouve également des systèmes classés selon une combinaison des deux phénomènes. La figure 2 illustre la classification générale des biocapteurs :

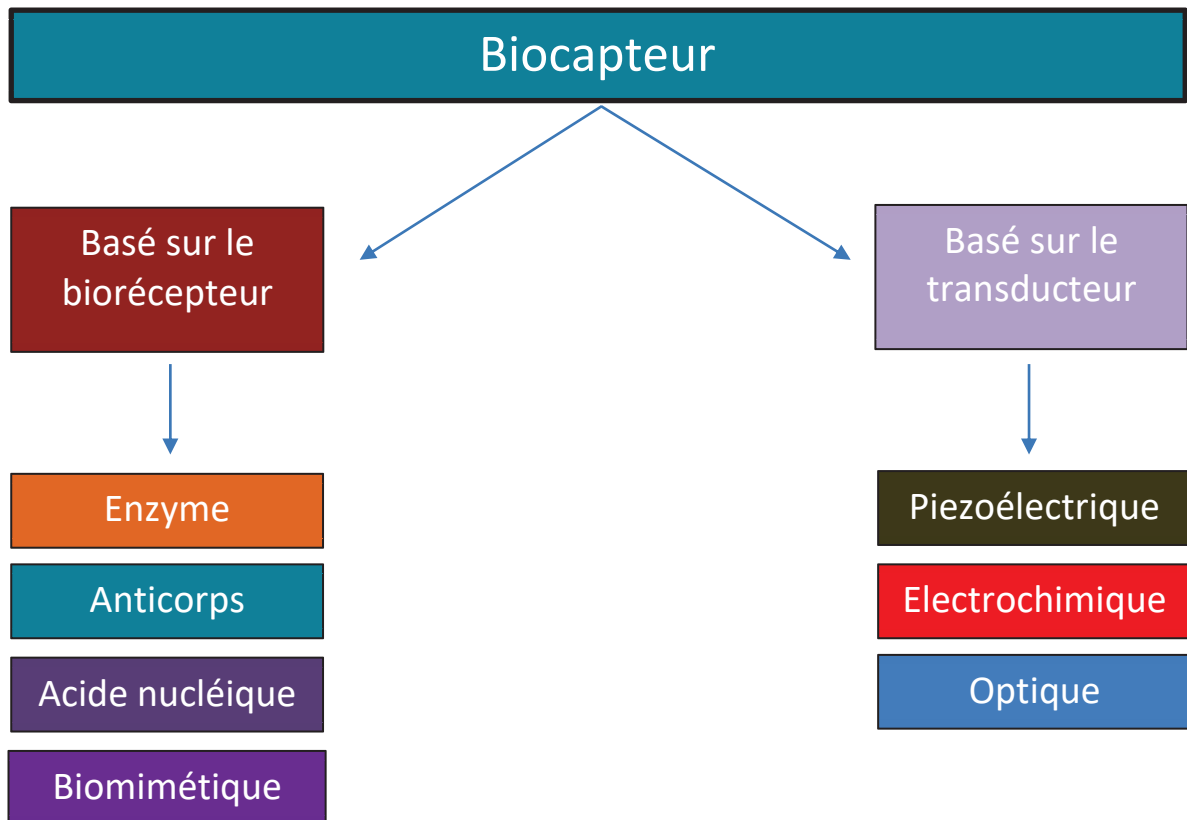


Figure 2 - Schéma général de la classification des biocapteurs

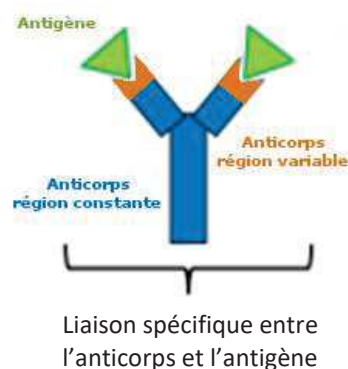
#### 1.3.1. Nature du biorécepteur

Pour les biocapteurs impliquant des enzymes, deux mécanismes d'actions sont possibles : une enzyme vient catalyser une réaction amenant la conversion d'un substrat non détectable en un produit, optiquement ou électrochimiquement, détectable ou bien une enzyme vient catalyser une réaction amenant la conversion d'un substrat, optiquement ou électrochimiquement, détectable en un produit non détectable. L'ajout d'une molécule spécifique venant inhiber l'action de l'enzyme influera alors sur la réaction chimique. Cette perturbation sera détectée par le système de transduction (Delvaux and Demoustier-Champagne, 2003).

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

De très nombreuses réactions chimiques sont catalysées par des enzymes, néanmoins ces systèmes peuvent souffrir d'une instabilité de fonctionnement et nécessiter l'apport d'un cofacteur ou une association d'enzymes pour fonctionner. Les biocapteurs enzymatiques les plus communs sont les systèmes permettant la détection du glucose ou de l'urée (Ispas et al., 2012; Wang, 2008). Actuellement les biocapteurs à enzyme sont aussi beaucoup utilisés pour la détection de pesticide, au détriment des méthodes plus standards telles que les techniques chromatographiques car celles-ci sont relativement coûteuses. (Bucur et al., 2018)

Les couples anticorps/antigènes sont également impliqués dans la construction de biocapteurs. Les anticorps sont des immunoprotéines (ou immunoglobulines) douées de capacités d'interactions spécifiques avec une entité nommée antigène. Les anticorps sont constitués de 4 chaînes polypeptidiques (deux chaînes lourdes et deux chaînes légères) qui forment une structure en « Y » (Porter, 1959). Ces édifices possèdent une région « constante » et une région « variable », cette dernière correspondant au site d'interaction avec l'antigène, donnant ainsi son caractère spécifique à l'anticorps afin de se lier avec une haute affinité à l'antigène. Les biocapteurs impliquant ce couple reposent sur l'interaction spécifique anticorps/antigène. L'un des deux réactants est immobilisé sur un support et l'interaction biologique se fait ainsi à l'interface solide-liquide. Ces systèmes offrent la possibilité de détecter et quantifier de très faibles proportions d'antigènes, y compris dans des mélanges très complexes. Ils présentent également l'avantage d'avoir une affinité et une sélectivité modulables. (Rahman et al., 2007; Scheller et al., 2001) (cf. figure 3)



**Figure 3 – Reconnaissance spécifique de l'antigène par l'anticorps**

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

Il existe aussi des biocapteurs impliquant des brins d'ADN (ou d'ARN). Ceux-ci s'obtiennent en immobilisant un brin sur une surface transductrice. Il existe en général deux stratégies distinctes. La première consiste en l'hybridation d'un brin simple d'ADN avec une séquence d'acides nucléiques provenant de microorganismes infectieux où le capteur détectera l'interaction avec la séquence pathogène (Carrascosa et al., 2009; Ensafi et al., 2011). La seconde repose sur l'interaction entre un brin d'ADN et des agents polluants (Nowicka et al., 2010; Zhang et al., 2011a), faisant de ce biocapteur un indicateur de pollution qui pourra compléter une batterie de test permettant le contrôle de la qualité d'un milieu, compte tenu de la facilité et de la rapidité avec laquelle une réponse peut être obtenue.

### 1.3.2. Nature du transducteur

Le second paramètre interchangeable d'un biocapteur est la nature de son transducteur. Celui-ci peut être de nature électromagnétique, électrochimique ou bien encore se décliner avec des propriétés optiques ou encore calorimétriques.

Certains biocapteurs mettent en jeu la « piézoélectricité ». Elle correspond à la relation entre des propriétés électriques et mécaniques de matériaux diélectrique et anisotropes. Sous l'effet d'une contrainte appliquée à ce matériau, le cristal se déforme en induisant une polarisation électrique du milieu. Dans un capteur piézoélectrique, on exploite la capacité d'un matériau à se déformer lorsque celui-ci est soumis à une contrainte électrique. Le cristal de quartz par exemple est un outil de choix pour ce type d'analyse grâce à ses propriétés chimiques et mécaniques mais aussi car il possède la capacité d'osciller sous l'effet de stimulus électriques. On mesure ainsi l'oscillation sur cristal du quartz servant de support à un composé biologique immobilisé. Le système permet de quantifier d'éventuelles variations de masses à la surface du cristal, dues à l'interaction spécifique biologique. Il est nécessaire de bien connaître les propriétés physico chimiques du milieu, puisque celles-ci peuvent altérer la fréquence de résonance (Bizet et al., 1995). La Figure 4 présente un cristal piézoélectrique.

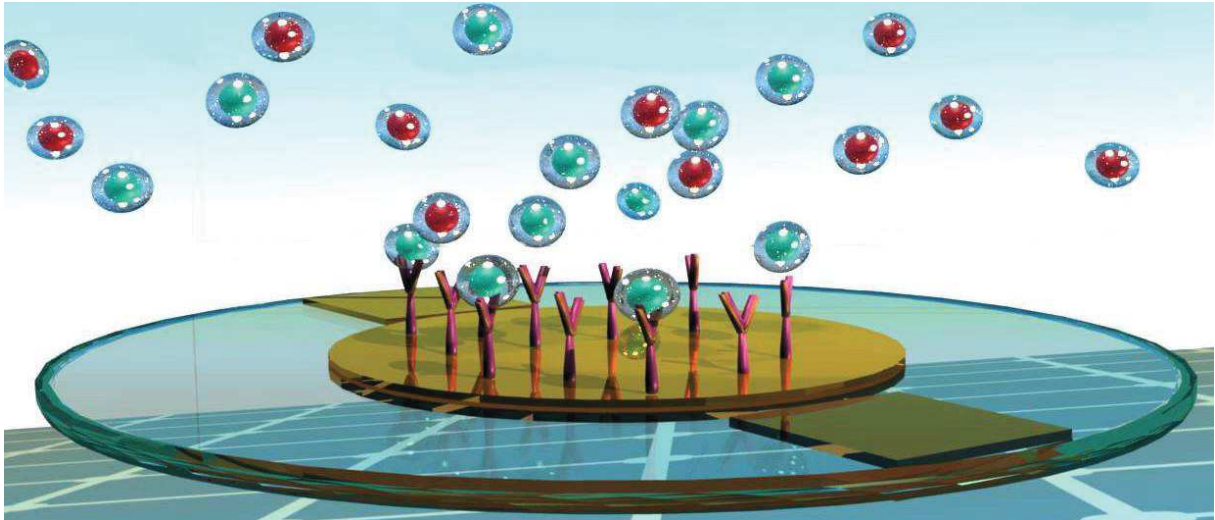


Figure 4 - Schéma d'une microbalance à quartz d'après [www.openqcm.com](http://www.openqcm.com)

On retrouve également des capteurs basés sur la mesure de l'absorbance grâce auxquels on cherche à détecter la venue d'une couleur, à l'aide d'une espèce marquée par une enzyme. (Abdullah et al., 2007). D'autres systèmes permettent de mesurer la fluorescence, en détectant soit sa diminution d'intensité (« quenching ») ou bien son amplification, après interaction avec la molécule cible. (Lagarde and Jaffrezic-Renault, 2010). Le phénomène de résonance plasmonique de surface (SPR) est également mis en jeu dans des biocapteurs. Des photons entrent en résonance avec le nuage électronique d'une couche métallique déposée à l'interface, et sont réfléchis avec un angle de résonance bien défini. L'interaction spécifique entre les biomolécules engendre une modification des propriétés plasmoniques de la surface ce qui vient ainsi diminuer l'intensité du faisceau réfléchi ainsi que l'angle de résonance (Figure 5). (Jang et al., 2009).

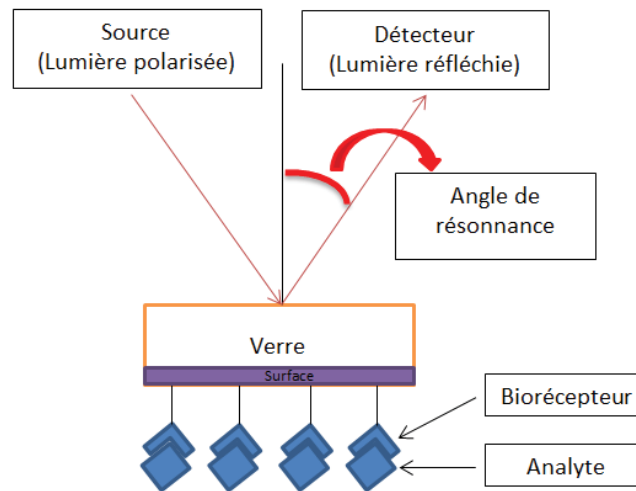


Figure 5 - Schéma général matérialisant l'angle de résonance

Enfin il existe également des biocapteurs électrochimiques. Ce type de biocapteur figure parmi les plus utilisés et consiste à immobiliser une molécule d'intérêt biologique sur une électrode. L'interaction avec la cible spécifique entrainera alors une réponse transformée en un signal électrique mesurable et quantifiable. De plus, ce type de capteur peut facilement s'inclure dans des systèmes électroniques peu coûteux en énergie et s'intègre également parfaitement dans les systèmes d'analyse pour les domaines de la santé ou de l'environnement.

Des sous-catégories de biocapteurs électrochimique se démarquent : les biocapteurs potentiométriques, conductimétriques ou bien ampérométriques.

Les biocapteurs potentiométriques (Nilsson et al., 1973; Tor and Freeman, 1986) évaluent la différence de potentiel entre deux électrodes. Une méthode consiste à fixer un biorécepteur sur l'une de ces deux électrodes et à observer des variations de potentiel lorsque l'analyte réagit avec ce récepteur. Les systèmes à transducteur potentiométrique impliquant des électrodes ou des transistors à effet de champ « ion-selectifs » (qui répondent sélectivement à certains ions en présence d'autres) font partis des systèmes les plus précis et rapides en termes de biocapteur (Kimmel et al., 2011)

Les biocapteurs conductimétriques (Chouteau et al., 2004) mesurent des variations de conductance (consommations ou productions d'espèces chargées au cours de réactions).

Enfin les biocapteurs ampérométriques (Chi and Dong, 1995; Schuhmann, 1995; Zhang et al., 2010) sont parmi les plus emblématiques. Ils permettent de mesurer un courant produit lors

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

d'une réaction chimique grâce à une réaction d'oxydoréduction ayant lieu à la surface de l'électrode. On utilise généralement ce type de mesure pour un composé biologique spécifique puisqu'il s'agit d'un processus opérant à un potentiel constant (Dzyadevych et al., 2008).

Les biocapteurs basés sur des biorécepteurs enzymatiques sont les biocapteurs électrochimiques les plus communs.

Dans tous ces systèmes les objets biologiques doivent être immobilisés sur des surfaces afin de pouvoir quantifier le signal reçu. Une part très importante dans la confection de biocapteurs réside ainsi dans l'étude de l'interaction des biomolécules et des surfaces, à la fois au niveau expérimental mais également au niveau de la chimie théorique.

### 1.4. Les transistors à effet de champ

#### 1.4.2. Principe de fonctionnement

Les transistors à effet de champ, développés en premier lieu par J.E Lilienfeld, correspondent à un sous-type des transistors utilisant un champ électrique pour contrôler la conductivité au sein d'un « canal » constitué dans un matériau semi-conducteur. Ils sont composés de trois électrodes métalliques : une source et un drain, mis en contact grâce à un semi-conducteur, ainsi qu'une grille indépendante séparée par une couche mince isolante. Le fonctionnement du système repose sur l'application d'une différence de potentiel entre la grille et la source permettant ainsi de modifier la densité de charge entre la source et le drain et donc le courant circulant dans l'appareil. La figure 6 représente un transistor à effet de champ avec ses différentes parties.

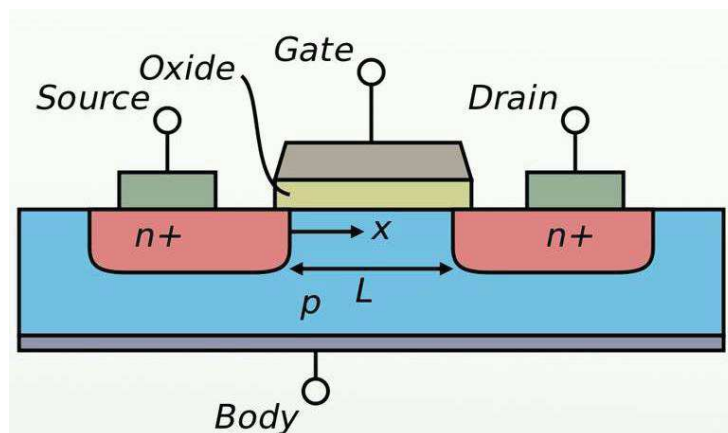


Figure 6 - Schéma général d'un transistor à effet de champ

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

De nos jours, ce type de transistor est parmi les plus utilisés (« field effect transistor » ou FET) (Amos and James, 2013) au même titre que les transistors électrochimiques dit « Poly(ethylenedioxythiophene) :poly(styrenesulfonate) » (PEDOT :PSS) (Strakosas et al., 2015). Ces dernières années les transistors à effet de champ ont été très largement employés pour la confection de biocapteurs en raison de leur intégration simpliste dans des systèmes portable et pour leur capacité très sensible aux changements opérants sur des surfaces.

On s'intéresse ici à un type de transistor à effet de champ nommé « Electrolyte-Gated Organic Field Effect Transistors » (EGOFET). Dans celui-ci, le semi-conducteur se retrouve en contact avec un électrolyte et présente des avantages considérables comme biocapteur : faible potentiel d'utilisation et compatibilité dans les milieux aqueux. La figure 7 présente un système EGOFET.

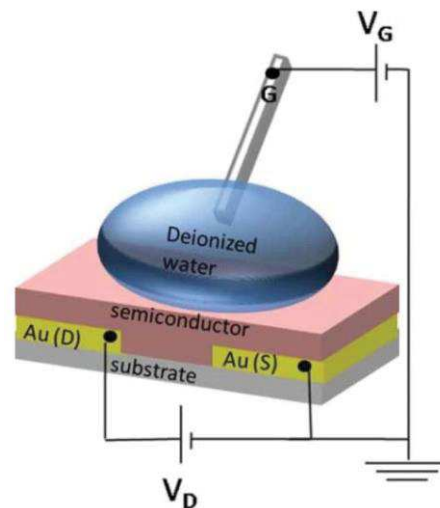


Figure 7 - Schéma d'un EGOFET d'après (Kergoat et al., 2010)

Ce type de système a été introduit pour la première fois par Schenk, en 1978 (Cheung, 1978). Il présente l'avantage d'être simple, portable et de proposer une haute sensibilité (détection allant jusqu'au picomolaire ou femtomolaire d'analyte). Il n'utilise qu'une faible quantité d'échantillon et peut être opérant à bas coût, tout en permettant une détection et quantification de l'analyte en temps réel.

Dans des biocapteurs avec transistor à effet de champ, le changement opérant lors de la biorecognition peut être corrélé à la concentration en analyte (Yin et al., 2013). Des

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

exemples de transistors à effet de champ, utilisant notamment du graphène comme composant, pour détecter tous types d'objets biologiques sont reportés dans la littérature : Récemment Chen *et al.* ont développé une méthode permettant la détection de l'antigène du virus Ebola, responsable aujourd'hui d'une crise sanitaire très importante dans le monde, en se basant sur l'utilisation de graphène et d'un transistor à effet de champ. Cette méthode s'appuie sur les caractéristiques de semiconducteur du graphène afin de construire un transistor dont le courant détecté diminue lorsque la glycoprotéine du virus est en présence. (Chen et al., 2017)

Lin *et al.* quant à eux ont développé un biocapteur avec un transistor à effet de champ utilisant des nanorubans de graphène afin de détecter le bleu de méthylène, un composé essentiel notamment pour son rôle en guise de marqueur biologique. Leur système se veut très sensible avec une limite de détection assez basse (Lin et al., 2017).

### 1.4.3. L'utilisation du graphène comme canal semi-conducteur

Le contrôle de la couche semi-conductrice du transistor est très important puisqu'elle permet de réguler la densité de charges circulant entre deux électrodes, et donc améliorer la détection électronique du système biologique. En raison de ses propriétés électroniques intéressantes et de sa capacité de passer de l'état de conducteur à celui de semi-conducteur, le graphène se présente comme un excellent candidat à ce poste (cf. figure 8).

Il s'agit d'un plan monoatomique caractérisé par sa forte conductivité thermique et électrique avec un gap nul. Ce dernier peut être modulé par dopage atomique ou adsorption de molécules isolées sur sa surface. De manière générale, le graphène étant un système électronique  $\pi$ , des interactions intermoléculaires impliquant des systèmes  $\pi$  sont privilégiées, ce qui laisse un large panel de choix pour l'interaction de systèmes biologiques tels que les protéines, les complexes enzymatiques ou encore les nanomatériaux fonctionnalisés (Burley and Petsko, 1985; Chen et al., 2017; Hong et al., 2001; Lin et al., 2017; Meyer et al., 2003; Toss et al., 2014). La figure 8 montre plusieurs aspects intéressants du graphène.



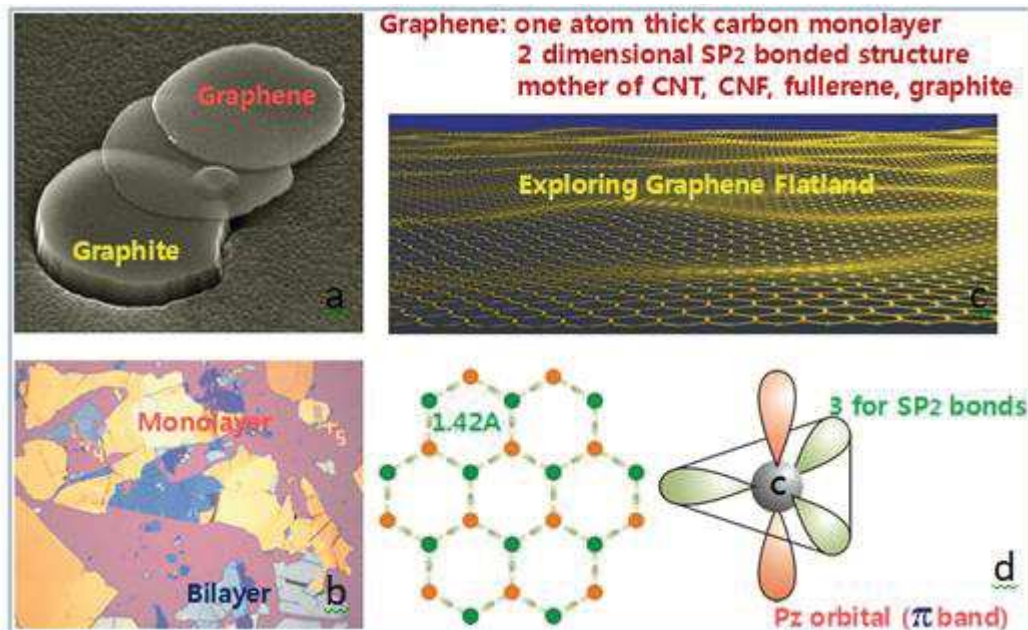


Figure 8 – Quelques représentations du graphène. (a) Image de microscopie électronique à balayage de graphite et de feuillet de graphène. (b) Image de microscope à force atomique (topographique) de monocouches atomiques. (c) Feuillet de graphène à dimension. (d) Structure du graphène

De nombreuses études sur la fonctionnalisation non covalente du graphène ont ainsi été menées. Par exemple, An et *al.* ont fonctionnalisé le graphène par du 1-pyrenecarboxylic acid (PCA) grâce à une interaction de type  $\pi$ -stacking, et ont montré que des propriétés optiques uniques, absentes du graphène « pristine », pouvaient être obtenues tout en maintenant le caractère conducteur de ce dernier (An et al., 2011). Wang et *al.* quant à eux proposent la fonctionnalisation non-covalente avec des molécules de perylène possédant un groupement carboxylate. Ce complexe a ensuite été utilisé pour le développement d'oxyde métallique via la méthode ALD (Wang et al., 2008).

Des études menées sur le dopage par le bore ou l'azote ont montré une modification significative des propriétés électroniques et de transport du graphène. (Terrones et al., 2012) D'autres études ont également mis en lumière l'intérêt de défauts présents sur le réseau puisqu'ils peuvent augmenter l'énergie d'adsorption et faciliter le transfert de charge en renforçant les orbitales hybrides entre graphène et adsorbat (Boukhvalov and Katsnelson, 2008; Kasry et al., 2010; Wang et al., 2009). L'auto-assemblage de dérivés du perylène (Zhang et al., 2011b), de molécules biologiques (Spiwok et al., 2011), de composés porphyrines ou phtalocyanine (Altenburg et al., 2015; Järvinen et al., 2014) et autres molécules polycycliques (Gunasinghe et al., 2012; MacLeod et al., 2015; Zeng et al., 2015)

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

sur des surfaces de graphène a été réalisé et a montré la formation d'un réseau auto-organisé. Les modifications au niveau électronique et les ouvertures de gap ont également été discutées dans ces différentes publications. Des applications dans divers domaines tel que celui du photovoltaïque, pour du graphène fonctionnalisé, ont été prospectées (Liu et al., 2015). Le graphène est également le centre d'une étude menée par Xu et al. dans laquelle ils se sont intéressés à la construction d'un système de graphène construit sur un substrat saphir et utilisé comme canal de conduction d'un transistor à effet de champ. Cet édifice a ensuite été testé pour la détection de l'hybridation d'un double brin d'ADN. (Xu et al., 2018)

### 2. Les surfaces intelligentes

Le second projet s'inscrit dans le cadre d'un problème sanitaire très important qui est celui posé par les maladies nosocomiales.

Ces infections ou maladies couramment appelées « maladie de l'hôpital » sont contractées en milieu hospitalisé lors d'une visite dans l'établissement pour un traitement autre. Aujourd'hui ces maladies sont extrêmement fréquentes, on compte près de 750000 infections déclarées par an en France, et peuvent causer de graves pathologies pouvant entraîner la mort. Il s'agit d'un problème sanitaire très sérieux pour lequel des mesures sont nécessaires. Près de 26% de ces infections sont dues à des micro-organismes tels que *Escherichia Coli*, 19% à cause de *Staphylococcus Aureus* et environ 8% à cause d'organismes comme *Pseudomonas Aeruginosa* (Guggenbichler et al., 2011).

L'un des principaux modes de contamination réside dans la greffe d'implants tels que les cathéters, véritables lieux propices à la prolifération d'agents pathogènes et à la formation de biofilms. La figure 9 illustre l'implantation d'un cathéter conduisant à la formation d'un biofilm.

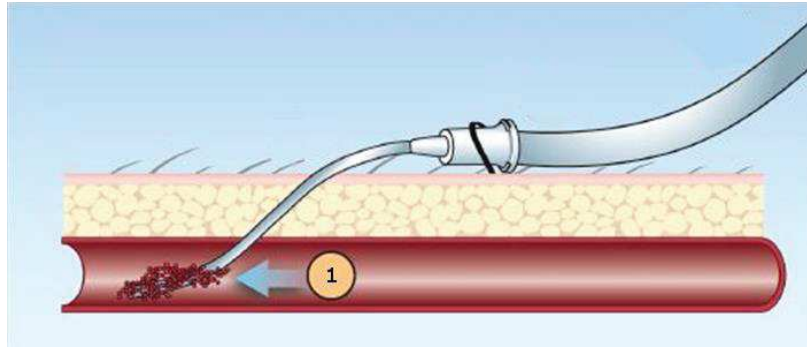


Figure 9 – Schéma de l'implantation d'un cathéter conduisant à la formation d'un biofilm (1)

Les revêtements antibactériens se présentent aujourd'hui comme un moyen de lutte efficace contre les biofilms. Il en existe d'ores et déjà un très grand nombre décrit dans la littérature (Darouiche and Hull, 2004; Dickschat, 2010; Swartjes et al., 2015) notamment à base d'argent, connu pour son effet bactéricide, mais malheureusement toxique pour le corps humain (Dye, 2014). Une nouvelle voie de recherche autour de ces revêtements consiste en l'élaboration de surfaces dites « intelligentes », construites autour de peptides antimicrobiens et qui auraient des propriétés thérapeutiques face à des sources courantes de contamination telle que qu'*Escherichia Coli* ou *Staphylococcus Aureus*.

### 2.1. Les peptides antimicrobiens

#### 2.1.1. Caractéristiques des peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens sont généralement constitués de 12 à 50 acides aminés et souvent chargés positivement (de +2 à +12 en fonction du nombre d'acide aminés, chargés eux même positivement, présent dans le système comme les lysines ou les arginines). (Brogden, 2005; Hancock and Chapple, 1999; Kichler et al., 2006; Scocchi et al., 2011; Yu et al., 2010). La séquence de ces édifices est très importante puisqu'une modification de cette dernière peut drastiquement altérer l'activité des peptides. En effet la nature cationique du peptide antimicrobien permet une excellente interaction avec des bactéries riches en liposaccharide qui donnent une surface chargée négativement à ces édifices. (Madigan and Martinko, 2005) Ainsi la nature des acides aminés est primordiale, tout comme les éléments de structure secondaire et tertiaire.

Les peptides antimicrobiens sont des espèces amphiphiles possédant donc une partie hydrophobe (facilitant l'insertion dans les systèmes cibles) et une partie hydrophile (Hancock

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

and Chapple, 1999; Helle et al., 2007; Jin et al., 2005; Yount et al., 2006). La plupart d'entre eux ne sont pas structurés en solution mais atteignent une configuration spécifique dans des membranes ou bien au contact de composants hydrophobiques. Les peptides antimicrobiens proposent une large activité curative contre des systèmes tels que les virus, les champignons ou encore les bactéries (Auvynet and Rosenstein, 2009; Hancock and Sahl, 2006; Izadpanah and Gallo, 2005). On peut également relever certaines autres activités thérapeutiques, de la part de ces peptides, comme un effet anticancéreux ou un effet stimulant du système immunitaire (Izadpanah and Gallo, 2005).

On peut noter qu'il existe également des peptides anioniques riches en acide glutamique et en acide aspartique conférant à ces systèmes une charge négative. Celle-ci, ainsi que la nature amphiphile, sont alors importantes pour l'activité antimicrobienne de ces dispositifs que l'on retrouve majoritairement dans des systèmes respiratoires. (Goumon et al., 1998; Kieffer et al., 1998). Les propriétés électrostatiques de ces systèmes, ainsi que leur polarité, impliquent une orientation unique du peptide qui permet une bonne interaction avec les membranes bactériques et facilite la pénétration dans ces dernières (Dennison et al., 2006; Lins and Brasseur, 2008).

Les premiers peptides antimicrobiens peuvent se classer selon différentes familles. Au départ, ils étaient nommés en lien avec l'espèce dont ils sont issus (Andres and Dimarcq, 2007; Csordas and Michl, 1969, 1970; Diamond et al., 2009; Jenssen et al., 2006; Tosteson and Tosteson, 1981). Plus tard de nouveaux noms de familles firent leur apparition, tous se basant sur un critère définis. Actuellement, la classification fait part de la charge globale du système ainsi que de sa structure (Shai, 2002). On retrouve par exemple la famille des « Cathélicidines ». Nous allons nous intéresser ici plus particulièrement à cette famille correspondant à celle des PAM amphiphiles et cationiques. Au sein de cette famille, nous retrouvons la cateslytine, qui est un dérivé de la chromogranine A, et ayant pour propriétés de résister assez bien aux dégradations engendrées par les protéases. (Aslam et al., 2013) Cette courte séquence est celle que nous avons utilisée au cours de notre étude dans le cadre du second projet. Sa séquence est la suivante : RSMRLSFRARGYGFR

### 2.1.2. Mode d'action des peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens peuvent être impliqués de différentes façons dans un processus de défense contre une infection donnée. Ils peuvent agir directement en ciblant une bactérie

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

(à Gram positif ou négatif), un virus, une cellule cancéreuse ou bien encore un champignon, mais aussi permettre l'activation de cellules immunitaires (Hancock and Sahl, 2006). On retrouve également leur activité dans le cadre de la régénération cellulaire, régénération des tissus ou régénération nerveuse mais également pour lutter contre certaines maladies inflammatoires.

Ces actions sont directement gouvernées par leurs caractéristiques telles que la conformation, la charge ou bien encore le caractère amphiphile et leur activité peut ainsi varier lorsqu'un de ces paramètres est modifié (Yeaman and Yount, 2003).

Par exemple, une majorité des peptides antimicrobiens cationiques ont une action directe sur la membrane des bactéries guidée par la nature anionique de ces dernières (Zasloff, 2002).

Les peptides antimicrobiens ont également montré leur efficacité face à des virus à ADN ou à ARN, par exemple en interagissant avec les parties virales responsables de l'adhésion, empêchant ainsi la propagation des pathogènes dans leur cible. (Jenssen et al., 2006)

### 2.2. La dihydroxyphénylalanine

Comme décrit précédemment le système auquel on s'intéresse est composé de 3 parties : Une partie d'accroche, une partie clivable qui peut être coupée spécifiquement par une enzyme présente à la surface du staphylocoque doré, libérant ainsi la troisième et dernière partie de la séquence totale, à savoir le peptide antimicrobien (cateslytine).

La séquence d'accroche évoquée se compose d'un mélange de dihydroxyphénylalanine et de lysine.

La dihydroxyphénylalanine ou L-DOPA ( $C_9H_{11}NO_4$ ) est un des constituants majeur de la protéine mefp-3 que l'on retrouve en abondance dans des filaments appelés fil de byssus, caractéristique mollusque marin usuellement appelé « la moule » (cf. figure 10). Grâce à cette glande la moule synthétise des dizaines de filaments de l'ordre de quelques centimètres de longueur, qui lui permettent de s'accrocher sur tout type de surface dans les milieux marins.

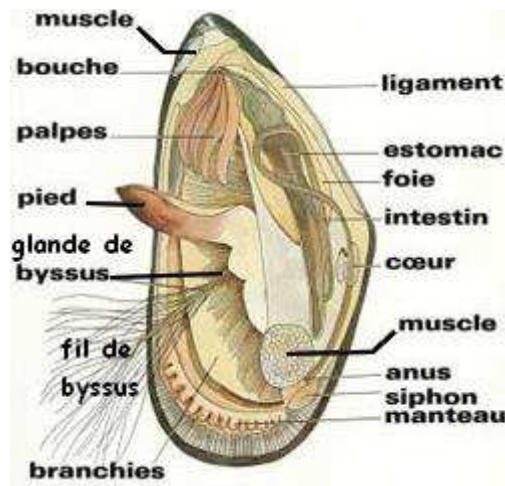


Figure 10 - Vue en coupe du fruit de mer : la moule

Selon la littérature la dihydroxyphénylalanine est un acteur majeur du pouvoir d'adhésion du mollusque marin grâce à l'action conjointe des protéines mefp-3 et mefp-5 (Brubaker and Messersmith, 2012; Dalsin and Messersmith, 2005; Kaur et al., 2018; Waite and Tanzer, 1980) qui permettent ainsi une adhésion sur n'importe quel type de surface. Au travers de ces deux protéines, dans le milieu marin, la L-DOPA est combinée à la L-Lysine qui chasse les cations hydratés sur les surfaces rocheuses permettant ainsi une accroche optimale de la L-DOPA. Cette dernière présente une chimie de coordination très intéressante qui lui donne la capacité de s'attacher à des surfaces inorganiques préférentiellement sous une forme catéchol (forme réduite) et à des surfaces organiques préférentiellement sous une forme quinone (forme oxydée), permettant ainsi d'être un outil de choix pour greffer des systèmes antimicrobiens sur une large gamme de surfaces dans le but de construire des dispositifs bactériocides (Peyre et al., 2012).

Comme évoqué précédemment, une part importante de bactéries retrouvées dans le cadre des infections nosocomiales correspond à *Staphylococcus Aureus*, qui fait partie des souches les plus virulentes d'infections. Le système a ainsi été construit avec une partie clivable qui est coupée spécifiquement par une protéine de surface du staphylocoque doré.

### 2.3. Staphylococcus Aureus

#### 2.3.1. Caractéristiques générales

Le Staphylocoque doré (*Staphylococcus Aureus*) est une espèce du genre *Staphylococcus* et provient de la famille des *Micrococcaceae*. Il s'agit de l'agent le plus pathogène de son genre qui comprend des bactéries à gram positif, non capables de former des spores et nécessitant de l'oxygène pour se développer. Le Staphylocoque doré a été isolé pour la première fois en 1880 par l'Écossais Alexander Ogston (Ogston, 1881) à partir de pus. Il l'observera ensuite au microscope en 1882 (Ogston, 1882). Son appellation « dorée » provient de sa capacité à produire des pigments dorés.

#### 2.3.2. Protéines sécrétées par le staphylocoque doré

Un grand nombre de protéines sont sécrétées par le staphylocoque doré. Ces protéines qui viendront amplifier et aider son infection d'un organisme. On retrouve notamment des enzymes, des protéases, des exotoxines ou bien encore des cytotoxines. Ces différentes espèces permettent à l'agent pathogène de résister ou d'échapper aux traitements et de convertir des parties de l'environnement *in-vivo* en nutriments nécessaires à sa survie. (Drapeau et al., 1972; Kuroda et al., 2001; Mazmanian et al., 1999; Shaw et al., 2004)

Il sécrète un certain nombre de protéases tel que la *Staphylococcus Aureus* protéase V8 (ou endoprotéinase Glu-C) qui est une protéinase à serine capable de cliver sélectivement les liaisons peptidiques entre les C terminaux et les résidus acides glutamiques. Elle peut également couper au niveau des acides aspartiques à une vitesse beaucoup moins importante. (cf. figure 11)



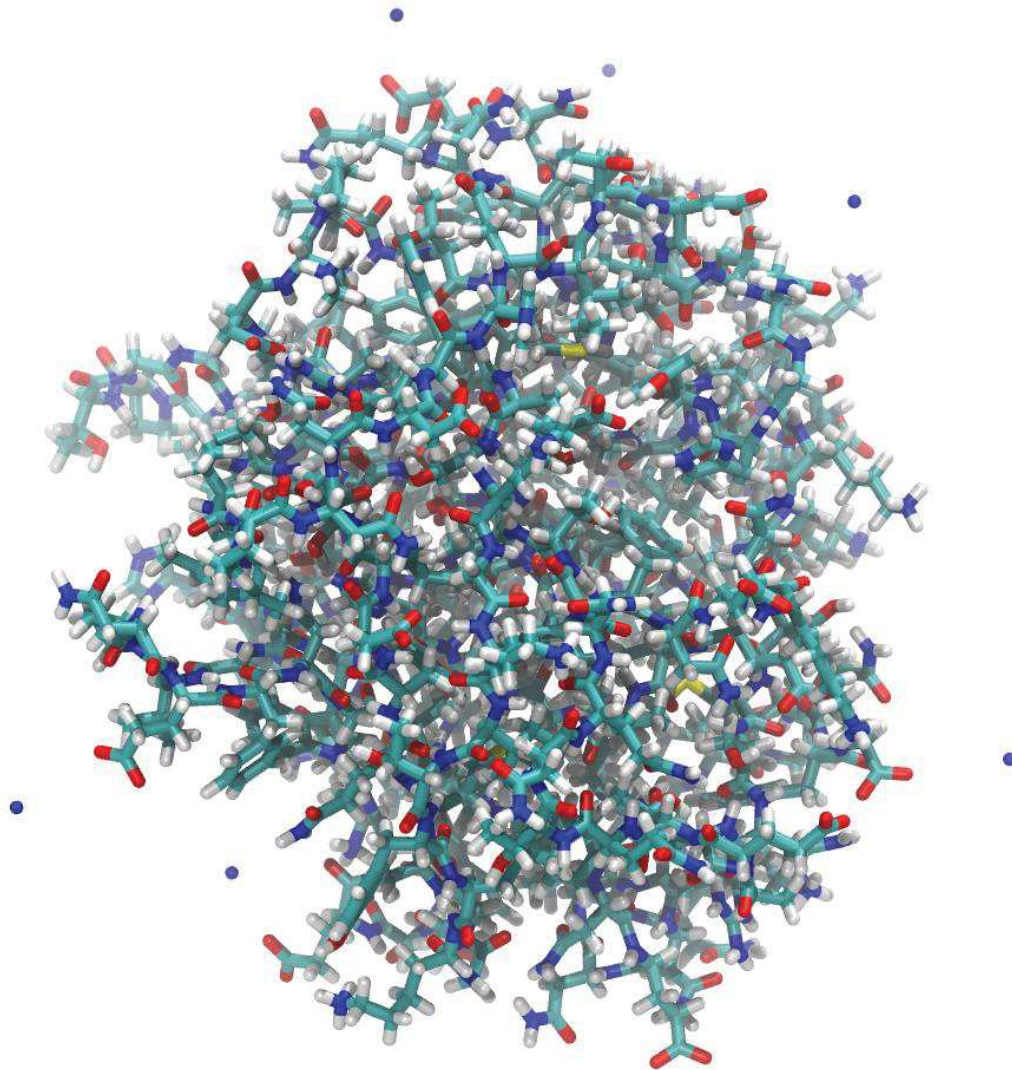


Figure 11 - Image de l'endoprotéinase Glu-C



### Problématiques de la thèse

Les biomatériaux au sens large ont donc un rôle primordial dans de nombreux domaines. Dans celui de la santé, au cœur de toutes les attentions, deux utilisations principales retiennent ici notre attention.

Tout d'abord l'emploi de ces biomatériaux dans des dispositifs de détections communément appelés biocapteurs. Ces dispositifs classés selon le biorécepteur considéré ou bien le système de transduction se décline en de nombreux types. Des édifices biologiques divers et variés tel que les enzymes, les acides aminés ou encore les couples anticorps/antigènes peuvent jouer le rôle de ces récepteurs où l'interaction spécifique est des plus importantes. Le type de transduction est également très différent en fonction du système choisis mêlant à la fois l'électronique, l'optique ou encore l'électrochimie.

Afin de quantifier un signal reçu, il est souvent nécessaire d'immobiliser ces édifices biologiques sur des surfaces, mettant en avant la question de l'interaction entre ces deux aspects du système. De nombreuses études ont été menées aussi bien expérimentalement que grâce à la chimie théorique en impliquant à la fois des méthodes quantiques et des méthodes de mécanique moléculaire.

Dans le cadre de ces travaux, nous nous intéressons plus particulièrement à un biocapteur impliquant des transistors à effet de champs. Ces dispositifs électroniques, intégrés à des capteurs, permettent la détection de la reconnaissance biologique par la mesure des variations de courant.

L'autre aspect des biomatériaux mis en lumière dans nos travaux est celui de leur utilisation pour des revêtements intelligents. Cette thématique intervient en réponse au problème sanitaire que posent les maladies nosocomiales en France chaque année. L'une des principales sources de contamination constatée réside dans les implants, lieux particulièrement enclin à la prolifération d'agents pathogènes parfois très dangereux (tel que *Staphylococcus Aureus*) et à la formation de biofilms rendant très difficile le traitement de ces agents infectieux.

Ainsi, le revêtement des implants par des systèmes antimicrobiens peut s'avérer être une solution très intéressante pour lutter contre ce type d'infection

Nous proposons ici d'étudier un revêtement construit autour d'un peptide antimicrobien (PAM). Ces agents biologiques existent en nombre très important et possèdent des

## **Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes**

---

caractéristiques bien distinctes permettant de cibler un très large panel d'agents pathogènes.

Le dispositif complet est composé, en plus de cet agent antimicrobien, d'une surface biocompatible, d'une partie d'accroche et d'une partie clivable qui est coupée spécifiquement par des protéines de surface du staphylocoque doré pour libérer le PAM de façon ciblée.

Expérimentalement, ce système tribloc (partie accroche, partie clivable et partie antimicrobienne) fonctionne parfaitement bien en solution mais devient totalement inefficace une fois greffé sur une surface.

Des problématiques se distinguent au sein de nos projets respectifs :

Comment optimiser le système impliquant un biocapteur au niveau du transistor à effet de champ d'une part et au niveau de l'interaction biospécifique d'autre part.

Comprendre pourquoi le système composé de 3 parties devient inefficace une fois adsorbé sur une surface alors qu'il l'était parfaitement en solution.

### Bibliographie

Abdullah, J., Ahmad, M., Heng, L.Y., Karuppiah, N., and Sidek, H. (2007). An Optical Biosensor based on Immobilization of Laccase and MBTH in Stacked Films for the Detection of Catechol. *Sensors* 7, 2238–2250.

Altenburg, S.J., Lattelais, M., Wang, B., Bocquet, M.-L., and Berndt, R. (2015). Reaction of phthalocyanines with graphene on Ir (111). *Journal of the American Chemical Society* 137, 9452–9458.

Amos, S.W., and James, M. (2013). Principles of transistor circuits: introduction to the design of amplifiers, receivers and digital circuits (Elsevier).

An, X., Butler, T.W., Washington, M., Nayak, S.K., and Kar, S. (2011). Optical and sensing properties of 1-pyrenecarboxylic acid-functionalized graphene films laminated on polydimethylsiloxane membranes. *ACS Nano* 5, 1003–1011.

Andres, E., and Dimarcq, J.L. (2007). Cationic antimicrobial peptides: from innate immunity study to drug development. Up date. *Medecine et Maladies Infectieuses* 37, 194–199.

Aslam, R., Marban, C., Corazzol, C., Jehl, F., Delalande, F., Van Dorsselaer, A., Prévost, G., Haïkel, Y., Taddei, C., and Schneider, F. (2013). Cateslytin, a chromogranin A derived peptide is active against *Staphylococcus aureus* and resistant to degradation by its proteases. *PLoS One* 8, e68993.

Auvynet, C., and Rosenstein, Y. (2009). Multifunctional host defense peptides: antimicrobial peptides, the small yet big players in innate and adaptive immunity. *The FEBS Journal* 276, 6497–6508.

Bizet, K., Gabrielli, C., Perrot, H., and Thérasse, J. (1995). La microbalance à quartz électrochimique: perspectives d'application en biologie médicale. *Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée* 10, 205–211.

Boukhvalov, D.W., and Katsnelson, M.I. (2008). Chemical functionalization of graphene with defects. *Nano Letters* 8, 4373–4379.

Brogden, K.A. (2005). Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nature Reviews Microbiology* 3, 238.

Brubaker, C.E., and Messersmith, P.B. (2012). The present and future of biologically inspired adhesive interfaces and materials. *Langmuir* 28, 2200–2205.

Bucur, B., Munteanu, F.-D., Marty, J.-L., and Vasilescu, A. (2018). Advances in Enzyme-Based Biosensors for Pesticide Detection. *Biosensors* 8, 27.

Burley, S.K., and Petsko, G.A. (1985). Aromatic-aromatic interaction: a mechanism of protein structure stabilization. *Science* 229, 23–28.

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

Carrascosa, L.G., Calle, A., and Lechuga, L.M. (2009). Label-free detection of DNA mutations by SPR: application to the early detection of inherited breast cancer. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 393, 1173.

Chen, Y., Ren, R., Pu, H., Guo, X., Chang, J., Zhou, G., Mao, S., Kron, M., and Chen, J. (2017). Field-Effect Transistor Biosensor for Rapid Detection of Ebola Antigen. *Scientific Reports* 7, 10974.

Cheung, P.W. (1978). *Theory, design, and biomedical applications of solid state chemical sensors* (Crc Press).

Chi, Q., and Dong, S. (1995). Amperometric biosensors based on the immobilization of oxidases in a Prussian blue film by electrochemical codeposition. *Analytica Chimica Acta* 310, 429–436.

Chouteau, C., Dzyadevych, S., Chovelon, J.-M., and Durrieu, C. (2004). Development of novel conductometric biosensors based on immobilised whole cell *Chlorella vulgaris* microalgae. *Biosensors and Bioelectronics* 19, 1089–1096.

Clark, L.C. (1956). Monitoring and control of blood tensions *Amer. Soc. Art. Int. Organe* 2, 41.

Clark, L.C., and Lyons, C. (1962). ELECTRODE SYSTEMS FOR CONTINUOUS MONITORING IN CARDIOVASCULAR SURGERY. *Annals of the New York Academy of Sciences* 102, 29–45.

Csordas, A., and Michl, H. (1969). Primary structure of two oligopeptides of the toxin of *Bombina variegata* L. *Toxicon* 7, 103–108.

Csordas, A., and Michl, H. (1970). Isolation and structure of an hemolytic polypeptide from defensive secretion of European *Bombina* species. *Monatshefte Fur Chemie* 101, 182-.

Dalsin, J.L., and Messersmith, P.B. (2005). Bioinspired antifouling polymers. *Materials Today* 8, 38–46.

Darouiche, R., and Hull, R. (2004). Combination of antimicrobial agents and bacterial interference to coat medical devices.

Delvaux, M., and Demoustier-Champagne, S. (2003). Immobilisation of glucose oxidase within metallic nanotubes arrays for application to enzyme biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* 18, 943–951.

Dennison, S.R., Howe, J., Morton, L.H., Brandenburg, K., Harris, F., and Phoenix, D.A. (2006). Interactions of an anionic antimicrobial peptide with *Staphylococcus aureus* membranes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 347, 1006–1010.

Diamond, G., Beckloff, N., Weinberg, A., and Kisich, K.O. (2009). The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Current Pharmaceutical Design* 15, 2377–2392.

Dickschat, J.S. (2010). Quorum sensing and bacterial biofilms. *Natural Product Reports* 27, 343–369.

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

Drapeau, G.R., Boily, Y., and Houmard, J. (1972). Purification and properties of an extracellular protease of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biological Chemistry* 247, 6720–6726.

Dye, C. (2014). After 2015: infectious diseases in a new era of health and development. *Phil. Trans. R. Soc. B* 369, 20130426.

Dzyadevych, S.V., Arkhypova, V.N., Soldatkin, A.P., El'Skaya, A.V., Martelet, C., and Jaffrezic-Renault, N. (2008). Amperometric enzyme biosensors: Past, present and future. *Irbm* 29, 171–180.

Ensafi, A.A., Taei, M., Rahmani, H.R., and Khayamian, T. (2011). Sensitive DNA impedance biosensor for detection of cancer, chronic lymphocytic leukemia, based on gold nanoparticles/gold modified electrode. *Electrochimica Acta* 56, 8176–8183.

Gorgy, K. (2015). Nanotechnologies: les biocapteurs au service de l'allergie. *Revue Francaise d'Allergologie* 3, 181–182.

Goumon, Y., Lugardon, K., Kieffer, B., Lefèvre, J.-F., Van Dorsselaer, A., Aunis, D., and Metz-Boutigue, M.-H. (1998). Characterization of Antibacterial COOH-terminal Proenkephalin-A-derived Peptides (PEAP) in Infectious Fluids IMPORTANCE OF ENKELYTIN, THE ANTIBACTERIAL PEAP209–237 SECRETED BY STIMULATED CHROMAFFIN CELLS. *Journal of Biological Chemistry* 273, 29847–29856.

Guggenbichler, J.P., Assadian, O., Boeswald, M., and Kramer, A. (2011). Incidence and clinical implication of nosocomial infections associated with implantable biomaterials–catheters, ventilator-associated pneumonia, urinary tract infections. *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär* 6.

Gunasinghe, R.N., Reuven, D.G., Suggs, K., and Wang, X.-Q. (2012). Filled and empty orbital interactions in a planar covalent organic framework on graphene. *The Journal of Physical Chemistry Letters* 3, 3048–3052.

Hancock, R.E., and Chapple, D.S. (1999). Peptide antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43, 1317–1323.

Hancock, R.E., and Sahl, H.-G. (2006). Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature Biotechnology* 24, 1551.

Helle, K.B., Corti, A., Metz-Boutigue, M.-H., and Tota, B. (2007). The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. *Cellular and Molecular Life Sciences* 64, 2863–2886.

Hong, B.H., Lee, J.Y., Lee, C.-W., Kim, J.C., Bae, S.C., and Kim, K.S. (2001). Self-assembled arrays of organic nanotubes with infinitely long one-dimensional H-bond chains. *Journal of the American Chemical Society* 123, 10748–10749.

Ispas, C.R., Crivat, G., and Andreescu, S. (2012). recent developments in enzyme-based biosensors for biomedical analysis. *Analytical Letters* 45, 168–186.

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

Izadpanah, A., and Gallo, R.L. (2005). Antimicrobial peptides. *Journal of the American Academy of Dermatology* 52, 381–390.

Jang, H.S., Park, K.N., Kang, C.D., Kim, J.P., Sim, S.J., and Lee, K.S. (2009). Optical fiber SPR biosensor with sandwich assay for the detection of prostate specific antigen. *Optics Communications* 282, 2827–2830.

Järvinen, P., Hämäläinen, S.K., Ijäs, M., Harju, A., and Liljeroth, P. (2014). Self-assembly and orbital imaging of metal phthalocyanines on a graphene model surface. *The Journal of Physical Chemistry C* 118, 13320–13325.

Jensen, H. avar, Hamill, P., and Hancock, R.E. (2006). Peptide antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 19, 491–511.

Jin, Y., Hammer, J., Pate, M., Zhang, Y., Zhu, F., Zmuda, E., and Blazyk, J. (2005). Antimicrobial activities and structures of two linear cationic peptide families with various amphipathic  $\beta$ -sheet and  $\alpha$ -helical potentials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49, 4957–4964.

Kasry, A., Kuroda, M.A., Martyna, G.J., Tulevski, G.S., and Bol, A.A. (2010). Chemical doping of large-area stacked graphene films for use as transparent, conducting electrodes. *ACS Nano* 4, 3839–3844.

Kaur, S., Narayanan, A., Joy, A., and Dhinojwala, A. (2018). Understanding the Role of DOPA in Underwater Adhesion. *Bulletin of the American Physical Society*.

Kergoat, L., Herlogsson, L., Braga, D., Piro, B., Pham, M.-C., Crispin, X., Berggren, M., and Horowitz, G. (2010). A water-gate organic field-effect transistor. *Advanced Materials* 22, 2565–2569.

Kichler, A., Mason, A.J., and Bechinger, B. (2006). Cationic amphipathic histidine-rich peptides for gene delivery. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 1758, 301–307.

Kieffer, B., Dillmann, B., Lefèvre, J.-F., Goumon, Y., Aunis, D., and Metz-Boutigue, M.-H. (1998). Solution conformation of the synthetic bovine proenkephalin-A209–237 by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Journal of Biological Chemistry* 273, 33517–33523.

Kimmel, D.W., LeBlanc, G., Meschievitz, M.E., and Cliffl, D.E. (2011). Electrochemical sensors and biosensors. *Analytical Chemistry* 84, 685–707.

Kuroda, M., Ohta, T., Uchiyama, I., Baba, T., Yuzawa, H., Kobayashi, I., Cui, L., Oguchi, A., Aoki, K., and Nagai, Y. (2001). Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet* 357, 1225–1240.

Lagarde, F., and Jaffrezic-Renault, N. (2010). *Techniques Emergentes D'analyse de L'eau Utilisant du Materiel Biologique*. Ed. Techniques Ingénieur.

Lin, T.-C., Li, Y.-S., Chiang, W.-H., and Pei, Z. (2017). A high sensitivity field effect transistor biosensor for methylene blue detection utilize graphene oxide nanoribbon. *Biosensors and Bioelectronics* 89, 511–517.

## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

Lins, L., and Brasseur, R. (2008). Tilted peptides: a structural motif involved in protein membrane insertion? *Journal of Peptide Science* *14*, 416–422.

Liu, Z., Lau, S.P., and Yan, F. (2015). Functionalized graphene and other two-dimensional materials for photovoltaic devices: device design and processing. *Chemical Society Reviews* *44*, 5638–5679.

MacLeod, J.M., Lipton-Duffin, J.A., Cui, D., De Feyter, S., and Rosei, F. (2015). Substrate effects in the supramolecular assembly of 1, 3, 5-benzene tricarboxylic acid on graphite and graphene. *Langmuir* *31*, 7016–7024.

Madigan, M., and Martinko, J. (2005). *Brock biology of microorganisms*. (11th edn) (SciELO Espana).

Mazmanian, S.K., Liu, G., Ton-That, H., and Schneewind, O. (1999). Staphylococcus aureus sortase, an enzyme that anchors surface proteins to the cell wall. *Science* *285*, 760–763.

Meyer, E.A., Castellano, R.K., and Diederich, F. (2003). Interactions with aromatic rings in chemical and biological recognition. *Angewandte Chemie International Edition* *42*, 1210–1250.

Nilsson, H., Åkerlund, A.-C., and Mosbach, K. (1973). Determination of glucose, urea and penicillin using enzyme-pH-electrodes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* *320*, 529–534.

Nowicka, A.M., Kowalczyk, A., Stojek, Z., and Hepel, M. (2010). Nanogravimetric and voltammetric DNA-hybridization biosensors for studies of DNA damage by common toxicants and pollutants. *Biophysical Chemistry* *146*, 42–53.

Ogston, A. (1881). Report upon micro-organisms in surgical diseases. *British Medical Journal* *1*, 369–b2.

Ogston, A. (1882). Micrococcus poisoning. *Journal of Anatomy and Physiology* *16*, 526.

Peyre, J., Humblot, V., Méthivier, C., Berjeaud, J.-M., and Pradier, C.-M. (2012). Co-grafting of amino-poly (ethylene glycol) and magainin I on a TiO<sub>2</sub> surface: tests of antifouling and antibacterial activities. *The Journal of Physical Chemistry B* *116*, 13839–13847.

Porter, R.R. (1959). The hydrolysis of rabbit  $\gamma$ -globulin and antibodies with crystalline papain. *Biochemical Journal* *73*, 119–127.

Rahman, M.A., Shiddiky, M.J., Park, J.-S., and Shim, Y.-B. (2007). An impedimetric immunosensor for the label-free detection of bisphenol A. *Biosensors and Bioelectronics* *22*, 2464–2470.

Scheller, F.W., Wollenberger, U., Warsinke, A., and Lisdat, F. (2001). Research and development in biosensors. *Current Opinion in Biotechnology* *12*, 35–40.



## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

Schuhmann, W. (1995). Electron-transfer pathways in amperometric biosensors. Ferrocene-modified enzymes entrapped in conducting-polymer layers. *Biosensors and Bioelectronics* 10, 181–193.

Scocchi, M., Tossi, A., and Gennaro, R. (2011). Proline-rich antimicrobial peptides: converging to a non-lytic mechanism of action. *Cellular and Molecular Life Sciences* 68, 2317–2330.

Shaw, L., Golonka, E., Potempa, J., and Foster, S.J. (2004). The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology* 150, 217–228.

Spiwok, V., Hobza, P., and Řezáč, J. (2011). Free-energy simulations of hydrogen bonding versus stacking of nucleobases on a graphene surface. *The Journal of Physical Chemistry C* 115, 19455–19462.

Strakosas, X., Bongo, M., and Owens, R.M. (2015). The organic electrochemical transistor for biological applications. *Journal of Applied Polymer Science* 132.

Swartjes, J., Sharma, P.K., Kooten, T.G., Van der Mei, H.C., Mahmoudi, M., Busscher, H.J., and Rochford, E.T.J. (2015). Current developments in antimicrobial surface coatings for biomedical applications. *Current Medicinal Chemistry* 22, 2116–2129.

Terrones, H., Lv, R., Terrones, M., and Dresselhaus, M.S. (2012). The role of defects and doping in 2D graphene sheets and 1D nanoribbons. *Reports on Progress in Physics* 75, 062501.

Tor, R., and Freeman, A. (1986). New enzyme membrane for enzyme electrodes. *Analytical Chemistry* 58, 1042–1046.

Toss, H., Suspene, C., Piro, B., Yassar, A., Crispin, X., Kergoat, L., Pham, M.-C., and Berggren, M. (2014). On the mode of operation in electrolyte-gated thin film transistors based on different substituted polythiophenes. *Organic Electronics* 15, 2420–2427.

Tosteson, M.T., and Tosteson, D.C. (1981). The sting. Melittin forms channels in lipid bilayers. *Biophysical Journal* 36, 109–116.

Waite, J.H., and Tanzer, M.L. (1980). The bioadhesive of *Mytilus byssus*: a protein containing L-dopa. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 96, 1554–1561.

Wang, J. (2008). Electrochemical glucose biosensors. *Chemical Reviews* 108, 814–825.

Wang, X., Tabakman, S.M., and Dai, H. (2008). Atomic layer deposition of metal oxides on pristine and functionalized graphene. *Journal of the American Chemical Society* 130, 8152–8153.

Wang, X., Li, X., Zhang, L., Yoon, Y., Weber, P.K., Wang, H., Guo, J., and Dai, H. (2009). N-doping of graphene through electrothermal reactions with ammonia. *Science* 324, 768–771.

Xu, S., Jiang, S., Zhang, C., Yue, W., Zou, Y., Wang, G., Liu, H., Zhang, X., Li, M., and Zhu, Z. (2018). Ultrasensitive label-free detection of DNA hybridization by sapphire-based graphene field-effect transistor biosensor. *Applied Surface Science* 427, 1114–1119.



## Chapitre 2 : Généralités sur les biocapteurs et les surfaces intelligentes

---

Yeaman, M.R., and Yount, N.Y. (2003). Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacological Reviews* 55, 27–55.

Yin, P.T., Kim, T.-H., Choi, J.-W., and Lee, K.-B. (2013). Prospects for graphene–nanoparticle-based hybrid sensors. *Physical Chemistry Chemical Physics* 15, 12785–12799.

Yount, N.Y., Bayer, A.S., Xiong, Y.Q., and Yeaman, M.R. (2006). Advances in antimicrobial peptide immunobiology. *Peptide Science* 84, 435–458.

Yu, H.-Y., Huang, K.-C., Yip, B.-S., Tu, C.-H., Chen, H.-L., Cheng, H.-T., and Cheng, J.-W. (2010). Rational Design of Tryptophan-Rich Antimicrobial Peptides with Enhanced Antimicrobial Activities and Specificities. *Chembiochem* 11, 2273–2282.

Zasloff, M. (2002). Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 415, 389.

Zeng, X., Chang, S., Deng, K., Zhang, J., Sun, H., Zeng, Q., and Xie, J. (2015). Synthesis and Molecular Structures of BINOL Complexes: An STM Investigation of 2D Self-Assembly. *Crystal Growth & Design* 15, 3096–3100.

Zhang, Q., Dai, P., and Yang, Z. (2011a). Sensitive DNA-hybridization biosensors based on gold nanoparticles for testing DNA damage by Cd (II) ions. *Microchimica Acta* 173, 347–352.

Zhang, Z., Huang, H., Yang, X., and Zang, L. (2011b). Tailoring electronic properties of graphene by  $\pi$ - $\pi$  stacking with aromatic molecules. *The Journal of Physical Chemistry Letters* 2, 2897–2905.

Zhang, Z.B., Yuan, S.J., Zhu, X.L., Neoh, K.G., and Kang, E.T. (2010). Enzyme-mediated amperometric biosensors prepared via successive surface-initiated atom-transfer radical polymerization. *Biosensors and Bioelectronics* 25, 1102–1108.

# **Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène**

## Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

### Sommaire

<b>1. Introduction.....</b>	<b>82</b>
<b>2. Détails techniques.....</b>	<b>84</b>
<b>3. Présentation des systèmes étudiés.....</b>	<b>85</b>
<b>4. Etudes théorique de systèmes construits expérimentalement .....</b>	<b>87</b>
4.1. Exploration de la surface d'énergie potentielle .....	87
4.2. Dynamique moléculaire : adsorption à température ambiante .....	92
4.3. Propriétés électroniques : comparaison à l'expérience .....	95
<b>5. Design de métalloporphyrines.....</b>	<b>97</b>
5.1. Effet du centre métallique.....	97
5.2. Propriétés électroniques .....	102
<b>6. Conclusion .....</b>	<b>104</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>106</b>

### 1. Introduction

Le développement de matériaux et de dispositifs aux propriétés nouvelles nécessite un contrôle optimal d'un grand nombre de paramètres et de processus comme par exemple l'adsorption de molécules sur des surfaces. Les nanomatériaux impliquant des carbones hybridés  $sp^2$  comme le graphite, les nanotubes de carbone, les fullerènes ou le graphène ont attiré l'attention ces dernières années en raison de leurs potentielles applications dans de multiples domaines. Ici nous nous intéressons plus spécifiquement au graphène. Il s'agit d'un plan monoatomique caractérisé par sa forte conductivité thermique et électrique avec un gap nul. On le caractérise comme un système électronique  $\pi$ , favorisant ainsi les interactions moléculaires avec les autres systèmes  $\pi$ . De nombreuses études sur la fonctionnalisation non covalente du graphène ont ainsi déjà été menées. An et *al.* ont fonctionnalisé le graphène par du 1-pyrenecarboxylic acid (PCA) grâce à une interaction de type  $\pi$ -stacking, et ont montré que des propriétés optiques uniques, absentes du graphène « pristine », pouvaient être obtenues tout en maintenant le caractère conducteur de ce dernier (An et al., 2011). Wang et *al.* quant à eux proposent la fonctionnalisation non-covalente avec des molécules de perylène possédant un groupement carboxylate. Ce complexe a ensuite été utilisé pour le développement d'oxyde métallique via la méthode ALD (Wang et al., 2008). Nous nous sommes intéressés à l'adsorption de molécules diatomiques pour des éléments de la seconde ligne du tableau périodique ( $Li_2$ ,  $B_2$ ,  $C_2$ ,  $O_2$ ,  $N_2$  et  $F_2$ ) sur une surface de graphène. L'énergie d'adsorption ainsi que la nature de l'interaction ont toutes deux été étudiées avec une approche périodique et une approche non périodique au moyen de calculs DFT tenant compte de la correction de la dispersion. Ces travaux ont mis en avant la diversité dans les processus d'adsorption avec par exemple des sites d'adsorption sur la surface de graphène qui varient en fonction de la molécule étudiée (Rahali et al., 2017). L'une des principales limites quant à l'utilisation du graphène dans des applications autour des nanosystèmes électroniques est son gap nul autour du niveau de Fermi. Une méthode permettant l'ouverture d'un gap consiste à doper le graphène au moyen d'une substitution atomique sur sa surface où un atome de carbone est remplacé par un atome d'un autre type.

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

Le processus de substitution a largement été étudié dans la littérature (Sanyal et al., 2009; Yan et al., 2012) et il a dore et déjà été montré qu'il entraînait des dommages sur la structure de la surface et altérait les propriétés mécaniques du matériau.

Une alternative serait l'adsorption d'atomes, de diatomiques ou de molécules sur une surface de graphène.

Ainsi, l'adsorption de molécules, en particulier par physisorption, semble être une excellente méthode pour conserver l'intégrité du graphène. (Chang et al., 2012; Dong et al., 2009; MacLeod et al., 2015; Medina et al., 2011; Wang et al., 2009; Zhang et al., 2010). L'adsorption non covalente de molécules organiques aromatiques sur le graphène grâce à des interactions  $\pi$ - $\pi$  et  $\pi$ -HC apparaît une méthode douce prometteuse permettant de modifier les propriétés électroniques sans endommager la surface carbonée (Zhang et al., 2011). Ainsi en combinant les propriétés spécifiques des molécules adsorbées à cette adsorption douce, il devient possible de contrôler l'interaction et les propriétés électroniques du graphène

A titre d'exemple, Arramel et al. (Castellanos-Gomez and van Wees, 2013) se sont intéressés à la capacité des métalloporphyrines à ouvrir un gap dans la structure de bande du graphène. Ils ont également montré que la taille de ce gap était dépendante du type des porphyrines adsorbées et de leur assemblage.

Bien que de nombreux progrès ont été réalisés, il s'agit encore d'un champ de recherche où les manipulations et caractérisations du graphène sont toujours difficiles en raison de la taille des systèmes et des outils expérimentaux requis. Les méthodes de modélisation moléculaire apparaissent donc comme un excellent outil dans le but d'étudier les processus d'adsorption sur le graphène. Au cours de travaux réalisés dans notre équipe en amont du projet de thèse, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'adsorption de la mélanine et du NTCDI (ainsi que leur complexe) avec un taux de recouvrement plus ou moins important, et la formation de réseau auto-assemblés sur ces surfaces grâce à des liaisons hydrogènes intermoléculaires. Cette étude a été réalisée en modélisation moléculaire grâce à l'utilisation de la méthode de la DFT telle qu'implémentée dans le code de calcul VASP. Les propriétés électroniques et notamment les densités d'état (DOS) ont été calculées et comparées à la littérature (Quesne-Turin et al., 2017; Rahali et al., 2017). Dans cette partie nous nous intéressons à l'utilisation du graphène dans le transistor à effet de champs de type EGOFET. En effet, le graphène pourrait être utilisé comme couche semi-conductrice en particulier

## Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

lorsqu'il est fonctionnalisé par un adsorbat permettant l'ouverture de gap. Sa forte sensibilité à l'environnement extérieur est un atout pour réaliser une détection biologique. Récemment par exemple, Chen *et al.* ont développé une méthode permettant la détection de l'antigène du virus Ebola. Leur méthode s'appuie sur les caractéristiques de semi-conducteur du graphène dans le but de construire un transistor dont le courant détecté diminue lorsque la glycoprotéine du virus est en présence (Chen et al., 2017). Lin *et al.* quant à eux ont développé un biocapteur avec un transistor à effet de champ utilisant des nanorubans de graphène afin de détecter le bleu de méthylène, un composé essentiel notamment pour son rôle en guise de marqueur biologique. Leur système se veut très sensible et une limite de détection assez basse (Lin et al., 2017).

Dans ce chapitre nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'adsorption de porphyrines sur le graphène, du point de vue de la chimie théorique (méthodes quantiques et méthodes de dynamique moléculaire), afin de maîtriser ce processus et obtenir les clés permettant de moduler avec précision le passage de matériau conducteur à matériau semi-conducteur du graphène et ainsi d'optimiser notre système global. En effet, la couche semi-conductrice est celle qui permet de contrôler la densité de charges circulant entre les deux électrodes et donc d'affiner les critères de détection électronique du système biologique.

### 2. Détails techniques

Nous avons construit notre surface de graphène périodique au moyen du logiciel Modelview. Pour le processus d'adsorption, le modèle « slab » a été utilisé en ajoutant un vide de 15 Å le long de l'axe z. Le code de calcul « Vienna Ab-initio Simulation Package » (VASP 5.4.1) (Sun et al., 2003) a été utilisé pour optimiser les structures et calculer les énergies d'adsorption ainsi que les propriétés électroniques. La méthode de l'approximation du gradient généralisé (GGA) a été utilisé afin de résoudre l'équation de Kohn-Sham (Kresse and Furthmüller, 1996). La convergence des ondes planes a, quant à elle, été obtenue avec un cutoff de 500eV. La méthode GGA a été utilisée avec la fonctionnelle de Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE) (Perdew et al., 1996). L'implémentation de la zone de Brillouin dans l'espace réciproque a été faite grâce à la grille Monkhorst-pack (Kresse and Furthmüller, 1996). La contribution de la dispersion a été ajoutée en utilisant la méthode de calcul DFT-D,

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

développée par Grimme et *al.* (Grimme et al., 2010, 2011; Moellmann and Grimme, 2014). L'échantillonnage dans la zone de Brillouin a été réalisé sur une grille de k-points (3x3x1) pour les optimisations de géométrie et sur une grille de k-points (9x9x1) pour les calculs des densités d'état (DOS). La différence de densité de charge du complexe (porphyrine et graphène) par rapport au graphène isolé et à la porphyrine isolée, ont été calculé grâce à l'équation (1) :

$$\Delta\rho(r) = \rho_{P/G}(r) - \rho_G(r) - \rho_P(r) \quad (1)$$

Où P et G font références à la porphyrine et au graphène respectivement. Les valeurs positives ( $\Delta\rho(r) > 0$ ) correspondent à une accumulation d'électrons et les valeurs négatives ( $\Delta\rho(r) < 0$ ) correspondent à une perte d'électrons dans le complexe.

La dynamique moléculaire a été réalisée au moyen du code de calcul AMBER version 12 (Case et al.; Pearlman et al., 1995). Une cellule de graphène 120x120 Å<sup>2</sup> non chargée a été considérée pour les calculs dans les conditions aux limites périodiques. La surface a été « gelée » durant les dynamiques moléculaires ainsi seules les interactions dispersives sont considérées par le champ de force d'AMBER 12.

Le système est contenu dans une boîte tridimensionnelle avec des conditions périodiques et la surface de graphène a été gelée.

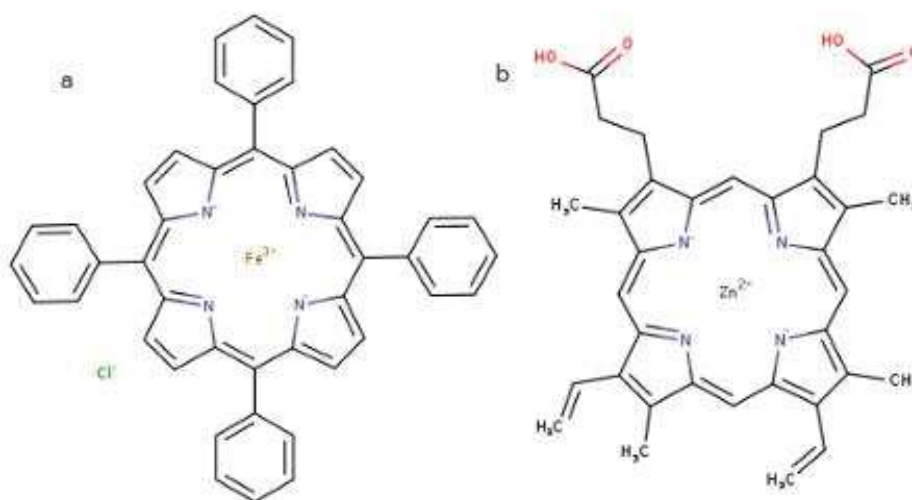
Afin d'avoir une vue statistique sur les mouvements à la surface du graphène une dynamique de 100 ns a été entreprise. L'algorithme SHAKE (Ryckaert et al., 1977) a été utilisé, un pas de 2 fs a été choisis pour la dynamique. La simulation a été démarrée avec une géométrie optimisée suivis d'une chauffe de 60 ps. La visualisation et l'analyse des structures ont été réalisées à l'aide du logiciel « visual molecular dynamic » et le logiciel cpptraj (Roe and Cheatham III, 2013).

### 3. Présentation des systèmes étudiés

Dans ce premier chapitre nous nous sommes intéressés ; grâce à la chimie théorique, au processus d'adsorption de deux métalloporphyrines sur une surface de graphène. Ces deux systèmes sont la 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphyrine Fer(III) Chlore et la 7,12-Diethenyle-3,8,13,17-tetramethyle-21H,23Hporphyrine-2,18 acide dipropanoïque Zinc que

## Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

nous appellerons plus simplement TPPFeCl et DPPZn respectivement. Une représentation de ces deux molécules est donnée dans la figure 1.



**Figure 1 - Représentation des systèmes (a) 5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphyrine Fer(III) Chlore (TPPFeCl) et (b) 7,12-Diethenyle-3,8,13,17-tetraméthyle-21H,23Hporphyrine-2,18 acide dipropanoïque Zinc (DPPZn)**

Arramel et *al.* (Castellanos-Gomez and van Wees, 2013) ont mené des travaux expérimentaux sur ces deux systèmes et se sont intéressés à l'adsorption de ces porphyrines sur une surface de graphène. Plus particulièrement, ils ont étudié l'effet du stacking  $\pi$ - $\pi$ , des porphyrines sur la surface carbonée, sur les propriétés électroniques du graphène. Grâce à des mesures STM, ils ont ainsi pu mettre en évidence la formation de petites chaînes moléculaires sur la surface de graphène, témoin du dépôt réussi des différentes porphyrines. « Les chaînes » de DPPZn sur la surface de graphène s'avèrent être de plus petite taille que celles de TPPFeCl. Cette différence a été attribuée à la force d'interaction qui n'est pas la même dans les deux cas : alors que TPPFeCl interagit fortement avec le graphène, résultant en une physisorption de molécules individuelles et localisées, les porphyrines de zinc interagissent plus faiblement avec la surface et auront ainsi tendance à réaliser des interactions intermoléculaire entre-elles favorisées par les groupes donneurs accepteurs (COH ...O=C) et former des agrégats. De plus l'absence de phényles sur DPPZn prive la molécule d'une certaine rigidité observable sur la porphyrine de Fer. Ils ont également quantifié les propriétés électroniques de la surface de graphène après le dépôt grâce à des mesures de spectroscopie à effet tunnel (STS) (Castellanos-Gomez et al., 2012; Wojtaszek et al., 2011). Les courbes de densités de courant en fonction de la tension réalisées ont montré



## Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

que plusieurs cas présentaient une conductance à zéro, indiquant l'ouverture d'un gap sur le graphène après le dépôt des deux porphyrines. Des analyses plus fines ont ensuite permis d'évaluer un gap ouvert de l'ordre de 0,45 eV pour l'adsorption de la porphyrine de fer et de l'ordre de 0,23 eV pour l'adsorption de la porphyrine de zinc.

### 4. Etudes théorique de systèmes construits expérimentalement

#### 4.1. Exploration de la surface d'énergie potentielle

Dans un premier temps nous avons exploré la surface d'énergie potentielle des systèmes afin d'obtenir la géométrie la plus stable ainsi que les paramètres clés, tels que les paramètres électroniques et stériques, guidant le processus d'adsorption. Les premiers calculs ont été réalisés en utilisant les fonctionnelles PBE, PBE-D2 et PBE-D3 respectivement. Les deux dernières fonctionnelles employées prennent en compte la dispersion (Kresse and Hafner, 1993) et sont ainsi attendues pour avoir des effets importants quant au processus d'adsorption de systèmes larges conjugués sur des surfaces (Chilukuri et al., 2014; Teyssandier et al., 2013).

Pour ce faire, les complexes TPPFeCl-graphène et DPPZn-graphène ont été construits et nommés GTPPFeCl et GDPPZn respectivement. Pour chacune des porphyrines, le centre métallique a été placé sur trois sites d'adsorption différents définis comme les plus stables pour des adsorptions de systèmes sur graphène : Les sites hollow, bridge et top dont une représentation est donné dans la figure 2.

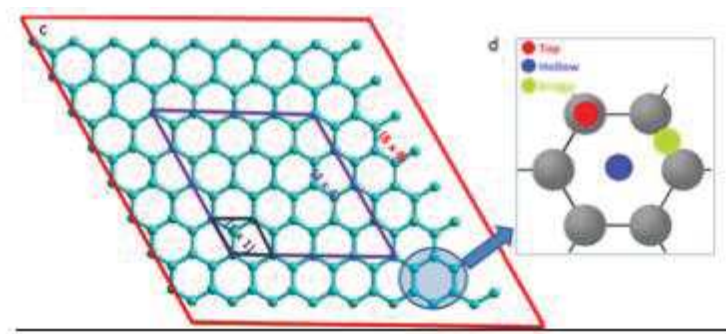


Figure 2 - Représentation des sites d'adsorptions remarquables (top, hollow, bridge) sur le graphène

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

Les géométries des complexes ont ensuite été optimisées et les énergies d'adsorptions déterminées grâce à l'équation (2) :

$$\Delta E_{\text{ads}} = E_{\text{PG}} - E_{\text{G}} - E_{\text{P}} \quad (2)$$

Où  $E_{\text{PG}}$  est l'énergie électronique totale du complexe,  $E_{\text{G}}$  et  $E_{\text{P}}$ , respectivement sont les énergies électroniques totales du graphène isolé et de la porphyrine isolée. Les différents résultats obtenus avec et sans les corrections de dispersion aux niveaux PBE-D2 et PBE-D3 sont donnés dans le Tableau 1.

System	Adsorption site	$\Delta E_{\text{ads}}$ pure PBE (kcal/mol)	$\Delta E_{\text{ads}}$ PBE-D2 (kcal/mol)
GTPPFeCl	Bridge	-3,36	-35,71
	Hollow	-1,37	-25,80
	Top	-3,40	-36,10
GDPPZn	Bridge	-1,15	-55,48
	Hollow	-3,03	-55,41
	Top	-1,37	-52,70

**Tableau 1 Energie d'adsorption pour GTPPFeCl et GDPPZn au niveau PBE et PBE-D2 en kcal/mol**

Pour le système GTPPFeCl, avec la fonctionnelle PBE pure, les sites d'adsorption top et bridge donnent les valeurs d'énergie les plus stables respectivement de -3,40 kcal/mol et -3,36 kcal/mol. Le site hollow lui présente l'énergie d'adsorption la moins stable avec une différence relative de l'ordre de 2,02 kcal/mol par rapport à la position bridge. Une représentation pour les cas des sites d'adsorption top et bridge est donnée sur la figure 3.

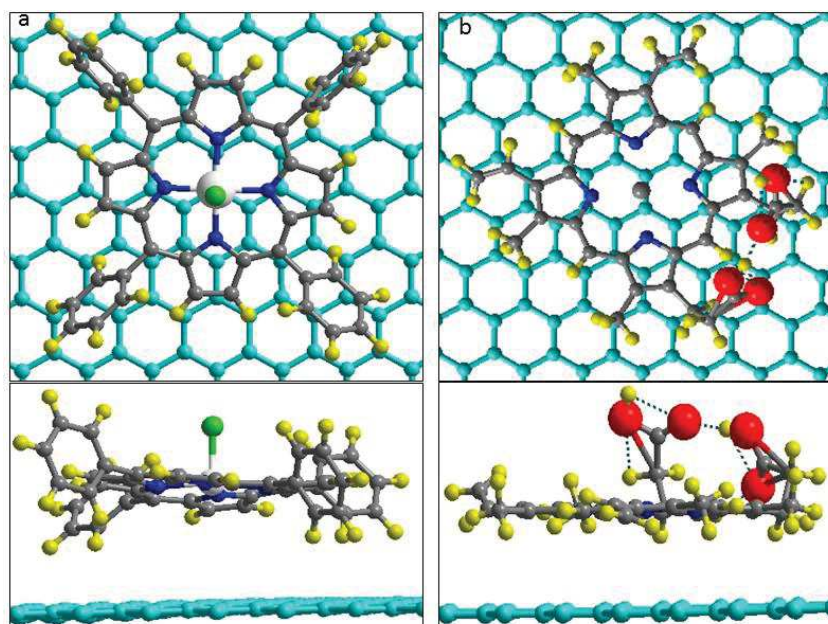


Figure 3 - Sites d'adsorption les plus stables, obtenus au niveau PBE, pour les systèmes GTPPFeCl (à gauche) et GDPPZn (à droite)

Pour DPPZn, au niveau PBE, le site d'adsorption le plus stable obtenu est le site hollow avec une énergie d'adsorption égale à -3,03 kcal/mol. En comparaison à celui-ci, les sites bridge et top présentent des énergies d'adsorption moins stables respectivement de 1,66 et 1,88 kcal/mol.

La comparaison entre les calculs aux niveaux PBE et PBE-D2 met en lumière l'effet des forces de dispersion sur la stabilité des complexes. En ajoutant cette contribution au niveau D2 (ordre 2), l'adsorption est beaucoup plus exothermique et les énergies d'adsorption obtenues sont comprises entre -25,80 et -55,48 kcal/mol en fonction du centre métallique et du site considéré. Ces résultats montrent ainsi clairement que le processus d'adsorption est contrôlé par les forces dispersives.

Le complexe GDPPZn présente l'énergie d'adsorption minimum avec une valeur de -55,48 kcal/mol pour le site bridge. Le site hollow met en jeu une stabilité relativement similaire alors que le site top est moins stable de 2,70 kcal/mol.

Dans le cas de GTPPFeCl, le minimum d'adsorption est obtenu pour le site top avec une énergie de -36,10 kcal/mol. Les configurations bridge et hollow sont quant à elles moins stables avec respectivement des énergies d'adsorption de -35,71 et -25,80 kcal/mol.

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

Il a été montré dans la littérature que PBE-D2 pouvait parfois surestimer les énergies d'adsorption. (Grimme et al., 2010) Ainsi une correction à l'ordre 3 semble nécessaire pour mieux décrire et valider ces contributions dispersives.

Nous avons ainsi employé la méthode DFT-D3 et obtenu des résultats globalement plus bas en énergie que ceux obtenus avec une correction à l'ordre 2. Ces résultats sont donnés dans le tableau 2.

System	Adsorption site	$\Delta E_{\text{ads}}$ PBE-D3 (kcal/mol)	Minimum Vertical Spacing (PBE-D3) (Å) (CH...G)	Vertical Spacing (PBE-D3) (Å) (M...G)
GTPPFeCl	Bridge	-34,8	2,45	4,62
	Hollow	-26,0	2,56	5,20
	Top	-36,8	2,30	4,60
GDPPZn	Bridge	-54,8	2,58	3,30
	Hollow	-52,1	2,60	3,32
	Top	-50,1	2,61	3,20

**Tableau 2 - Tableau récapitulatif des énergies obtenues au niveau PBE-D3 pour les systèmes GTPPFeCl et GDPPZn en fonction des différents sites d'adsorption**

Néanmoins, les différences d'énergies d'adsorption ne diffèrent que de l'ordre de 2 à 3 kcal/mol maximum pour GTPPFeCl et GDPPZn respectivement. L'ordre de stabilité relative pour les différents sites d'adsorption n'est en revanche pas modifié.

Au niveau PBE-D3 également, le processus est globalement plus exothermique avec une contribution dispersive de l'ordre de 26,0 kcal/mol au minimum. Ceci indique donc que le processus est essentiellement guidé par les forces de dispersion.

D'un point de vue géométrique, nous avons constaté que l'adsorption de GTPPFeCl sur le graphène induisait une rotation des cycles phényles amenant à une adsorption de type T-shape entre les C-H de ces groupements benzène et la surface (interaction de type CH- $\pi$ ). Cette orientation particulière est induite par les répulsions stériques entre les hydrogènes  $\beta$  des groupements pyrroles et les hydrogènes des groupements phényles. Une distance minimale de 2,30 Å entre les groupements CH et la surface de graphène est mesurée. La distance entre l'atome métallique centrale de la porphyrine et la surface, pour GTPPFeCl, est

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

quant à elle évaluée à 4,60 Å dans la géométrie optimisée. La figure 4 représente ce système sur le site le plus stable (top).

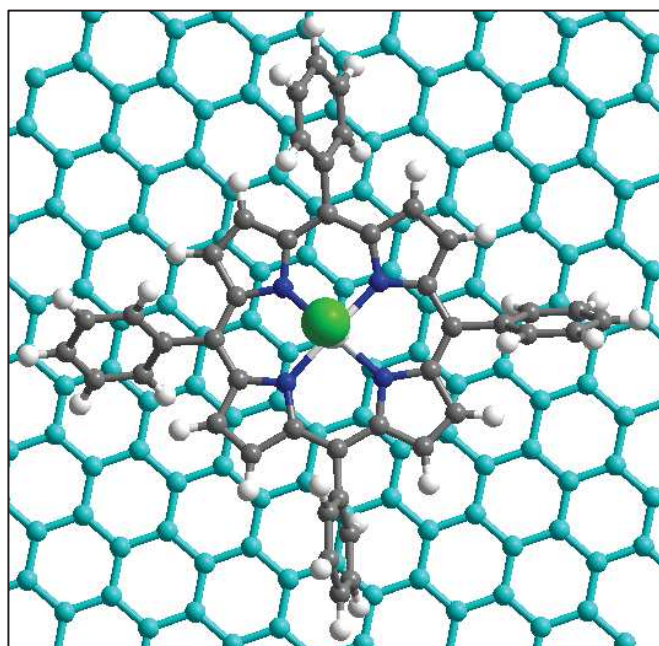


Figure 4 - Système GTPPFeCl obtenu au niveau de calcul DFT-D3 sur le site top

Les groupements phényles du système GDPPZn étant substitués par des atomes moins encombrants, l'atome métallique central et l'anneau porphyrinique sont davantage proches de la surface avec une distance mesurée de 3,30 Å. Des distances similaires sont obtenues pour d'autres molécules planes conjuguées dans la littérature. (Altenburg et al., 2015; Gunasinghe et al., 2012; Järvinen et al., 2014; MacLeod et al., 2015; Zeng et al., 2015)

Une représentation de GDPPZn sur le site bridge (le plus stable) est donnée dans la figure 5.

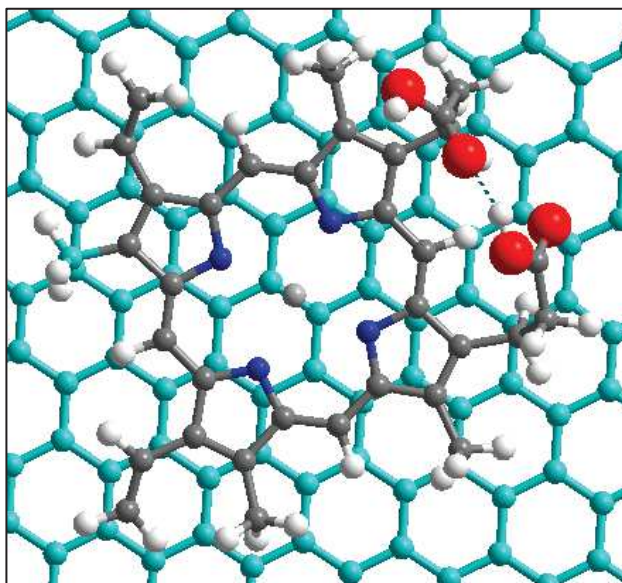


Figure 5 - Système GDPPZn obtenu au niveau de calcul DFT-D3 sur le site bridge

### 4.2. Dynamique moléculaire : adsorption à température ambiante

L'adsorption des deux porphyrines sur la surface de graphène, a été étudiée par le moyen de simulations de dynamique moléculaire à température ambiante. Au cours de ces simulations, la surface de graphène a été gelée.

Le premier résultat important est que les porphyrines restent adsorbées sur la surface de graphène tout au long de la simulation, confirmant l'aspect favorable du processus d'adsorption même à température ambiante. Ce résultat démontre aussi que le processus est principalement conduit par les forces de van der Waals qui constituent le potentiel utilisé.

Nous avons calculé les énergies d'adsorption à partir des trajectoires de dynamique moléculaire et trouvé des valeurs de -41,6 kcal/mol et -60,7 kcal/mol respectivement pour GTPPFeCl et GDPPZn. Ces valeurs sont proches de celles trouvées au niveau DFT.

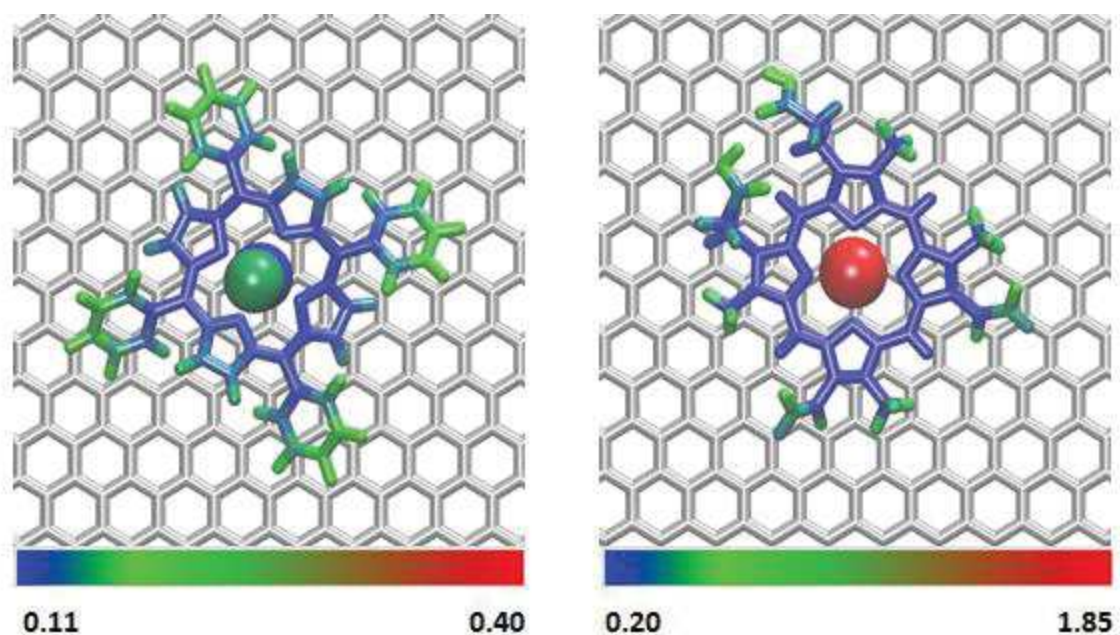
Afin de décrire la flexibilité de GTPPFeCl et GDPPZn, nous avons déterminé les valeurs du « B-facteur atomique ». B-facteur est une mesure par rayon X de la flexibilité et peut également être déterminé à partir du carré des fluctuations atomiques enregistrées durant les N frames de la dynamique moléculaire. L'équation de la mesure du B-facteur est la suivante :

$$B(i) = \frac{8\pi^2}{3} \times \frac{1}{T} \{ \sum_{t=1}^T [x_i(t) - \bar{x}_i]^2 + [y_i(t) - \bar{y}_i]^2 + [z_i(t) - \bar{z}_i]^2 \} \quad (3)$$



### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

Où  $m_i$  représente la masse atomique de l'atome considéré. Le B-facteur est un outil utile permettant de visualiser quelle partie de la molécule considérée est plus flexible qu'une autre. La figure 6 illustre ces mesures où l'amplitude des mouvements est décrite grâce à un code couleur : bleu correspond à de petites fluctuations alors que la couleur rouge correspond à des fluctuations de plus grandes amplitudes.



**Figure 6 - Amplitude des mouvements de chaque atome dans les systèmes GTPPFeCl (à gauche) et GDPPZn (à droite). L'amplitude est donnée grâce à un code couleur dans lequel bleu indique le mouvement le plus faible et rouge indique le mouvement le plus important**

On remarque immédiatement que l'atome central de la porphyrine (métal et cycles pyrroles) présente une rigidité importante durant la simulation. Ceci indique également qu'il n'y a pas de réelle variation de distance entre la porphyrine et la surface de graphène durant la simulation ce qui est en accord avec la forte interaction entre les deux.

Dans le cas du composé GDPPZn, les groupements méthyle, éthyle, acide propanoïque et surtout l'atome métallique fluctuent plus fortement que le squelette de la porphyrine. Par conséquent, les variations d'énergies sont guidées par les mouvements de ces groupes alors que la partie centrale de la porphyrine demeure rigide. La partie porphyrine semble être relativement symétrique si on en croit le B-facteur. En effet, les  $\text{CH}_3$  amènent des fluctuations relativement similaires tout au long de la trajectoire, de même que pour les groupements éthyles ainsi que pour l'acide propanoïque. Ces résultats montrent ainsi

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

qu'une exploration conformationnelle rigoureuse a été menée sur la dynamique moléculaire puisque le B-facteur est, par définition, une valeur moyenne. Egalement, l'atome de zinc semble être la partie la plus fluctuante du système.

Dans le cas de la porphyrine de fer, la partie la plus fluctuante correspond à une partie des benzènes ainsi qu'à l'atome de chlore. Les groupements méthyles ont également une grande liberté de mouvement similairement à la porphyrine de zinc. Cependant, l'atome métallique est plus statique dans ce système que dans le système de zinc ce qui s'explique par le fait que l'atome de fer est bloqué entre les atomes d'azote et l'atome de chlore, résultant en une liberté de mouvement réduite. De plus, le mouvement de l'atome de chlore est probablement contraint par son interaction avec le fer.

Le déplacement global de la porphyrine au-dessus de la surface de graphène a été étudié en se focalisant sur les mouvements des atomes métalliques pour les deux porphyrines. Dans les deux cas, l'atome de zinc comme l'atome de fer se déplace au-dessus de la surface carbonée et atteignent les trois sites d'adsorption évoqués précédemment (top, hollow et bridge). D'un point de vue énergétique, la différence entre les 3 sites d'adsorption est relativement faible comme introduit lors de l'étude au niveau quantique. Ainsi, ce n'est pas surprenant que, à 300 K, les énergies cinétiques englobées dans la dynamique moléculaire soient suffisante pour atteindre des différents sites. Des images pour les sites d'adsorption les plus stables pour chacune des porphyrines sont données dans la figure 7.



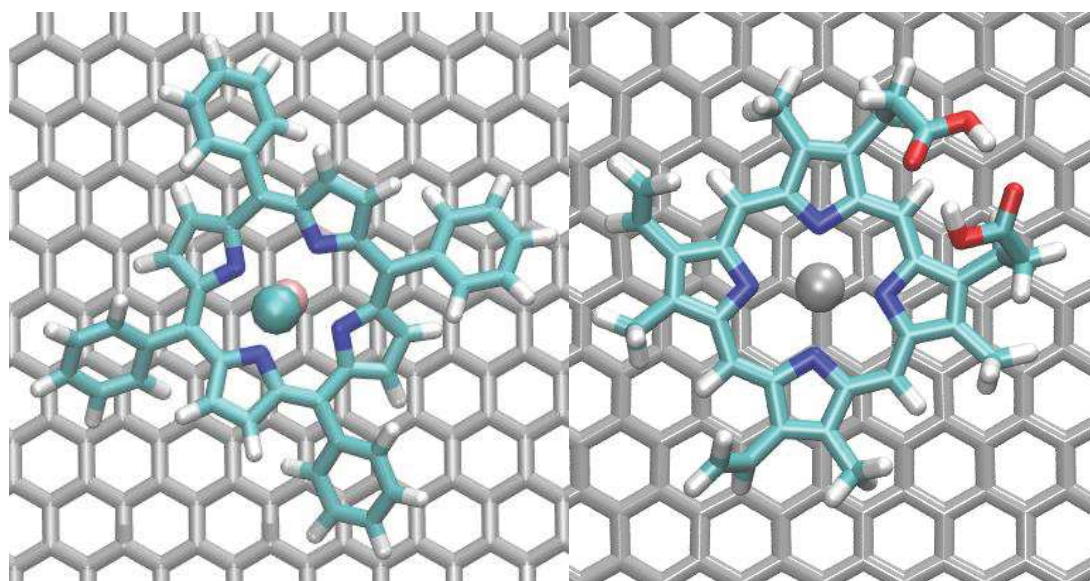
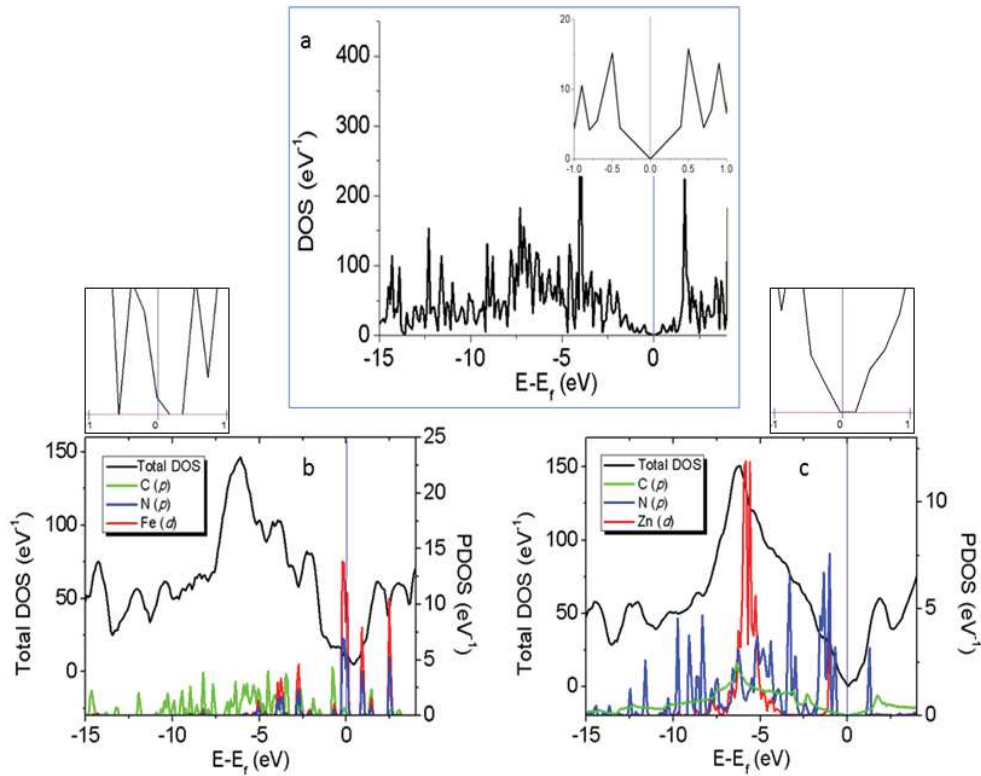


Figure 7 - Systèmes GTPPFeCl (à gauche) et GDPPZn (à droite) sur leur site d'adsorption le plus stable obtenu en dynamique moléculaire

### 4.3. Propriétés électroniques : comparaison à l'expérience

Le graphène isolé montre un caractère semi-métallique avec une dispersion linéaire des bandes de valence et de conduction au niveau de Fermi. Il a été montré qu'un gap pouvait être ouvert simplement par une adsorption de molécules (Chang et al., 2012) ou bien par un dopage moléculaire (Sanyal et al., 2009; Yan et al., 2012). La compréhension des paramètres clés qui contrôlent la taille du gap pourraient guider le design de nouveaux systèmes moléculaires plus habiles pour modifier les gaps. L'hypothèse principale mise en œuvre ici est que l'adsorption de molécules sur le graphène vient modifier l'énergie des niveaux électroniques entraînant une modification de gap, ou une ouverture de celui-ci, autour du niveau de Fermi. La densité d'état du graphène isolé est présentée sur la figure 8a. Autour du niveau de Fermi, la plus haute contribution est amenée par les orbitales  $p$  formant une bande formée d'orbitales  $\pi$  dans la bande de valence et de  $\pi^*$  dans la bande de conduction. Les densités d'états et leur projection sur les orbitales atomiques (PDOS) pour les conformations les plus stables de GTPPFeCl et GDPPZn sont données respectivement sur les figures 8b et 8c.



**Figure 8 - Densité d'état (DOS) du graphène pristine (a), de GTPPFeCl (b) et de GDPPZn (c). Sur chaque figure le niveau de Fermi a été centré sur 0 et est indiqué par une ligne bleue verticale. Les projections des DOS pour les orbitales *d* métalliques, les orbitales *p* du carbone et les orbitales *p* de l'azote pour la porphyrine sont également données en rouge, vert et bleu respectivement (la contribution de chaque orbitale atomique est élargie pour plus de clarté). Les petites boîtes au-dessus des deux projections de DOS montrent un zoom autour du niveau de Fermi.**

Dans le cas de la molécule GTPPFeCl, l'ouverture de gap estimée est de l'ordre de 0,37 eV, une valeur en accord avec la publication d'Arramel et *al.* (Castellanos-Gomez et al., 2012) qui obtient une valeur avoisinant les 0,45 eV expérimentalement. L'interaction entre les orbitales *d* du métal et/ou les orbitales *p* du squelette de la porphyrine, et les orbitales *p* de la surface de graphène a été analysée. Dans le spectre ainsi obtenu pour la DOS, on observe une forte contribution des orbitales *d* du métal autour du niveau de Fermi, qui s'ajoute à l'interaction électrostatique entre l'ion métallique et la surface de graphène. Les deux effets combinés expliqueraient l'ouverture du gap.

Dans le cas de la porphyrine GDPPZn, la valeur estimée de l'ouverture de gap s'élève à 0,18 eV ce qui est en accord avec la valeur de 0,23 eV trouvée expérimentalement par Arramel (Castellanos-Gomez et al., 2012). Cette fois, contrairement à la porphyrine de fer, les

## Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

orbitales  $d$  du métal se trouvent loin du niveau de Fermi et possèdent une densité bien moins importante.

Les valeurs de gap obtenues sont plus importantes que celles trouvées pour l'adsorption d'autres composés aromatiques : avec des calculs DFT sous l'approximation de la densité locale, l'ouverture de gap sur le graphène retenue pour des systèmes triazine et borazine adsorbés sur sa surface sont de l'ordre de 0,063 et 0,045 eV respectivement (Chang et al., 2012). En combinant des calculs expérimentaux et théoriques en DFT (au niveau PBE), Terrones et ses co-auteurs obtiennent une ouverture de gap en dopant les défauts du graphène par silicium, bore et azote (Diamond et al., 2009). Une petite valeur de gap de 0,024 eV pour une molécule mélanine adsorbée sur du graphène pristine (6x6), alors qu'une valeur de 0,090 eV a été observée pour un graphène avec des défauts (Medina et al., 2011). Par conséquent, nos résultats montrent que l'adsorption de porphyrine conduit à une méthode viable pour ouvrir un gap significatif sur le graphène.

L'ensemble de ces résultats montre ainsi le développement d'une méthode permettant de conduire à l'étude des propriétés énergétiques et électroniques de systèmes moléculaires modèles avec une bonne reproduction des résultats expérimentaux.

### 5. Design de métalloporphyrines

#### 5.1. Effet du centre métallique

Pour mieux analyser les résultats précédents et tenter de découpler l'effet de l'atome métallique du reste de la porphyrine, nous avons changé l'atome métallique au centre de la porphyrine d'une part et d'autre part nous avons regardé l'adsorption de la porphyrine sans métal sur la même surface. Nous avons ainsi étudié des systèmes comportant un atome de fer (TPPFe), un atome de manganèse (TPPMn), un atome de titane (TPPTi) ou bien un atome de zinc (TPPZn). Ces différents atomes métalliques appartiennent tous à la même période de la classification périodique des éléments, avec une croissance progressive de leur électronégativité en partant du titane pour arriver jusqu'au zinc. En effet, leur configuration électronique correspond au remplissage progressif de l'orbitale  $3d$  (Ti : [Ar]  $4s^2 3d^2$  ; Mn : [Ar]  $4s^2 3d^5$  ; Fe : [Ar]  $4s^2 3d^6$  and Zn : [Ar]  $4s^2 3d^{10}$ ).

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

Les énergies d'adsorptions calculées au niveau PBE-D3, ainsi que la distance verticale entre l'atome métallique et la surface de graphène, pour chacun de ces systèmes sont données dans le tableau 3.

Système	$\Delta E_{\text{ads}}(\text{PBE-D3})$ (kcal/mol)	Distance verticale (PBE- D3) $\Delta Z$ (Å)	Déformation du graphène (PBE-D3) (Å)	Charge $Q_M$ de l'atome métallique	$Q_c$ somme des charges des atomes C voisins au métal
GTPPTi	-57,5	2,59	0,62	+1,71	-0,27
GTPPMn	-36,1	4,41	0,27	+1,27	-0,17
GTPPFe	-35,4	4,45	0,26	+1,05	-0,16
GTPPZn	-46,6	3,37	0,21	+1,19	-0,15

**Tableau 3 - Tableau récapitulatif des énergies obtenues pour les systèmes GTPPTi, GTPPMn, GTPPFe et GTPPZn (en kcal/mol) pour les sites d'adsorption les plus stables de chacun. Le tableau indique également la distance verticale (vertical spacing) entre le métal et la surface de graphène**

Les énergies d'adsorption minimales enregistrées pour chacun des systèmes sont de -57,5 ; -36,1 ; -35,4 et -46,6 kcal/mol pour les systèmes Ti, Mn, Fe et Zn respectivement. Ces énergies correspondent à la position du métal sur le site d'adsorption le plus favorable obtenu pour chacune des porphyrines, soit le site hollow pour la porphyrine de fer, le site top pour la porphyrine de titane et le site bridge pour les cas du manganèse et du zinc. Une représentation pour chacun de ces systèmes est donnée dans la figure 9.

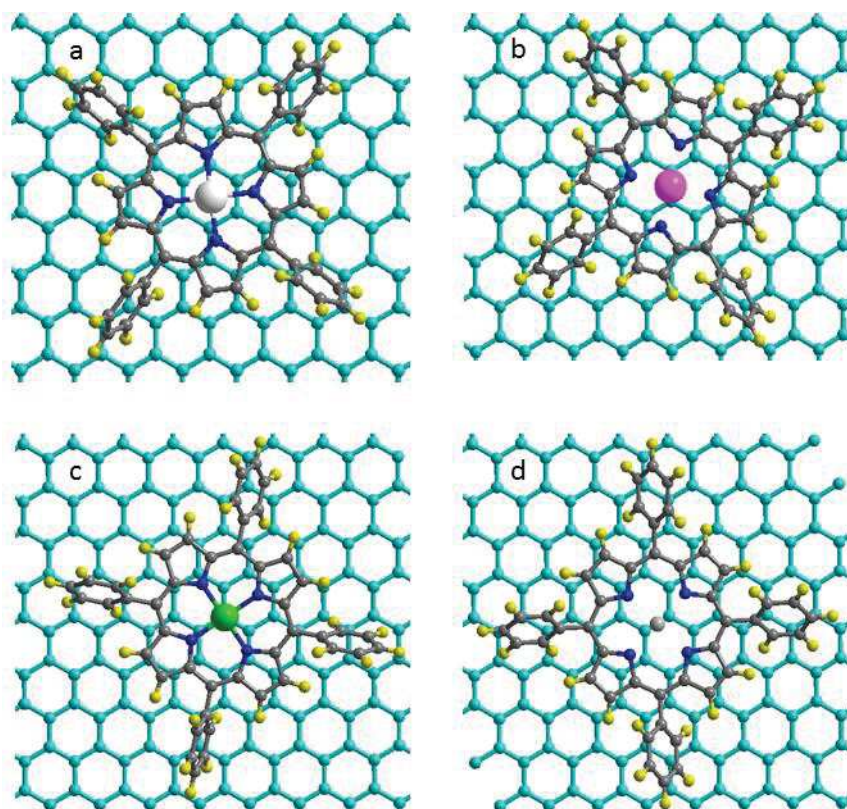


Figure 9 - Représentation des complexes GTPPFe (a) GTPPMn (b) GTPPTi (c) et GTPPZn (d)

Les valeurs d'énergies obtenues sont dans des ordres de grandeurs similaires à celles décrites dans la littérature pour des systèmes chimiquement proches. Par exemple, Gordeev et *al.* (Gordeev et al., 2013) ont obtenu une énergie d'adsorption de l'ordre -35,3 kcal/mol, calculés en DFT-D2, pour des systèmes coronène (proche d'une porphyrine). Une valeur qui est également en accord avec celle qui leur a servi de référence expérimentale, à savoir -32 kcal/mol. MacLeod et *al.* (MacLeod et al., 2015) ont étudié l'adsorption du TMA sur une surface de graphène et estimé une énergie autour de -41 kcal/mol. Enfin, Gunasinghe et *al.* (Gunasinghe et al., 2012) se sont intéressés à l'adsorption de phtalocyanines assemblées (NiPc) et ont calculé une énergie d'adsorption autour de -270 kcal/mol.

L'adsorption d'atomes métalliques isolés sur du graphène a également été considérablement étudiée dans la littérature. Le plus souvent, le site hollow est identifié comme étant le plus favorable à l'adsorption mais son énergie varie drastiquement en fonction du métal considéré. L'étude la plus exhaustive a été proposée par Nakada et son équipe (Nakada and Ishii, 2011) avec l'investigation de l'adsorption de 83 atomes de la classification dont les métaux de transition. Pour ces derniers, ils ont montré que l'énergie



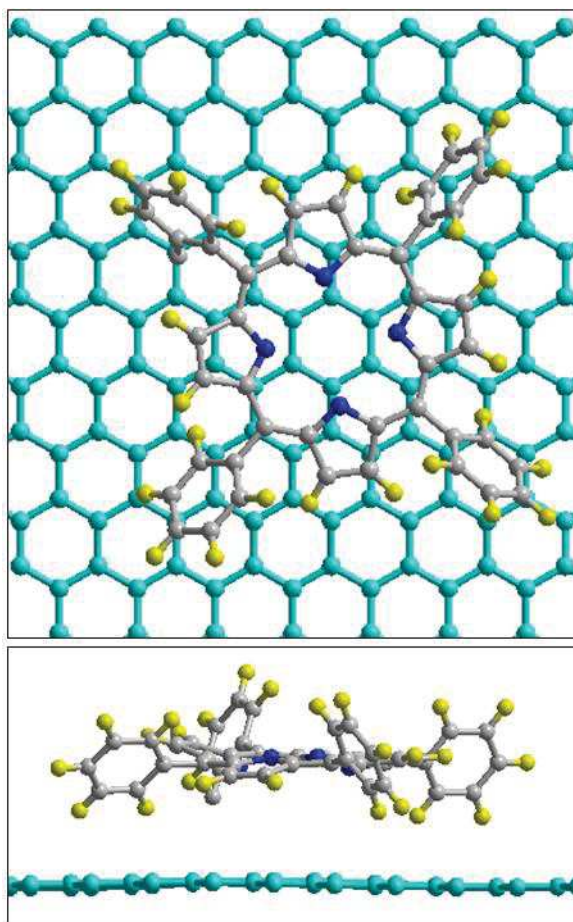
### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

d'adsorption la plus basse est obtenue lorsque les orbitales  $d$  sont à moitié occupées. De plus les atomes métalliques s'adsorbent préférentiellement sur un site hollow. Les énergies d'adsorptions sur une cellule  $3 \times 3 \times 1$  de graphène sont de l'ordre de -75,41 ; -88,09 ; -88,32 et -3,00 kcal/mol pour Ti, Mn, Fe et Zn respectivement. Ces résultats sont probablement surestimés à cause de l'approximation de la densité locale utilisée qui n'est pas la plus appropriée pour l'adsorption d'énergie et également parce que la taille de la cellule considérée n'est pas suffisante pour totalement éliminer les interactions interatomique avec les images périodiques. Ces résultats contrastent avec l'étude réalisée par Manadé et *al.* (Manadé et al., 2015) sur une cellule  $4 \times 4 \times 1$  de graphène dans laquelle l'énergie d'adsorption la plus haute est obtenue lorsque les orbitales  $d$  sont totalement remplis et la plus basse est obtenue pour le cas du titane. Les valeurs calculées au niveau PBE-D2 sont de -50,04 ; -9,22 ; -23,98 et -4,84 kcal/mol pour Ti, Mn, Fe et Zn respectivement.

L'énergie d'adsorption des métalloporphyrines, est plus négative que celle des atomes métalliques isolée car les valeurs résultent des interactions avec la surface, à la fois de l'atome métallique et à la fois du squelette organique de la porphyrine. Ce résultat est lié au rayon de l'atome métallique, qui décroît avec le numéro atomique. Son interaction avec la surface influe sur la distance verticale entre la surface et la porphyrine et contribue aussi à l'énergie d'adsorption totale.

L'adsorption du squelette de la porphyrine (sans atome métallique) a été étudiée sur une surface graphène identique. L'énergie d'adsorption calculée s'élève à -43,1 kcal/mol. Cette énergie se décompose en une contribution dispersive PBE-D3 (-42,8 kcal/mol) et une contribution pure PBE (-0,3 kcal/mol). La distance verticale minimale relevée est égale à 2,24 Å. (cf. figure 10)



**Figure 10 - Géométrie optimisée de la porphyrine sans atome métallique adsorbée sur du graphène. Les atomes de carbone de la porphyrine sont en cyan, les atomes de carbone de la porphyrine sont en gris, les azotes en bleu et les hydrogènes en jaune.**

L'effet des substituants phényles sur l'adsorption est évalué en comparant les énergies d'adsorption calculées pour GTPPFeCl et GPFeCl, un complexe similaire où les groupements phényles sont remplacés par des atomes d'hydrogène. GPFeCl montre une énergie d'adsorption de -24,21 kcal/mol. Par conséquent, les groupements phényles renforcent l'adsorption en établissant des interactions de type CH- $\pi$  à une distance moyenne de 2,30 Å. Le gain en stabilité est de l'ordre de 11,2 kcal/mol. Ces résultats sont en accord avec une étude expérimentale (Pham et al., 2014) qui démontre l'importance des substituants phényles sur les interactions entre porphyrine et graphène.

A partir de cette analyse sur les effets des atomes métalliques, nous pouvons conclure que l'adsorption des porphyrines métalliques dépend à la fois configuration électronique de l'atome métallique, du rayon atomique de celui-ci et de la structure de la porphyrine. L'interaction la plus forte est obtenue pour le système comportant un atome de titane avec

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

une forte affinité de l'atome métallique pour la surface et une distance verticale entre les deux d'environ 2,59 Å, une valeur proche de la somme des rayons covalent de Ti et C (environ 2,33 Å).

La tendance opposée est, quant à elle, observée pour le cas de la porphyrine de zinc où l'adsorption est hautement dépendante des interactions de van der Waals entre le squelette organique de la porphyrine et la surface de graphène. La distance entre l'atome de zinc et l'atome de carbone le plus proche est d'environ 3,37 Å ce qui est plus important que la somme des rayons de van der Waals de Zn et C (3,09 Å). Le compromis entre le rayon du zinc et la structure de la porphyrine hôte donne une distance d'adsorption permettant d'optimiser la partie dispersive de l'interaction de la porphyrine avec la surface. Les systèmes contenant Fe et Mn montrent une situation intermédiaire où la distance verticale entre l'atome métallique et la surface sont de l'ordre de 4,45 Å et 4,41 Å, respectivement. A cette distance, l'interaction métal-graphène et porphyrine-graphène sont toutes deux sous-estimées.

#### 5.2. Propriétés électroniques

Les analyses énergétiques menées précédemment sont corroborées par une étude des transferts de charges avant et après l'adsorption (Figure 11).

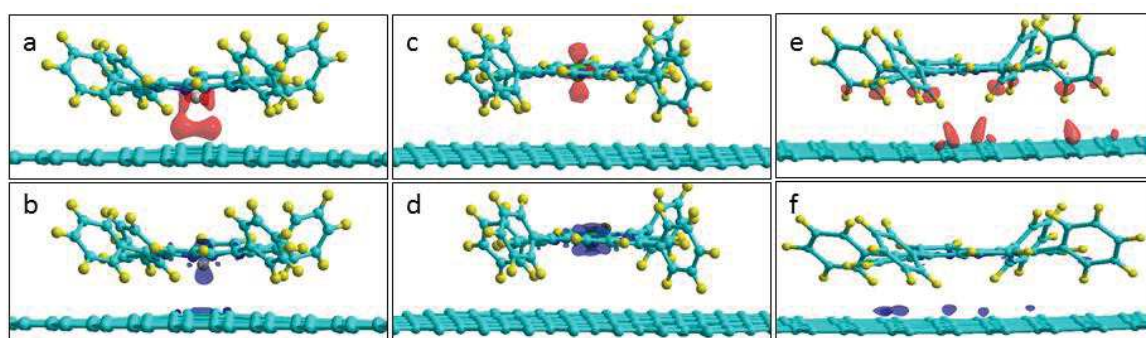


Figure 11 - Différence de densité de charges entre le complexe porphyrine-graphène et ses composants isolés. GTPPTi (a et b), GTPPMn (c et d), GTPPZn (e et f). l'accumulation de charges et la déplétion de celles ci sont représentées en rouge et bleu respectivement. Les atomes de carbones sont de couleur cyan, les hydrogènes sont données en jaune, les atomes d'azote en bleu, les atomes d'oxygène en rouge, l'atome de zinc en gris et enfin l'atome de titane est représenté en violet.

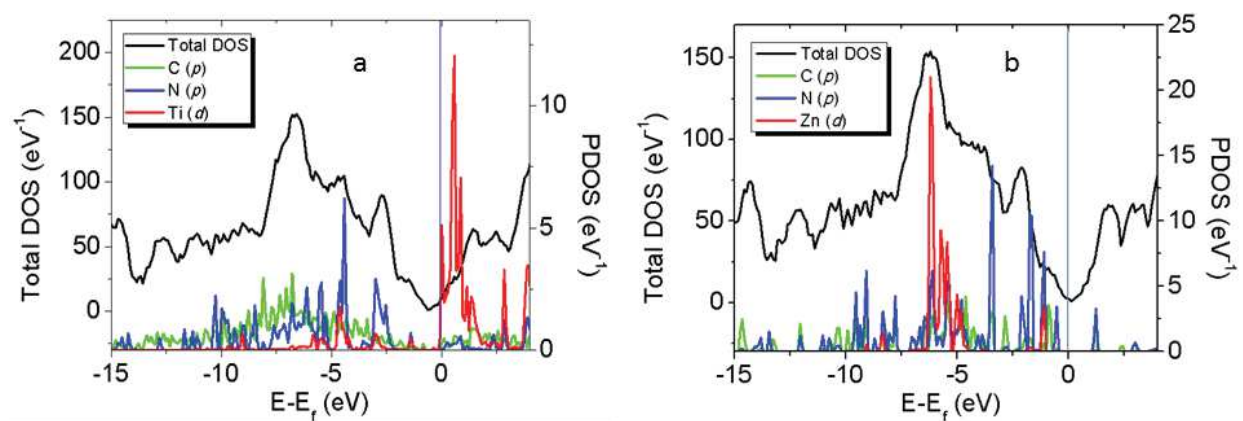


## Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

Dans le cas de GTPPTi, une perte de densité de charges est constatée à la fois sur l'atome métallique centrale ainsi que les carbones du graphène (cf. figure 11a et 11b). Cette densité est relocalisée le long de la « liaison » Ti-C. Le calcul des charges de Bader, décrit dans le chapitre 1, montre une charge de  $+1,71e$  sur l'atome Ti et une charge  $-0,27e$  sur l'ensemble des deux atomes de C de la surface en dessous de Ti. Cette répartition de charge montre le caractère ionique significatif de la liaison Ti-C. L'analyse combinée des différences de densité de charge et des charges de Bader met en évidence l'établissement d'une liaison iono-covalente entre Ti et le graphène, ce qui est en accord avec les énergies qui montrent l'énergie d'adsorption la plus importante.

Au contraire pour GTPPZn, nous observons une localisation des charges négatives sur le graphène en dessous des groupements CH qui guident l'interaction avec la surface (cf. figure 11e et 11f). Dans les cas de GTPPMn (et GTPPFe), une petite redistribution des densités de charges est observée (Figures 11c et 11d).

Cette étude au niveau électronique est complétée par l'observation des spectres de densité d'état (density of state ou DOS) qui sont présentés dans la figure 12. En comparant le graphène pristine (figure 8a) aux complexes (figure 12), nous constatons dans ces derniers un déplacement des niveaux d'énergie autour du niveau de Fermi, dû à l'adsorption des porphyrines sur la surface de graphène.



**Figure 12 - DOS de GTPPTi (a) et GTPPZn (b). Dans chacune des figures, le niveau de Fermi a été centré sur 0 et est indiqué par une ligne verticale bleue. Les projections des densités d'état des orbitales *d* des deux métaux et des orbitales *p* du carbone et de l'azote sont données en rouge, bleu et vert respectivement (la contribution de chaque orbitale atomique a été grossie pour offrir un peu plus de clarté à la figure).**

## Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

Afin de décrire correctement les changements observés sur les spectres après l'adsorption des porphyrines sur le graphène, la DOS totale est projetée sur différentes orbitales atomiques (PDOS). Ainsi, pour les porphyrines de titane et de zinc, la contribution des orbitales  $2p$  de l'azote (N),  $2p$  du carbone (C) et  $3d$  du métal sont données dans la figure 12.

Dans le cas de la porphyrine de titane, les orbitales  $d$  sont relativement proches du niveau de Fermi tandis que celle-ci est beaucoup plus éloignée du niveau de Fermi dans le cas du complexe avec la porphyrine de zinc. Ce résultat au niveau des densités d'état coïncide avec les observations réalisées précédemment au niveau des densités de charges : dans le cas du titane la modification au niveau électronique est liée à l'atome métallique alors que dans le cas de la porphyrine de zinc, cette modification est liée au squelette de la porphyrine.

La localisation des orbitales  $3d$  par rapport au niveau de Fermi donne ainsi des informations quant à la nature du dopage orchestré sur le graphène. Pour GTPPTi, les orbitales  $d$  positionnées légèrement au-dessus du niveau de Fermi induisent un dopage de type p (transfert du graphène vers le titane) en accord avec la basse occupation des orbitales  $3d$  de Ti. A l'inverse, pour GTPPZn, les orbitales  $3d$  métalliques montrent la densité la plus faible et sont positionnées très largement en dessous du niveau de Fermi, indiquant ainsi une interaction plus faible entre les deux parties du complexe et donc entre les orbitales frontières de ces deux parties. Enfin, un dopage de type n est observé dans le cas de GTPPFe et GTPPMn pour lesquels les orbitales  $3d$  sont localisées légèrement en-dessous du niveau de Fermi.

L'ensemble de ces résultats est en accord avec la littérature (Khomyakov et al., 2009) où l'on peut observer que le graphène interagit avec (Co, Ni, Pd et Ti) par chimisorption en mettant en jeu une hybridation entre les orbitales  $P_z$  du graphène et les orbitales  $d$  des métaux, ouvrant ainsi un gap sur la surface carbonée.

## 6. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'adsorption de deux métalloporphyrines sur du graphène et exploré les sites d'adsorption afin d'identifier les structures les plus stables. Comme le processus d'adsorption est largement dirigé par les interactions de van der Waals, nous avons étudié la stabilité et la migration des porphyrines sur le graphène grâce à la

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

dynamique moléculaire. A partir du complexe le plus stable, nous avons calculé l'ouverture de gap et obtenu des valeurs très proches de résultats expérimentaux. De plus, nos calculs ont montré que l'adsorption d'une molécule de type porphyrine sur du graphène était intéressante pour ouvrir des gaps électronique sur ce type de matériaux.

Enfin, nous nous sommes intéressés à l'impact de l'atome métallique central et aux substituants phényles sur les propriétés d'adsorption et les propriétés électroniques. Nous avons montré que l'adsorption est très largement contrôlée par la taille des rayons atomiques, l'occupation des orbitales  $3d$  du métal et la structure du squelette porphyrinique.

L'adsorption la plus stable est obtenue pour GTPPTi grâce à la forte interaction entre l'atome métallique et le graphène. Au contraire, GTPPZn montre qu'avec un rayon atomique du métal plus petit, l'interaction de van der Waals entre la surface de carbone et la porphyrine est activement conduite par les substituants phényles. L'analyse des DOS et PDOS montrent que les orbitales  $3d$  du métal sont localisées près du niveau de Fermi pour le titane et sont en revanche de plus en plus éloignées de celui-ci pour les cas des porphyrines de Fe, Mn et Zn.

Ce travail a donné lieu à une publication, qui vient tout juste d'être acceptée pour publication, par le journal *Chemical Physics Letters*.

### Bibliographie

Altenburg, S.J., Lattelais, M., Wang, B., Bocquet, M.-L., and Berndt, R. (2015). Reaction of phthalocyanines with graphene on Ir (111). *Journal of the American Chemical Society* *137*, 9452–9458.

An, X., Butler, T.W., Washington, M., Nayak, S.K., and Kar, S. (2011). Optical and sensing properties of 1-pyrenecarboxylic acid-functionalized graphene films laminated on polydimethylsiloxane membranes. *ACS Nano* *5*, 1003–1011.

Case, D.A., Darden, T.A., Cheatham III, T.E., Simmerling, C.L., Wang, J., Duke, R.E., Luo, R., Walker, R.C., Zhang, W., and Merz, K.M. AMBER 12; University of California: San Francisco, 2012. There Is No Corresponding Record for This Reference 1–826.

Castellanos-Gomez, A., and van Wees, B.J. (2013). Band gap opening of graphene by noncovalent  $\pi$ - $\pi$  interaction with porphyrins. *Graphene* *2*, 102–108.

Castellanos-Gomez, A., Wojtaszek, M., Tombros, N., and van Wees, B.J. (2012). Reversible hydrogenation and bandgap opening of graphene and graphite surfaces probed by scanning tunneling spectroscopy. *Small* *8*, 1607–1613.

Chang, C.-H., Fan, X., Li, L.-J., and Kuo, J.-L. (2012). Band gap tuning of graphene by adsorption of aromatic molecules. *The Journal of Physical Chemistry C* *116*, 13788–13794.

Chen, Y., Ren, R., Pu, H., Guo, X., Chang, J., Zhou, G., Mao, S., Kron, M., and Chen, J. (2017). Field-Effect Transistor Biosensor for Rapid Detection of Ebola Antigen. *Scientific Reports* *7*, 10974.

Chilukuri, B., Mazur, U., and Hipps, K.W. (2014). Effect of dispersion on surface interactions of cobalt (II) octaethylporphyrin monolayer on Au (111) and HOPG (0001) substrates: a comparative first principles study. *Physical Chemistry Chemical Physics* *16*, 14096–14107.

Diamond, G., Beckloff, N., Weinberg, A., and Kisich, K.O. (2009). The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Current Pharmaceutical Design* *15*, 2377–2392.

Dong, X., Fu, D., Fang, W., Shi, Y., Chen, P., and Li, L.-J. (2009). Doping single-layer graphene with aromatic molecules. *Small* *5*, 1422–1426.

Gordeev, E.G., Polynski, M.V., and Ananikov, V.P. (2013). Fast and accurate computational modeling of adsorption on graphene: a dispersion interaction challenge. *Physical Chemistry Chemical Physics* *15*, 18815–18821.

Grimme, S., Antony, J., Ehrlich, S., and Krieg, H. (2010). A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu. *The Journal of Chemical Physics* *132*, 154104.

Grimme, S., Ehrlich, S., and Goerigk, L. (2011). Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. *Journal of Computational Chemistry* *32*, 1456–1465.

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

Gunasinghe, R.N., Reuven, D.G., Suggs, K., and Wang, X.-Q. (2012). Filled and empty orbital interactions in a planar covalent organic framework on graphene. *The Journal of Physical Chemistry Letters* *3*, 3048–3052.

Järvinen, P., Hämäläinen, S.K., Ijäs, M., Harju, A., and Liljeroth, P. (2014). Self-assembly and orbital imaging of metal phthalocyanines on a graphene model surface. *The Journal of Physical Chemistry C* *118*, 13320–13325.

Khomyakov, P.A., Giovannetti, G., Rusu, P.C., Brocks, G. vd, Van den Brink, J., and Kelly, P.J. (2009). First-principles study of the interaction and charge transfer between graphene and metals. *Physical Review B* *79*, 195425.

Kresse, G., and Furthmüller, J. (1996). Efficiency of ab-initio total energy calculations for metals and semiconductors using a plane-wave basis set. *Computational Materials Science* *6*, 15–50.

Kresse, G., and Hafner, J. (1993). Ab initio molecular dynamics for liquid metals. *Physical Review B* *47*, 558.

Lin, T.-C., Li, Y.-S., Chiang, W.-H., and Pei, Z. (2017). A high sensitivity field effect transistor biosensor for methylene blue detection utilize graphene oxide nanoribbon. *Biosensors and Bioelectronics* *89*, 511–517.

MacLeod, J.M., Lipton-Duffin, J.A., Cui, D., De Feyter, S., and Rosei, F. (2015). Substrate effects in the supramolecular assembly of 1, 3, 5-benzene tricarboxylic acid on graphite and graphene. *Langmuir* *31*, 7016–7024.

Manadé, M., Viñes, F., and Illas, F. (2015). Transition metal adatoms on graphene: A systematic density functional study. *Carbon* *95*, 525–534.

Medina, H., Lin, Y.-C., Obergfell, D., and Chiu, P.-W. (2011). Tuning of charge densities in graphene by molecule doping. *Advanced Functional Materials* *21*, 2687–2692.

Moellmann, J., and Grimme, S. (2014). DFT-D3 study of some molecular crystals. *The Journal of Physical Chemistry C* *118*, 7615–7621.

Nakada, K., and Ishii, A. (2011). Migration of adatom adsorption on graphene using DFT calculation. *Solid State Communications* *151*, 13–16.

Pearlman, D.A., Case, D.A., Caldwell, J.W., Ross, W.S., Cheatham III, T.E., DeBolt, S., Ferguson, D., Seibel, G., and Kollman, P. (1995). AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. *Computer Physics Communications* *91*, 1–41.

Perdew, J.P., Burke, K., and Ernzerhof, M. (1996). Generalized gradient approximation made simple. *Physical Review Letters* *77*, 3865.

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

Pham, V.D., Lagoute, J., Mouhoub, O., Joucken, F., Repain, V., Chacon, C., Bellec, A., Girard, Y., and Rousset, S. (2014). Electronic interaction between nitrogen-doped graphene and porphyrin molecules. *ACS Nano* *8*, 9403–9409.

Quesne-Turin, A., Touzeau, J., Dappe, Y.J., Diawara, B., Maurel, F., and Seydou, M. (2017). First-principles investigation of the structural and electronic properties of self-assemblies of functional molecules on graphene. *Superlattices and Microstructures* *105*, 139–151.

Rahali, S., Belhocine, Y., Touzeau, J., Tangour, B., Maurel, F., and Seydou, M. (2017). Balance between physical and chemical interactions of second-row diatomic molecules with graphene sheet. *Superlattices and Microstructures* *102*, 45–55.

Roe, D.R., and Cheatham III, T.E. (2013). PTRAJ and CPPTRAJ: software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data. *Journal of Chemical Theory and Computation* *9*, 3084–3095.

Ryckaert, J.-P., Ciccotti, G., and Berendsen, H.J. (1977). Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *Journal of Computational Physics* *23*, 327–341.

Sanyal, B., Eriksson, O., Jansson, U., and Grennberg, H. (2009). Molecular adsorption in graphene with divacancy defects. *Physical Review B* *79*, 113409.

Sun, G., Kürti, J., Rajczy, P., Kertesz, M., Hafner, J., and Kresse, G. (2003). Performance of the Vienna ab initio simulation package (VASP) in chemical applications. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* *624*, 37–45.

Teyssandier, J., Battaglini, N., Seydou, M., Anquetin, G., Diawara, B., Sun, X., Maurel, F., and Lang, P. (2013). Elaboration of hydrogen-bonded 2D supramolecular assemblies on Au (111) from solutions: toward naphthalene tetracarboxylic diimide–melamine nanoporous networks. *The Journal of Physical Chemistry C* *117*, 8737–8745.

Wang, X., Tabakman, S.M., and Dai, H. (2008). Atomic layer deposition of metal oxides on pristine and functionalized graphene. *Journal of the American Chemical Society* *130*, 8152–8153.

Wang, X., Li, X., Zhang, L., Yoon, Y., Weber, P.K., Wang, H., Guo, J., and Dai, H. (2009). N-doping of graphene through electrothermal reactions with ammonia. *Science* *324*, 768–771.

Wojtaszek, M., Tombros, N., Caretta, A., Van Loosdrecht, P.H.M., and Van Wees, B.J. (2011). A road to hydrogenating graphene by a reactive ion etching plasma. *Journal of Applied Physics* *110*, 063715.

Yan, H.J., Xu, B., Shi, S.Q., and Ouyang, C.Y. (2012). First-principles study of the oxygen adsorption and dissociation on graphene and nitrogen doped graphene for Li-air batteries. *Journal of Applied Physics* *112*, 104316.

### Chapitre 3 : Etude autour de l'adsorption de porphyrines sur du graphène

---

Zeng, X., Chang, S., Deng, K., Zhang, J., Sun, H., Zeng, Q., and Xie, J. (2015). Synthesis and Molecular Structures of BINOL Complexes: An STM Investigation of 2D Self-Assembly. *Crystal Growth & Design* 15, 3096–3100.

Zhang, Y.-H., Zhou, K.-G., Xie, K.-F., Zeng, J., Zhang, H.-L., and Peng, Y. (2010). Tuning the electronic structure and transport properties of graphene by noncovalent functionalization: effects of organic donor, acceptor and metal atoms. *Nanotechnology* 21, 065201.

Zhang, Z., Huang, H., Yang, X., and Zang, L. (2011). Tailoring electronic properties of graphene by  $\pi$ - $\pi$  stacking with aromatic molecules. *The Journal of Physical Chemistry Letters* 2, 2897–2905.

**Chapitre 4 :**  
**Etude autour de l'interaction**  
**biologique d'un biocapteur**



## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

---

### Sommaire

<b>1. Introduction.....</b>	<b>114</b>
<b>2. Détails techniques.....</b>	<b>118</b>
<b>3. Un ligand d'intérêt : le 2.4-D .....</b>	<b>118</b>
3.1. Détermination d'une structure consensus pour l'anticorps 2.4-D.....	118
3.2. Etude du 2.4-D en interaction avec l'immunoglobuline .....	122
<b>4. Un autre ligand d'intérêt : le diclofenac.....</b>	<b>127</b>
<b>5. Conclusion .....</b>	<b>135</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>137</b>

### 1. Introduction

Le développement de biocapteurs implique la fabrication de systèmes composés de plusieurs blocs et notamment d'une partie permettant la reconnaissance spécifique.

Pour cela, plusieurs types d'édifices biologiques peuvent être impliqués comme des enzymes, des brins d'ADN ou bien encore des couples anticorps-antigène. (Mehrotra, 2016)

Dans cette dernière catégorie, en généralisant le procédé par un couple ligand-cible spécifique, il est possible de fabriquer des systèmes permettant la détection de petites molécules reconnues comme agent polluant par exemple.

Nous proposons ici de nous intéresser à un biocapteur impliquant l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique aussi connu sous le nom 2.4-D. Il s'agit d'un composé organique de formule brute  $C_8H_6Cl_2O_3$  marqué comme acide fort et entrant comme composé actif d'herbicides. (HENRIET, 1950; Khomutov et al., 1994; Takacs et al., 2002) Il possède la particularité d'être actif contre les mauvaises herbes mais inactif contre les graminées. Son utilisation est très largement exploitée. Il s'agit également d'un composé de l'Agent Orange abondamment employé durant la guerre du Vietnam. (Suwalsky et al., 1996) C'est pourquoi on le retrouve aujourd'hui comme agent contaminant les sols, l'eau, l'air ou encore les pluies. Le 2.4-D est reconnu pour être un perturbateur endocrinien (Takacs et al., 2002) causant ainsi des troubles de l'équilibre hormonale chez de nombreuses espèces. Sa détection est extrêmement importante dans un registre sanitaire afin de pouvoir limiter son impact sur l'homme mais également sur les espèces animales. (Dequaire et al., 1999; Dzantiev et al., 1996; Feng et al., 2017; Kalab and Skládal, 1995; Shi et al., 2011) Une représentation du 2.4-D est donnée dans la figure 1.

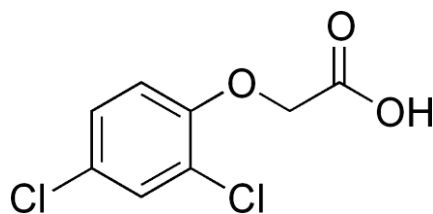


Figure 1 - Formule du 2.4-D

Deux principales approches ont jusqu'ici été développées pour la détection d'espèces de faible poids moléculaire comme le 2.4-D, en utilisant des polymères ou bien des anticorps

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

---

spécifiques. Un exemple de dispositif de détection a été publié en 1995 par Skládal et Kalab (Kalab and Skládal, 1995). Ils décrivent un système basé sur une détection par voie électrochimique dans un mode compétitif avec un capteur fabriqué à partir d'une membrane de cellulose sur laquelle un anticorps au 2.4-D a été adsorbé. L'activité de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique combiné à un marqueur a ensuite été étudiée avec une limite de détection très faible ( $0,1 \text{ pg.L}^{-1}$ ). Des améliorations à ce dispositif ont ensuite été publiées dans les années qui suivent (Dzantiev et al., 1996; Dequaire et al., 1999).

Une autre approche pour la détection consiste à utiliser des polymères moléculaires imprimés (MIP) dans lesquels la cible est détectée par voie électrochimique également (Kröger et al., 1999; Shi et al., 2011; Xie et al., 2010). Ces systèmes impliquent malheureusement de travailler à haut potentiel ce qui représente une limite conséquente avec la possibilité d'opérer des réactions de réduction dans le milieu et de perdre en sélectivité. Une large partie des travaux récents se basent sur des transductions optiques afin de garder une bonne sélectivité (Feng et al., 2017; Jia et al., 2017; Wagner et al., 2018; Wang et al., 2016).

Très peu de travaux dans ce registre sont menés avec des dispositifs impliquant des transistors à effet de champs. L'un d'entre eux a été proposé par Khomutov (Khomutov et al., 1994), en 1994 avec l'utilisation d'un transistor sensible à la variation de pH (pH-FET). La stratégie était basée sur l'utilisation d'un processus compétitif avec un anticorps immobilisé sur une membrane de cellulose et un dérivé peroxydase du 2.4-D.

Le système expérimentale développé dans ce projet est composé d'un transistor à effet de champ de type EGOFET. La troisième électrode est une électrode d'or biofonctionnalisée par une pointe et un anticorps spécifique au 2.4-D. Lorsque cette dernière espèce est ajoutée dans l'électrolyte, un processus compétitif entre en place et l'anticorps se détache de la pointe pour venir interagir avec les molécules 2.4-D ajoutées. Une illustration est donnée dans la figure 2.

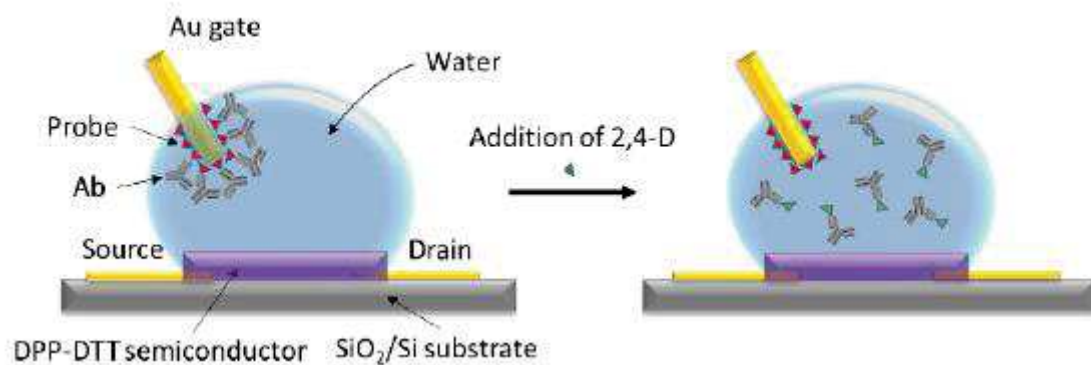


Figure 2 : Vue schématique d'un EGO-FET, avant (à gauche) et après (à droite) l'ajout du 2.4-D (la molécule cible) dans l'électrolyte d'après (Nguyen et al., 2018)

Afin d'étudier le processus de reconnaissance entre la pointe et l'anticorps, des simulations d'amarrage moléculaire ont été menées. Dans le cas de notre biocapteur, le 2.4-D est immobilisé sur une surface au moyen d'un lien et son anticorps lui est spécifiquement attaché. En présence de 2.4-D libre, l'anticorps se détache et on observe une perte du signal. La figure 3 illustre la stratégie de détection.

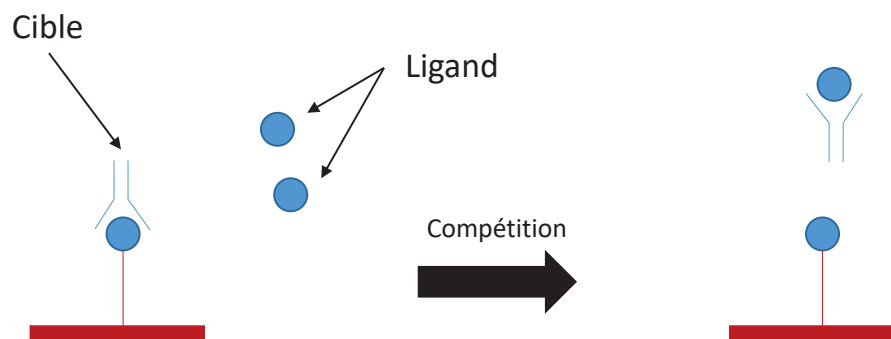


Figure 3 - Principe de détection du 2.4-D dans le biocapteur considéré

Une des implications, contre-intuitive qu'offre ce type de détection, est que nous ne chercherons pas à augmenter l'affinité du 2.4-D envers son anticorps, car une telle augmentation de l'affinité diminuerait l'affinité de l'anticorps vers le 2.4-D libre et donc générerait une baisse de la performance.

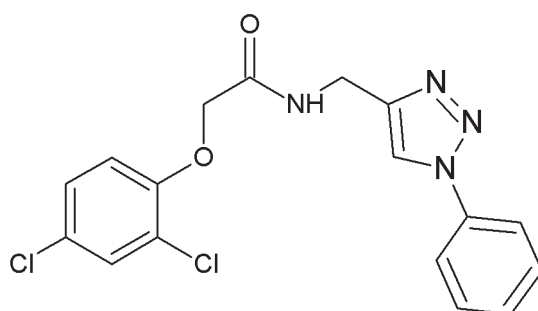
L'objectif est de rationaliser la position de la fonction d'accroche tout en minimisant les impacts qui pourraient diminuer ou dénaturer l'interaction spécifique biologique. Plus précisément, la modélisation moléculaire permet ici d'obtenir des informations autour de

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

l'interaction biologique qui opère telle que la taille du lien nécessaire entre le ligand 2.4-D et la surface mise en jeu, ou encore la position préférentielle d'interaction, parmi les deux possibles, du ligand avec sa cible. Cette dernière information permet notamment de savoir quel groupement du 2.4-D doit être greffé à la surface par chimie click et quel groupement doit être en interaction avec la cible.

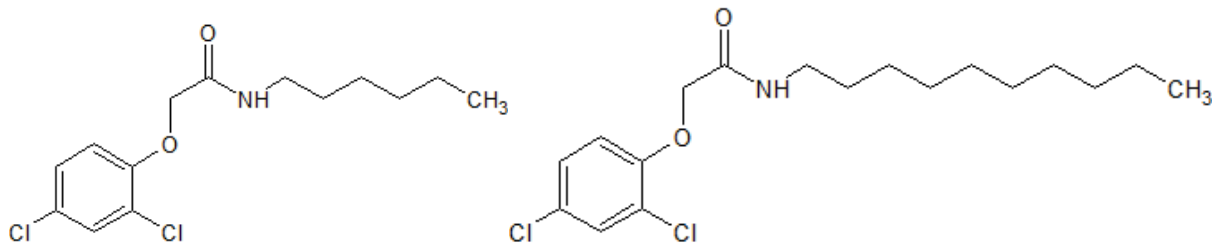
Ici les réactions de chimie click sont choisies pour l'accroche car elles correspondent à des réactions biocompatibles et sont souvent utilisées pour joindre un substrat à une biomolécule. (Kolb et al., 2001; Kolb and Sharpless, 2003).

Au cours de ce projet plusieurs systèmes de tailles croissantes ont été étudiés. En premier lieu notre étude a débuté avec un groupement 2.4-D simple, puis celui-ci a été au fur et à mesure, substitué par des groupements permettant ensuite son accroche sur une surface. La figure 4 montre ces substituants permettant l'accroche sur surface du 2.4-D dans le cadre du projet.



**Figure 4 - 2.4-D avec des substituants triazine et benzène permettant une accroche diazonium**

Nous avons également observé le comportement du système à différent degré de protonation du 2.4-D afin de mimer les variations de pH. Enfin la longueur de la chaîne carbonée présente entre le 2.4-D et les groupements triazine et benzène a été étudié afin d'obtenir une longueur optimale pour permettre l'interaction biospécifique tout en n'induisant pas de gêne stérique entre la surface d'accroche et la cible du 2.4-D. La figure 5 montre deux systèmes 2.4-D substitués avec des chaînes carbonées à 6 et 10 atomes.



**Figure 5 - 2.4-D substitués par des groupements triazine et benzène (accroche diazonium) et possédant une chaîne carbonnée à 6 carbones (à gauche) et une chaîne carbonnée à 10 carbones (à droite)**

Pour comprendre le système de reconnaissance entre le 2.4-D et son anticorps il nous faut connaître la structure de ce complexe. Cependant, celle-ci tout comme la séquence de l'anticorps au 2.4-D n'est, à ce jour, pas connue. C'est une difficulté que nous devons surmonter.

## 2. Détails techniques

Le logiciel Autodock version 4.2 a été utilisé pour réaliser les simulation d'amarrage moléculaire (Morris et al., 1998). Dans l'étape du cross-docking moléculaire, chaque ligand spécifique à chacune des cibles mis en jeu a été retiré puis une boîte de taille (19.63, 7.61, 36.50) Å a été construite autour du site d'interaction de chaque protéine, puis la méthode Lamarckian Genetic Algorithm method a été employé pour la recherche de la meilleure interaction cible-ligand (Morris et al., 1998). Une centaine de cycle de calculs ont été réalisés dans le cadre de la recherche d'une cible la plus cohérente possible pour étudier le ligand 2.4-D. Une « clusterisation » des résultats a été opérée avec pour critère un RMSD inférieur à 2 Å entre deux poses appartenant au même cluster. Cette valeur de RMSD est le seuil classique utilisé pour des études par amarrage moléculaire.

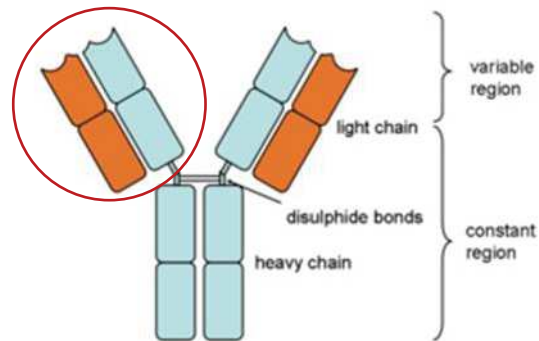
## 3. Un ligand d'intérêt : le 2.4-D

### 3.1. Détermination d'une structure consensus pour l'anticorps 2.4-D

L'anticorps au 2.4-D est une immunoglobuline de type G (IgG). Ce type de protéine est divisé

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

en plusieurs domaines (cf. figure 6). Le domaine qui nous intéresse le plus est la partie permettant la reconnaissance moléculaire : le domaine « Fast Antigen Binding Protein », (ou FAB) qui se situe sur la partie variable de l'immunoglobuline.



**Figure 6 - Structure des immunoglobulines de type G (igG). La partie FAB est entourée en rouge**

A ce jour, Il existe de nombreuses structures de FAB disponibles dans la « protein data bank » (Berman, 2000) (près de 2300). Celles-ci sont en interaction avec des protéines ou des ligands organiques. Dans le cadre du 2.4-D, nous nous sommes intéressés à des fragments FAB capable de reconnaître un ligand avec un type chimique et un poids moléculaire similaire à celui de cette molécule.

Nous avons identifié 7 ligands de ce type au sein de la PDB, obtenues expérimentalement par diffraction des rayons X (Charbonnier et al., 1995; Debler et al., 2008; Gigant et al., 1999; Gruber et al., 1999; Langedijk et al., 1999; Wedemayer et al., 1997; Zhu et al., 2006). La figure 7 montre les schémas moléculaires de ces 7 ligands.

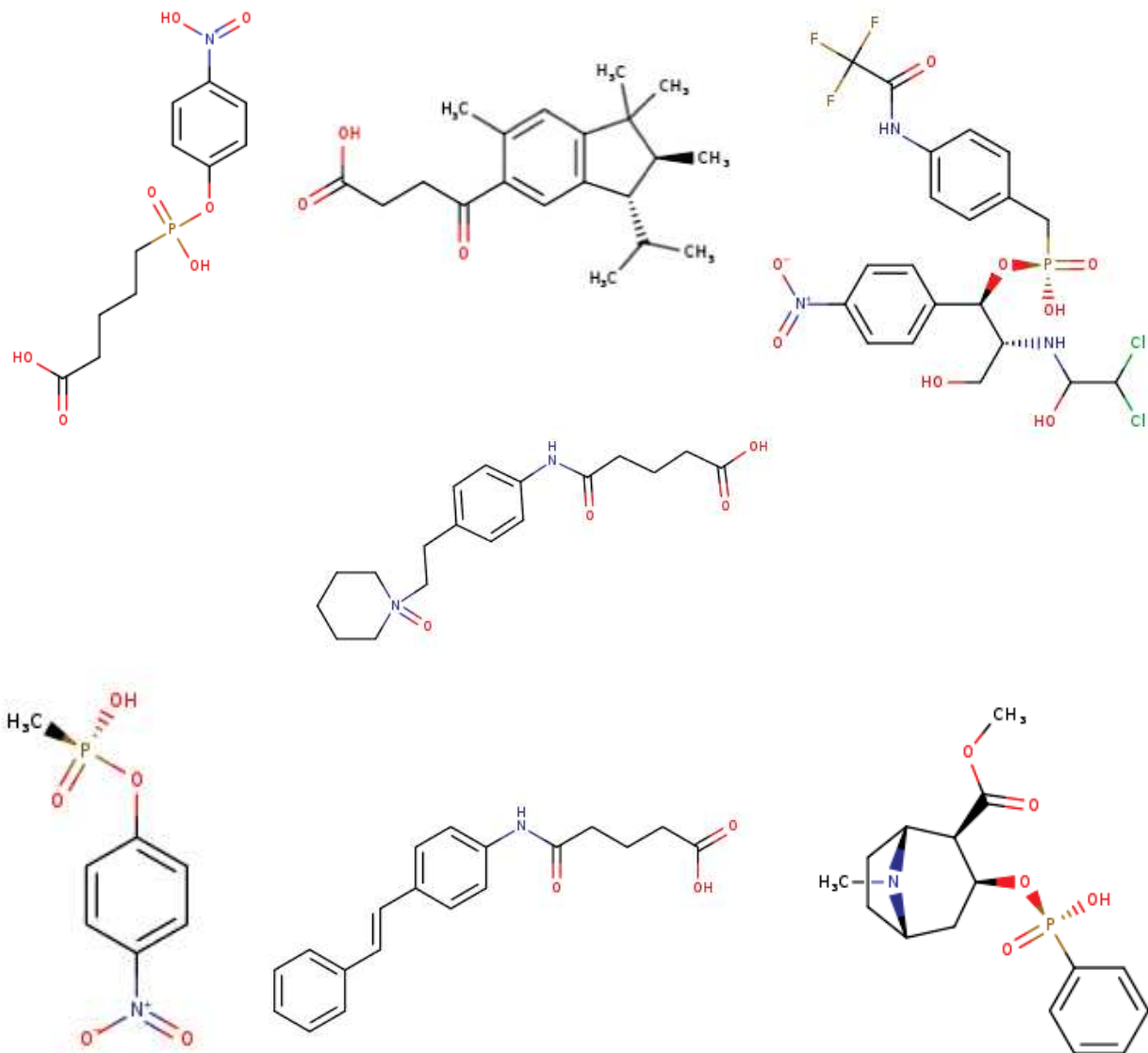
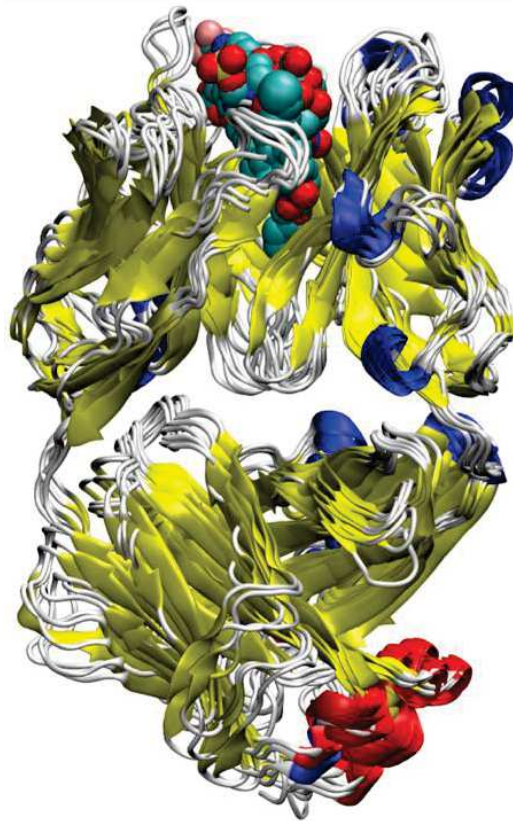


Figure 7 - de gauche à droite sur la ligne du haut : 1aj7, 1c12, 1t8. Au milieu : 35c8. De gauche à droite sur la ligne du bas : 1kno, 3cfb, 2ajx

Nous avons ainsi aligné ces 7 structures cibles avec les 7 FAB correspondant à chacune d'entre elle (cf. figure 8). Nous constatons que l'intégralité des ligands sont concentrés sur la même position de même que les immunoglobulines correspondantes, indiquant une similitude très importante entre les différents systèmes choisis.





**Figure 8 - Aligement des 7 immunoglobulines et ligands sélectionnés**

De cette figure, nous nous apercevons que les structures de FAB sont très homologues et que le site d'interaction est toujours le même, ce qui était attendu en raison de la similitude existante entre les différents ligands et les différents anticorps. Nous avons donc établi un protocole de validation par amarrage moléculaire croisé (cross-docking) (Rueda et al., 2009; Thilagavathi and Mancera, 2010) à l'aide du logiciel Autodock. Cette étude permet ainsi d'identifier le ligand, parmi les 7 retenus, qui est le plus représentatif de l'interaction mise en jeu entre chaque cible et son ligand propre. Autrement dit, lequel des ligands reproduit, dans le plus de cas, l'interaction cible-ligand qui s'opère entre une cible et son ligand propre. Dans cette méthode, les 7 ligands ont été successivement amarrés aux 7 protéines FAB. Pour chacun des 49 simulations d'amarrage moléculaire nous identifions si le mode d'interaction est similaire avec celui établi expérimentalement, c'est-à-dire si le positionnement dans le site actif et l'orientation est similaire. Dans ce cadre, une réponse de type oui/non peut être déterminée et est présentée dans le tableau 1.

		Immunoglobuline considérée						
		C-1aj7	C-1c12	C-1ct8	C-1kno	C-2ajx	C-35c8	C-3cfb
Ligand considéré	L-1aj7							
	L-1c12							
	L-1ct8							
	L-1kno							
	L-2ajx							
	L-35c8							
	L-3cfb							

**Tableau 1 – Pour la combinaison mise en avant, la couleur verte correspond à un mode d'interaction similaire à celui établi expérimentalement et la couleur rouge signifie que ce mode d'interaction est différent**

L'observation de la « diagonale verte » du tableau indique que nous parvenons à reproduire systématiquement le mode d'interaction de chaque cible avec son ligand, comme celle-ci a été établit expérimentalement. Nous validons ainsi notre protocole d'amarrage.

Dans un second temps, nous recherchons la structure la plus consensuelle. C'est-à-dire celle capable de reproduire le mode de fixation expérimentale pour la majorité des ligands. Nous constatons ainsi que la cible 3cfb est la seule susceptible de positionner chacun des ligands dans une position équivalente à celle qu'ils occupent dans leur cible propre. Nous avons donc choisi cette structure pour l'étude avec le 2.4-D. Dans tous les amarrages moléculaires qui suivent, nous relevons les énergies d'interactions moyennes.

### 3.2. Etude du 2.4-D en interaction avec l'immunoglobuline

L'ensemble des valeurs dans le cas de la position préférentielle d'interaction, pour les énergies ainsi que pour le pourcentage d'apparition de la géométrie décrite, au cours de l'amarrage moléculaire, sont données dans un tableau récapitulatif à la fin de ce chapitre.

Pour chaque amarrage moléculaire, deux cas distincts sont présentés, chacun correspondant soit à une géométrie où le dichlorobenzène se situe vers l'intérieur de la cavité soit à une géométrie où le dichlorobenzène se situe à l'extérieur de la cavité. Cette distinction permet notamment de vérifier si les systèmes étudiés peuvent avoir l'orientation nécessaire pour la stratégie d'accroche désirée expérimentalement. Ainsi pour chacune de ces deux

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

orientations, est présentée pour chaque système étudié, la pose obtenue ayant l'énergie la plus basse ainsi que son pourcentage d'apparition.

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à l'interaction entre le 2.4-D sous sa forme  $\text{COO}^-$  (cf. figure 9) et la cible 3cfb. En effet, cette forme correspond à celle d'un carboxylate en milieu biologique.

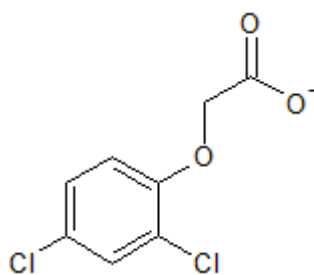


Figure 9 - Dérivé du 2.4-D sous sa forme  $\text{COO}^-$

La forme  $\text{COO}^-$  correspond à la forme du 2.4-D en solution. Une représentation de la forme la plus stable obtenue est donnée dans la figure 10.

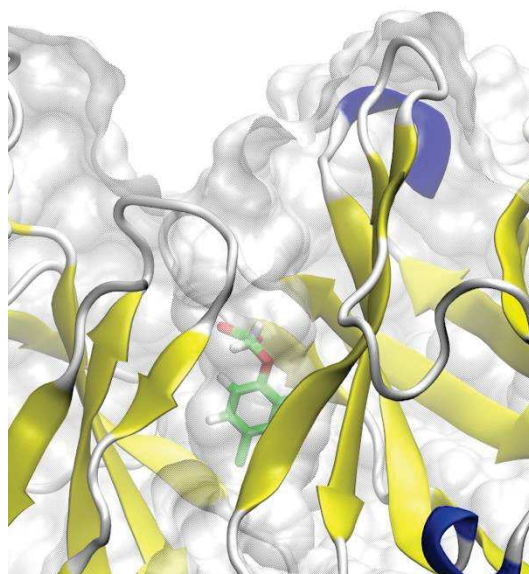


Figure 10 - Interaction entre le 2.4-D dans sa forme  $\text{COO}^-$  et la cible 3cfb

L'énergie obtenue est de  $-5,7$  kcal/mol pour un nombre de pose correspondant à 19%. On constate ainsi que la molécule pénètre intégralement la cavité et la partie acide pointe vers « l'entrée » du canal, ce qui est un résultat intéressant puisque l'extension reliée à la surface est réalisée sur cette partie en accord avec l'équipe expérimentale.

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

Nous avons ensuite substitué cette forme du 2.4-D avec un groupement amide (cf. figure 11 à gauche) qui correspond à un site d'accroche intéressant d'un point de vue expérimental. Une représentation de l'interaction pour ce système est donné en figure 11 (à droite).

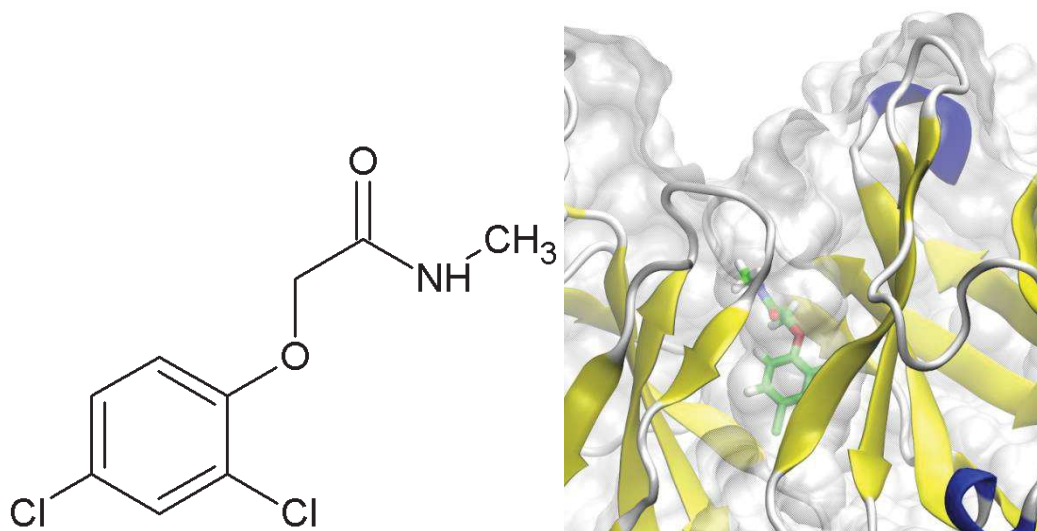
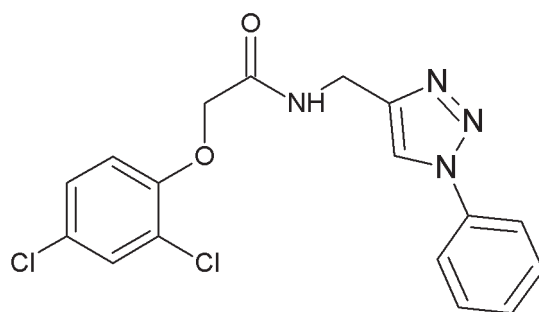


Figure 11 – (à gauche) Dérivé du 2.4-D sous sa forme amide. (à droite) Interaction entre le 2.4-D substitué par un groupement amide et la cible 3cfb

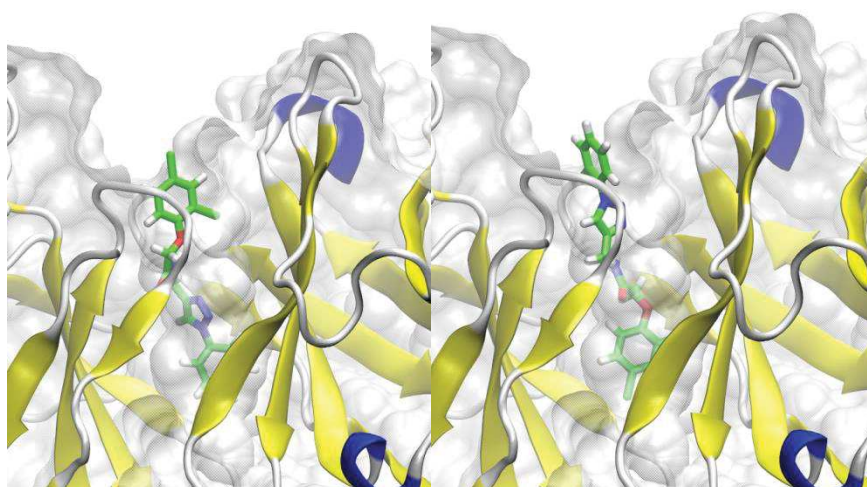
On constate que le mode d'interaction est similaire à celui obtenu dans le cas précédent avec cette fois ci une énergie moyenne de -6,0 kcal/mol pour 24 % d'apparition. L'attache du groupement amide ne modifie ainsi pas les prédispositions du système, avec le groupement amide/acide carboxylique pointant vers l'extérieur de la cavité, nécessaires dans la stratégie de greffage sur surface pour l'élaboration d'un biocapteur.

Dans un second temps nous nous sommes intéressés à une forme du 2.4-D substituée par un amide, un groupement triazine ainsi qu'un groupement benzénique, permettant par la suite une attache à une surface par l'intermédiaire d'un groupement diazonium en para du triazine. Une représentation est donnée dans la figure 12.



**Figure 12 - Dérivé du 2.4-D sous sa forme amide avec des groupements pour une accroche par diazonium**

L'interaction entre ce dérivé du 2.4-D et la cible est donnée dans la figure 13.



**Figure 13 - Interaction entre le 2.4-D substitué par des groupements d'accroche et la cible 3cfb avec les groupements triazine/benzène pointant vers l'intérieur (à gauche) et ces mêmes groupements pointant vers l'extérieur de la cavité (à droite)**

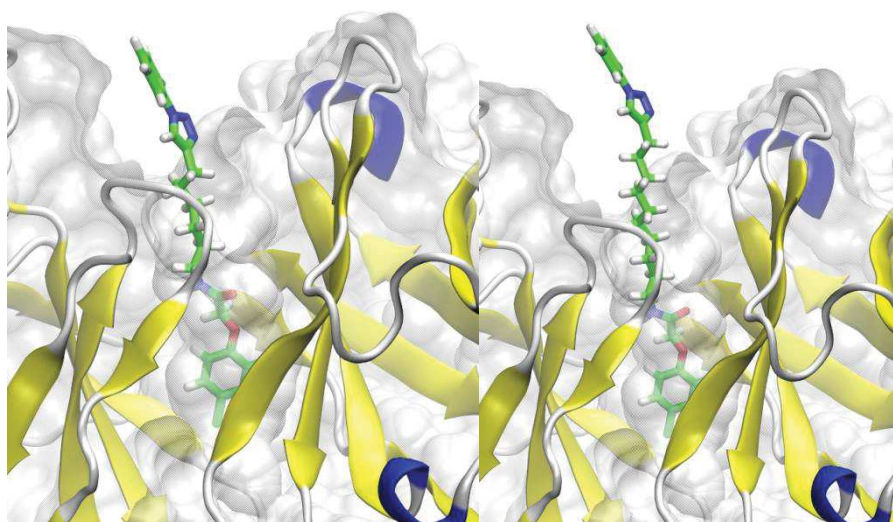
Dans ce cas de figure la pose la plus stable est obtenue dans une configuration où les groupements d'accroche pointent vers l'intérieur de la cavité (figure 13 à gauche). Ce résultat va à l'encontre de nos observations précédentes, néanmoins, la forme où ces groupements pointent vers l'extérieur de la cavité (figure 13 à droite), permettant notre stratégie d'accroche initial, existe également et ne présente qu'une différence d'énergie avec le second cas de l'ordre de 0,6 kcal/mol. De plus, il correspond au deuxième cluster le plus peuplé, ce qui semble indiquer que la stratégie d'accroche reste tout à fait viable.

Nous avons également voulu optimiser la taille de la chaîne carbonée séparant le 2.4-D substitué par un amide et les deux groupements d'attache triazine/benzène, afin de synthétiser un composé possédant la taille adéquate pour que le ligand pénètre la cavité sans que la surface n'induisse une quelconque gêne stérique.



## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

Afin d'évaluer la taille optimale de cette chaîne, nous avons donc choisis d'utiliser la pose favorable pour le système à un carbone puis nous avons ajouté des carbones interactivement à l'aide du logiciel Maestro. Les résultats pour des chaînes à six carbones et dix carbones sont donnés dans la figure 14. Ces deux cas de figure correspondent à des systèmes déjà synthétisés au laboratoire expérimentalement.



**Figure 14 - (à gauche) Interaction entre le 2.4-D substitué par des groupements d'accroche et la cible 3cfb dans le cadre d'une chaîne à 6 carbones. (à droite) Interaction entre le 2.4-D substitué par des groupements d'accroche et la cible 3cfb dans le cadre d'une chaîne à 10 carbones**

Nous constatons dans les deux cas de figure que les groupements d'accroche (triazine et benzène) se trouvent vers l'extérieur de la cavité ce qui reste cohérent avec notre stratégie d'accroche. On remarque également, qu'alors qu'une chaîne à 6 carbones peine à s'extraire de la cavité, une chaîne à 10 carbones permet d'obtenir un groupement d'accroche parfaitement extérieur à celle-ci, amenant ainsi à une attache possible sur une surface.

Un amarrage direct avec des chaînes carbonées plus longues conduit malheureusement à un échec car la taille de la boîte utilisée n'est pas adaptée pour un tel calcul. De plus, augmenter la taille de cette boîte vers l'extérieur conduirait à ajouter des points qui ne seraient pas des points d'interactions avec la protéine et donc n'influenceraient pas le calcul. Egalement, en augmentant la taille de la chaîne carbonée pour un amarrage, on ajoute des angles dièdres au système ce qui reviendrait à favoriser le collapse entropique. En effet la prise en compte de la perte de degrés de liberté est assez « rustre » sur le logiciel autodock et correspond simplement au nombre de degré de liberté multiplié par une constante

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

(0,3113) (Goodsell et al., 1996; Morris et al., 1996; Teodoro et al., 2001). Enfin l'amarrage moléculaire ne tiendrait pas compte de la contrainte de la surface qui étire la chaîne carbonée.

### 4. Un autre ligand d'intérêt : le diclofenac

L'ensemble de ces travaux ont également pu être menés sur un second ligand d'intérêt qu'est l'acide 2-[2-(2,6-dichlorophényl)aminophényl]éthanoïque, aussi appelé diclofenac. Il s'agit d'un dérivé de l'acide phénylacétique classé dans la catégorie des anti-inflammatoires non stéroïdiens et très largement commercialisé au travers du monde. On le retrouve notamment en tant que principe de nombreux médicaments tels que Voltarène<sup>®</sup>, Antalcalm<sup>®</sup>, Compralfene<sup>®</sup>, Diclofenac Mylan<sup>®</sup>, Flector<sup>®</sup>, Tendol<sup>®</sup>, Dispadol<sup>®</sup> etc. Il est par exemple prescrit en cas de douleurs liées à des inflammations articulaires. Aujourd'hui, le diclofenac est tellement consommé qu'il pose des problèmes d'environnement (Sumpter, 2010; Taylor and Senac, 2014). Par exemple son usage vétérinaire à outrance, notamment pour le bétail en Asie du sud ou encore en Afrique dans les années 1990, a mené plusieurs espèces de vautour à la quasi-extinction, induisant une augmentation du nombre de chiens errants et la prolifération de maladies telles que la rage (Cuthbert et al., 2011; Green et al., 2006; Shultz et al., 2004). Une représentation de cette molécule est donnée dans la figure 15.

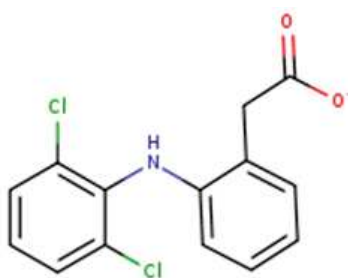


Figure 15 - Représentation de la molécule diclofenac

Le principe de détection du diclofenac mis en jeu dans un biocapteur est similaire à celui mis en place pour la détection de 2,4-D avec un processus compétitif impliqué. Ce principe est précédemment schématisé sur la figure 3 et expliqué pour le cas du 2,4-D.

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

Tout comme pour le 2.4-D, la séquence de l'anticorps au diclofenac n'est pas connue. Il s'agit cependant également d'une immunoglobuline G et le diclofenac a un poids moléculaire et une nature chimique relativement similaire à celui du 2.4-D. En première approximation, nous avons ainsi considéré la cible 3cfb, représentée comme la structure consensus pour l'étude du 2.4-D, comme un modèle acceptable pour traiter le cas du diclofenac également. Les résultats sont présentés de la même manière que pour le 2.4-D.

Dans un premier temps, nous avons considéré le diclofenac sous sa forme déprotonée (figure 16 à gauche). Nous avons donc amarré le diclofenac dans la cible 3cfb et obtenu un mode d'interaction cohérent avec nos observations des structures expérimentales, à savoir une pénétration dans la cavité en mettant en lumière des interactions stabilisantes de type liaisons hydrogène. La figure 16 (à droite) illustre cette association avec les interactions stabilisantes.

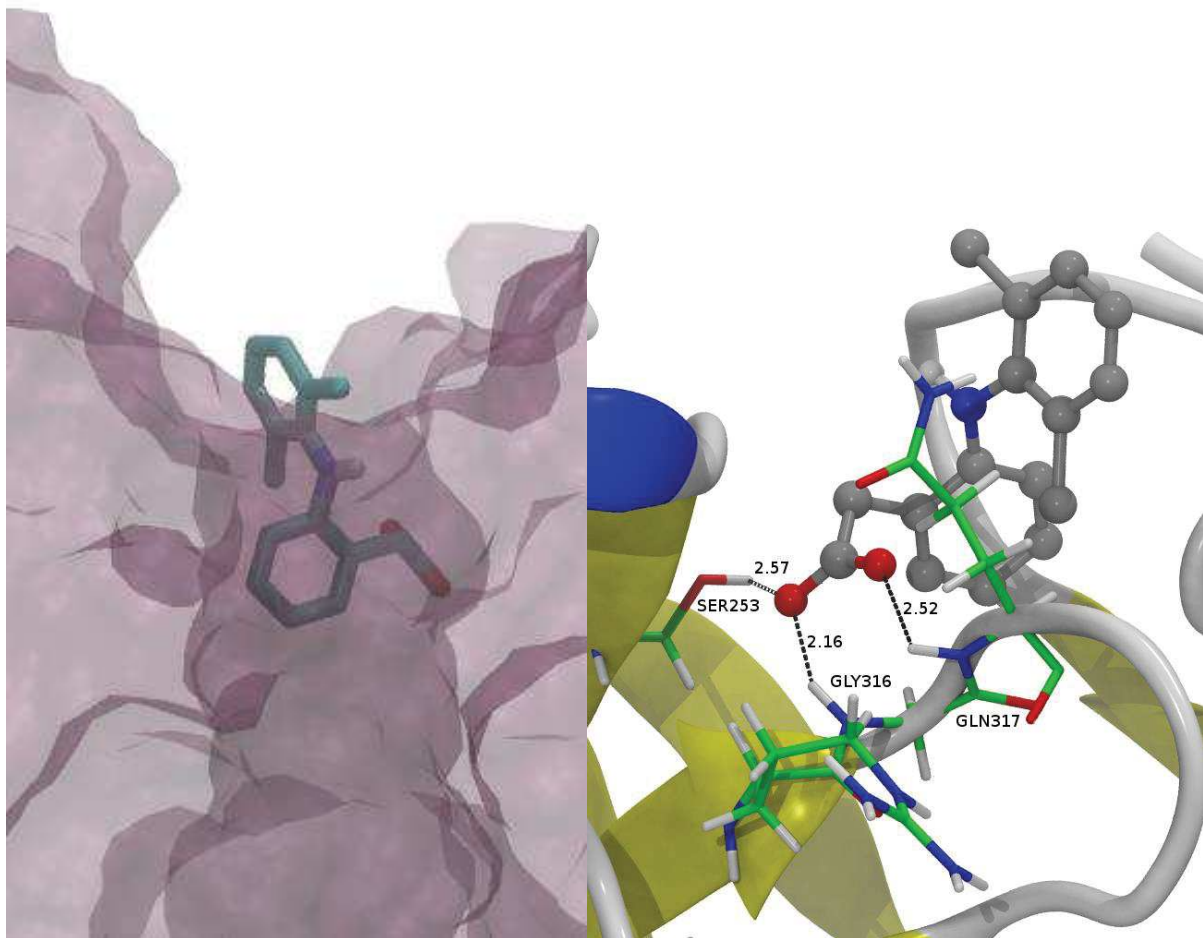


Figure 16 - Diclofenac déprotoné dans la cible 3cfb. A Gauche, vue globale. A Droite illustration des interactions stabilisantes avec la cible



## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

---

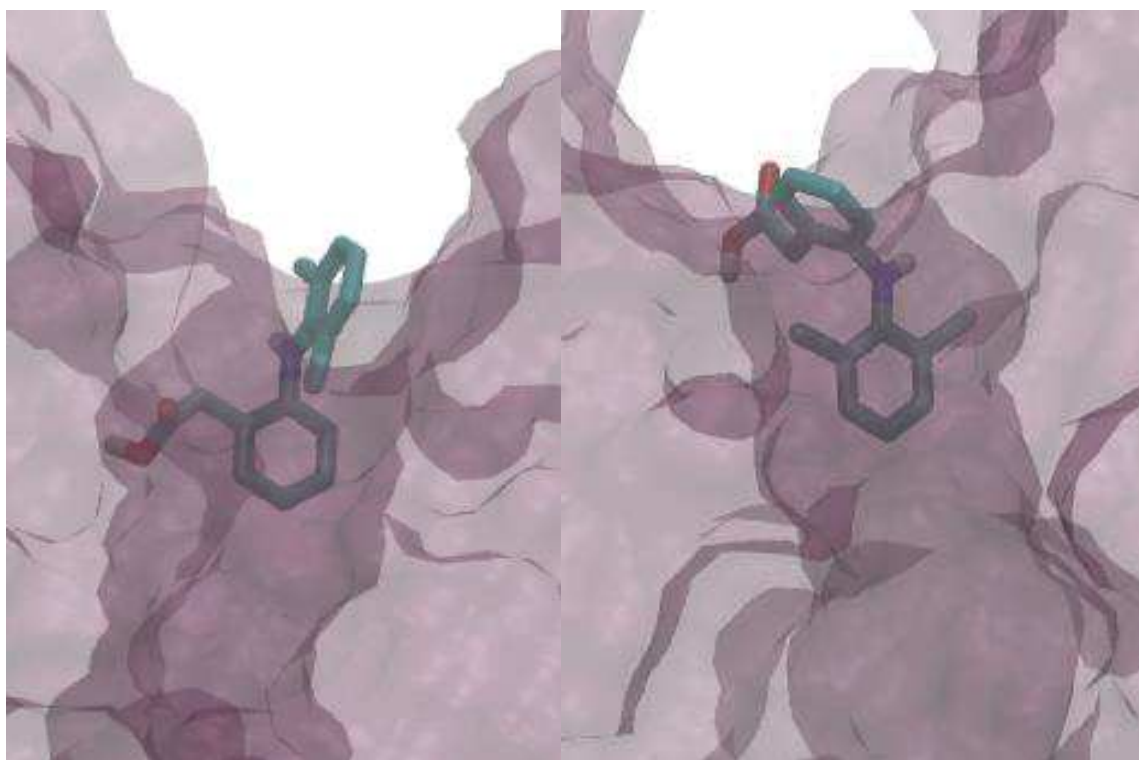
Le principal problème de ce mode d'interaction est que la fonction acide apparaît à l'intérieur de la cavité puisqu'elle établit un réseau de liaisons hydrogènes (avec une serine, une glycine et une glutamine).

Cependant, dans notre système greffé sur surface, l'extension de structure se fera sur la partie acide qui sera modifiée en ester ou en amide. En effet la chimie sur la partie acide carboxylique dans le but de former un ester (ou un amide) semble plus facilement envisageable. Cette charge négative de la partie acide, n'existera donc plus pour la partie greffée sur surface dans notre biocapteur.

Nous avons ainsi entrepris d'autres amarrages. Dans un premier cas, nous nous sommes intéressés à la forme protonée du diclofenac (groupement acide carboxylique en bout de chaîne) ainsi qu'au dérivé portant une fonction amide. Chacune de ces molécules amènent deux configurations possibles.

Si on analyse tout d'abord le cas du système portant un acide carboxylique, la première forme met en jeu un dichlorobenzène se trouvant à l'extérieure de la cavité tandis que le COOH lui se trouve à l'intérieur (figure 17 à gauche).

L'énergie mesurée pour ce cas est d'environ -6,5 kcal/mol. La seconde forme implique un dichlorobenzène se trouvant à l'intérieur de la cavité alors que l'acide carboxylique se trouve à l'extérieur, avec une énergie, très proche du cas précédent, de -6,2 kcal/mol (figure 17 à droite). La géométrie la plus fréquente correspond au premier cas avec 61% contre 21% pour le deuxième cas.



**Figure 17 - Diclofenac protoné dans la cible 3cfb. A gauche la pose majoritaire, à droite la pose minoritaire**

Si on analyse ensuite le cas du système portant un amide, deux cas similaires au cas du COOH sont observés avec une géométrie où le dichlorobenzène se trouve à l'extérieur de la cavité (figure 18 à gauche) et une géométrie où ce groupement se trouve cette fois-ci à l'intérieur de la cavité (figure 18 à droite). L'écart d'énergie entre les deux formes est de l'ordre de 1 kcal/mol (-7,1 kcal/mol et -6,2 kcal/mol respectivement) soit des énergies encore assez proches, cependant nous remarquons que la géométrie mettant en jeu le dichlorobenzène vers l'extérieur est largement plus fréquente avec un total de 69% contre 17% pour l'autre cas.

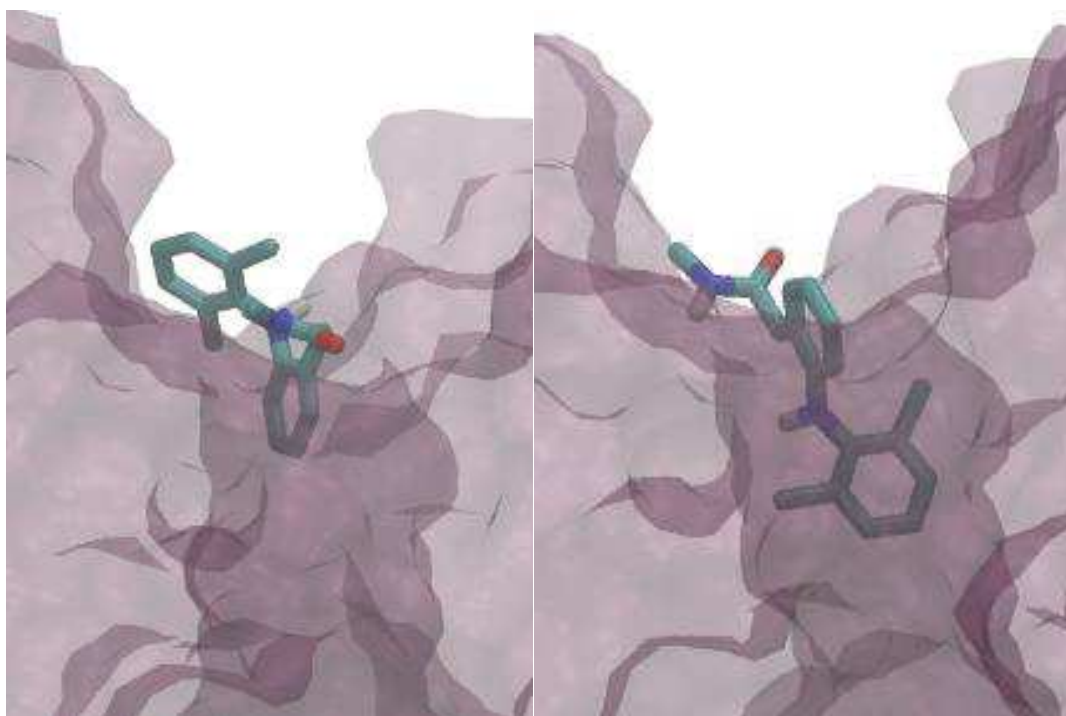


Figure 18 - Diclo-NO-1C dans la cible 3cfb. A gauche la pose majoritaire, à droite la pose minoritaire

Nous en concluons ainsi qu'une orientation où la partie acide carboxylique ou amide est située vers l'extérieur est possible et souhaitable compte tenu du fait que l'accroche avec la surface se réaliserait probablement du côté de ces groupements, par choix de l'équipe expérimentale, comme évoqué précédemment.

Pour identifier quel type de modification était la plus souhaitable expérimentalement nous avons étudié, toujours par amarrage moléculaire, d'autres systèmes portant un groupement amide mais une chaîne carbonée de taille variable (respectivement 6 et 10 atomes de carbone). Des représentations sont données dans la figure 19.

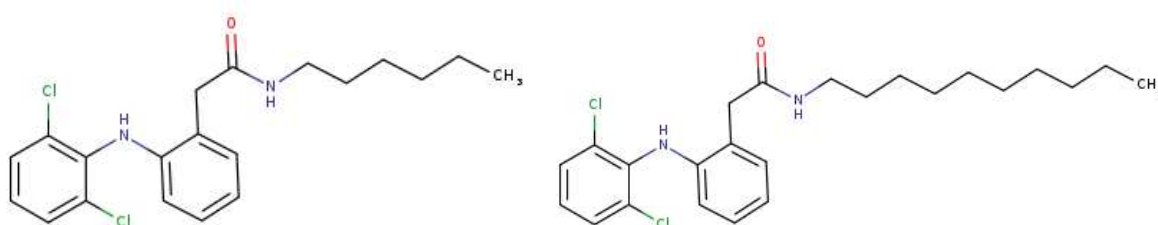


Figure 19 – (à gauche) Diclofenac avec un groupement amide et une chaîne à six carbones (Diclo-NO-6C). (à droite) Diclofenac avec un groupement amide et une chaîne à dix carbones (Diclo-NO-10C)

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

Les résultats pour les chaînes à 6 indiquent également les deux positionnements possibles avec des énergies très proches (-5,9 kcal/mol pour le cas du dichlorobenzène à l'extérieur de la cavité et -6,6 kcal/mol dans le cas où ce groupement se trouve à l'intérieur), mais des fréquences d'apparition toujours très différente (62% et 6% respectivement) (cf. figure 20).

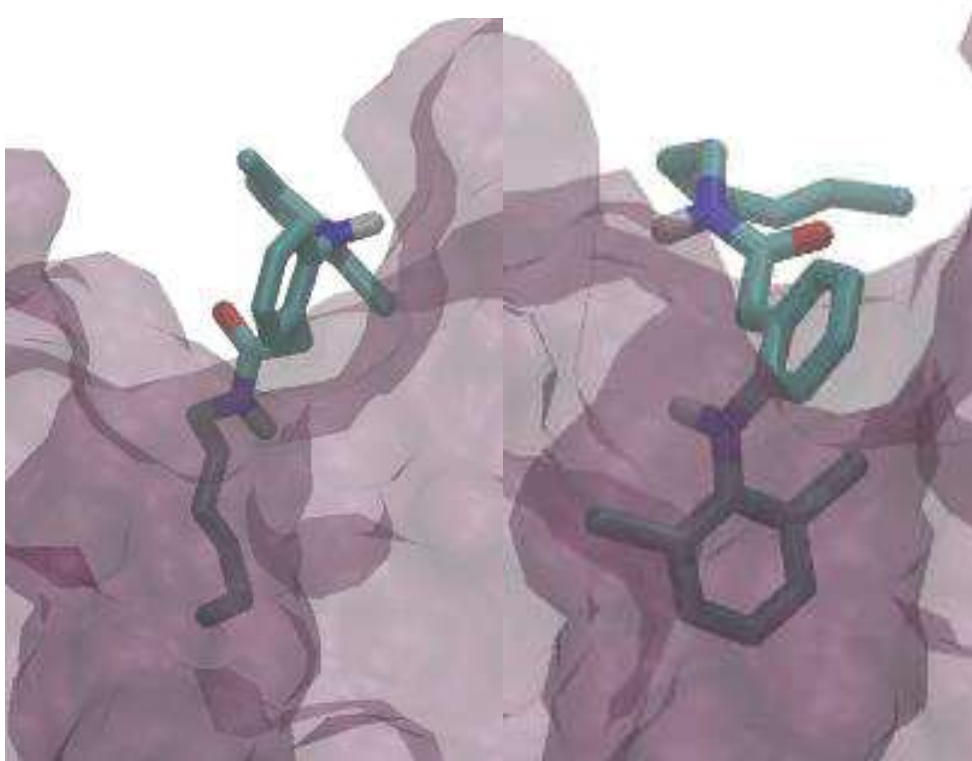


Figure 20 - Diclo-NO-6C dans la cible 3cfb. A gauche la pose majoritaire, à droite la pose minoritaire

Enfin dans le cas du système à 10 carbones, le cas le plus favorable énergétiquement (de plus de 2 kcal/mol par rapport à son homologue) correspond à celui possédant le dichlorobenzène vers l'extérieur de la cavité. C'est également la configuration qui comporte le plus d'apparition avec 39% contre 2% pour le second cas (cf. figure 21).

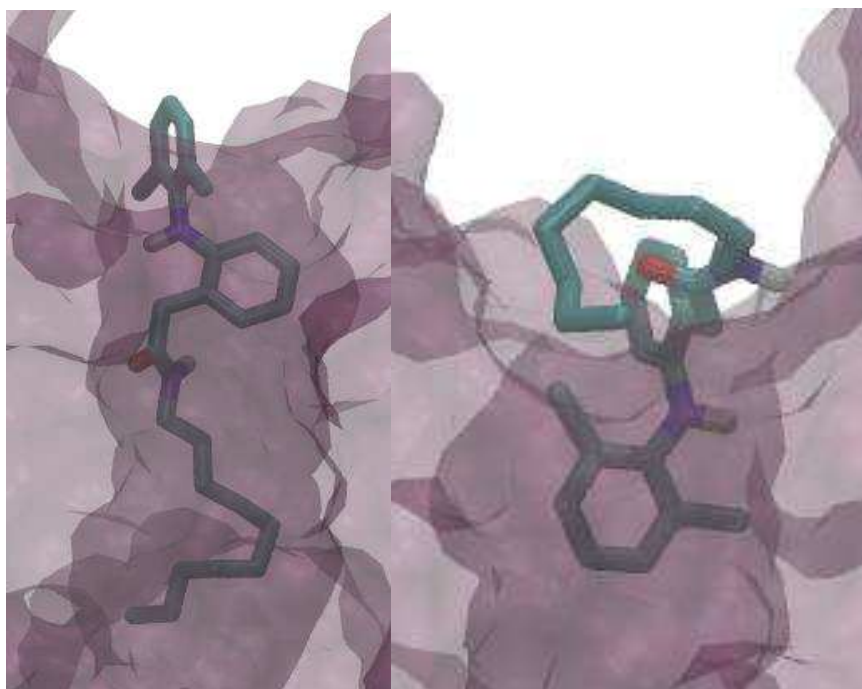


Figure 21 - Diclo-NO-10C dans la cible 3cfb. A gauche la pose majoritaire, à droite la pose minoritaire

Pour terminer nous nous sommes intéressé à des systèmes avec l'ajout de groupements triazine et benzénique à la suite de la chaîne carbonée de taille variable. Des représentations de ces 3 systèmes sont données dans la figure 22.

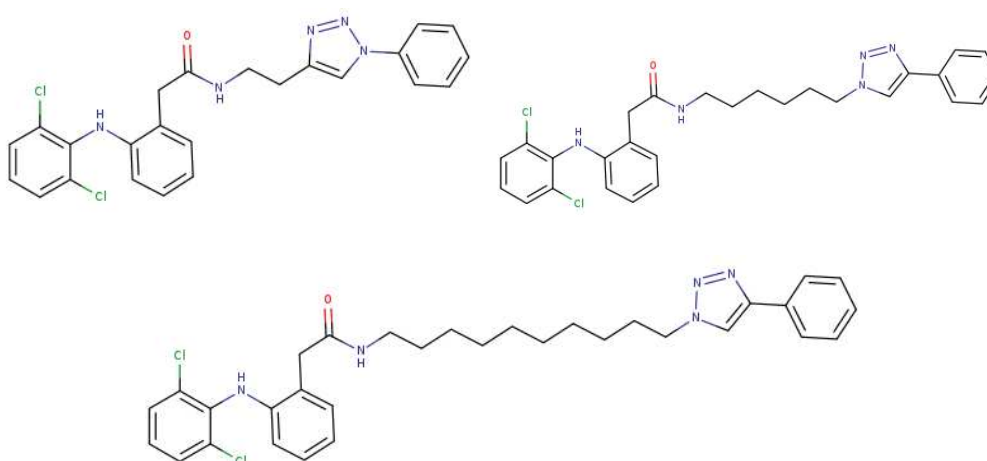


Figure 22 - Diclofenac avec un groupement amide, des groupements triazine et benzénique ainsi qu'une chaîne carbonée de taille variable. Respectivement 1 carbone : diclo-N-1C-NO-T-bz (en haut à gauche), 6 carbones : diclo-N-6C-NO-T-bz (en haut à droite) et 10 carbones : diclo-N-10C-NO-T-bz (en bas)

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

Dans le cas de la chaîne à un seul carbone, nous obtenons uniquement des cas positionnant le dichlorobenzène vers l'extérieur avec une énergie de -9,8 kcal/mol et 52% d'apparition pour la configuration la plus favorable.

De même dans le cas de la molécule possédant une chaîne à 6 carbones, seule la configuration dichlorobenzène à l'extérieur a été obtenue avec une énergie de -9,2 kcal/mol et 6% d'apparition.

Enfin, dans le cas de la molécule possédant une chaîne carbonée de 10 atomes, on retrouve également une unique configuration avec le dichlorobenzène orienté vers l'extérieur de la cavité et une énergie de -8,8 kcal/mol pour la géométrie la plus stable, avec 4% d'apparition. Une représentation de ces 3 systèmes est donnée dans la figure 23.

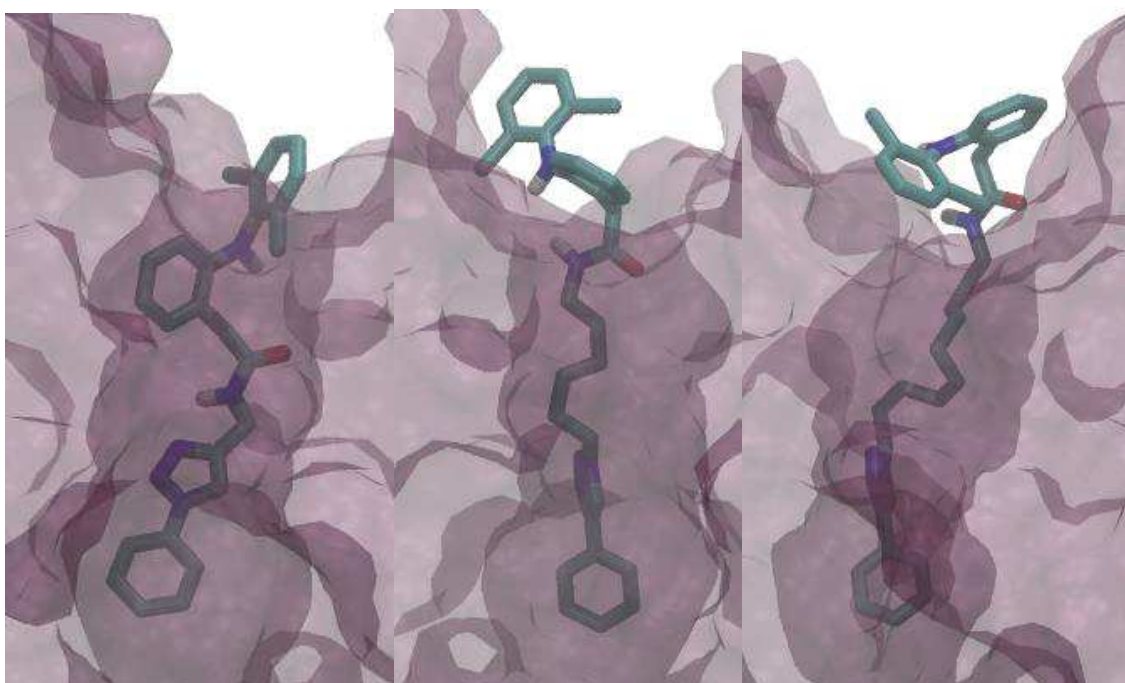


Figure 23 - Diclo-N-1C-NO-T-bz dans la cible 3cfb (à gauche), Diclo-N-6C-NO-T-bz dans la cible 3cfb (au centre) et Diclo-N-10C-NO-T-bz dans la cible 3cfb (à droite)



## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

Le tableau 2 regroupe toutes les molécules étudiées par amarrage moléculaire avec leurs énergies, leurs types ainsi que le nombre de poses (ou pourcentage d'apparition) pour la configuration la plus pertinente dans chaque cas.

Type de molécule	Energie	%
Diclofenac protoné (COOH), dichlorobenzène vers l'intérieur	-6,1	21
Diclofenac protoné (COOH), dichlorobenzène vers l'extérieur	-6,5	61
Diclofenac protoné (Amide), dichlorobenzène vers l'intérieur	-6,2	17
Diclofenac protoné (Amide), dichlorobenzène vers l'extérieur	-7,1	69
Diclo-NO-6C, dichlorobenzène vers l'intérieur	-6,6	6
Diclo-NO-6C, dichlorobenzène vers l'extérieur	-5,9	62
Diclo-NO-10C, dichlorobenzène vers l'intérieur	-6,2	2
Diclo-NO-10C, dichlorobenzène vers l'extérieur	-8,9	39
Diclo-N-1C-NO-T-bz	-9,8	52
Diclo-N-6C-NO-T-bz	-9,2	6
Diclo-N-10C-NO-T-bz	-8,8	4
2.4-D déprotoné (COO <sup>-</sup> ), dichlorobenzène vers l'intérieur	-5,3	23
2.4-D déprotoné (COO <sup>-</sup> ), dichlorobenzène vers l'extérieur	-5,2	8
2.4-D protoné (COOH), dichlorobenzène vers l'intérieur	-5,7	19
2.4-D protoné (COOH), dichlorobenzène vers l'extérieur	-5,3	16
2.4-D protoné (Amide), dichlorobenzène vers l'intérieur	-6,0	24
2.4-D protoné (Amide), dichlorobenzène vers l'extérieur	-5,7	26
2.4-D-1C-NO-T-Bz, dichlorobenzène vers l'intérieur	-9,0	14
2.4-D-1C-NO-T-Bz, dichlorobenzène vers l'extérieur	-9,6	39
2.4-D-6C-NO-T-Bz, dichlorobenzène vers l'intérieur	-9,5	8
2.4-D-6C-NO-T-Bz, dichlorobenzène vers l'extérieur	-9,0	21
2.4-D-10C-NO-T-Bz, dichlorobenzène vers l'intérieur	-9,0	1
2.4-D-10C-NO-T-Bz, dichlorobenzène vers l'extérieur	-8,9	7

**Tableau 2 - Tableau récapitulatif des énergies (en kcal/mol) et pourcentage d'apparition (en %) pour chaque géométrie au cours de l'amarrage moléculaire**

## 5. Conclusion

En conclusion, nous avons vu que nous étions capables, par amarrage moléculaire, de bien reproduire l'interaction entre le ligand et son immunoglobuline, obtenue expérimentalement. Grâce à notre méthode d'amarrage croisé nous sommes parvenu à identifier une cible préférentielle pour l'étude de nos ligands 2.4-D et diclofenac qui est la cible 3cfb.

Nous avons obtenu une énergie d'interaction négative pour le 2.4-D avec sa cible consensus indiquant une association favorable. Nous avons également pu constater que le ligand

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

---

s'enfonce à l'intérieur de la cavité avec la partie 2,4-dichlorophenoxy orienté vers le centre de la protéine et la partie acide orientée en direction du solvant, indiquant que les dérivés du 2.4-D devraient être formés sur le groupement acide. Afin de vérifier ce résultat plusieurs modifications ont ensuite été opérées. Notamment la fonction acide carboxylique à été remplacée par un groupement amide. Les mêmes observations ont été relevées avec un enfouissement du ligand dans la cavité et une orientation en direction du centre de la protéine pour la partie 2,4-dichlorophenoxy.

Puisqu'il est nécessaire que le ligand 2.4-D soit lié à une surface pour en faire un biocapteur, par un intermédiaire, dans le cadre de la confection d'un biocapteur, la taille optimale nécessaire à la sortie de la cavité de la partie substituable (partie acide) a ensuite été étudiée. Les résultats pour des tailles de chaîne carbonées à hauteur de 1, 6 et 10 carbones ont été comparés, montrant que 10 carbones semble être un choix raisonnable.

Des études similaires menées sur un second ligand d'intérêt qu'est le diclofenac ont également montré des résultats évoluant sur la même voie, avec la possibilité de voir le ligand s'enfoncer dans la protéine par ses deux côtés, ce qui rend possible une substitution du diclofenac par le groupement acide comme dans le cas du 2.4-D. Enfin une taille de chaîne d'environ 10 carbones semble également amener un compromis intéressant pour permettre au ligand de s'extraire partiellement de la cavité de la protéine.

Ce travail a donné lieu à une publication (Nguyen et al., 2018).



### Bibliographie

- Berman, H.M. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research* 28, 235–242.
- Charbonnier, J.-B., Carpenter, E., Gigant, B., Golinelli-Pimpaneau, B., Eshhar, Z., Green, B.S., and Knossow, M. (1995). Crystal structure of the complex of a catalytic antibody Fab fragment with a transition state analog: structural similarities in esterase-like catalytic antibodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92, 11721–11725.
- Cuthbert, R., Taggart, M.A., Prakash, V., Saini, M., Swarup, D., Upreti, S., Mateo, R., Chakraborty, S.S., Deori, P., and Green, R.E. (2011). Effectiveness of action in India to reduce exposure of Gyps vultures to the toxic veterinary drug diclofenac. *PLoS One* 6, e19069.
- Debler, E.W., Kaufmann, G.F., Meijler, M.M., Heine, A., Mee, J.M., Pljevaljčić, G., Di Bilio, A.J., Schultz, P.G., Millar, D.P., and Janda, K.D. (2008). Deeply inverted electron-hole recombination in a luminescent antibody-stilbene complex. *Science* 319, 1232–1235.
- Dequaire, M., Degrand, C., and Limoges, B. (1999). An immunomagnetic electrochemical sensor based on a perfluorosulfonate-coated screen-printed electrode for the determination of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Analytical Chemistry* 71, 2571–2577.
- Dzantiev, B.B., Zherdev, A.V., Yulaev, M.F., Sitdikov, R.A., Dmitrieva, N.M., and Moreva, I.Y. (1996). Electrochemical immunosensors for determination of the pesticides 2, 4-dichlorophenoxyacetic and 2, 4, 5-trichlorophenoxyacetic acids. *Biosensors and Bioelectronics* 11, 179–185.
- Feng, X., Zhang, G., Chin, L.K., Liu, A.Q., and Liedberg, B. (2017). Highly Sensitive, Label-Free Detection of 2, 4-Dichlorophenoxyacetic Acid Using an Optofluidic Chip. *ACS Sensors* 2, 955–960.
- Gigant, B., Tsumuraya, T., Fujii, I., and Knossow, M. (1999). Diverse structural solutions to catalysis in a family of antibodies. *Structure* 7, 1385–1393.
- Goodsell, D.S., Morris, G.M., and Olson, A.J. (1996). Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock. *Journal of Molecular Recognition* 9, 1–5.
- Green, R.E., Taggart, M.A., Das, D., Pain, D.J., Sashi Kumar, C., Cunningham, A.A., and Cuthbert, R. (2006). Collapse of Asian vulture populations: risk of mortality from residues of the veterinary drug diclofenac in carcasses of treated cattle. *Journal of Applied Ecology* 43, 949–956.
- Gruber, K., Zhou, B., Houk, K.N., Lerner, R.A., Shevlin, C.G., and Wilson, I.A. (1999). Structural basis for antibody catalysis of a disfavored ring closure reaction. *Biochemistry* 38, 7062–7074.
- HENRIET, J. (1950). Chemistry of 2, 4-D herbicides. In *Annales de Gembloux*, pp. 1–8.
- Jia, M., Zhang, Z., Li, J., Shao, H., Chen, L., and Yang, X. (2017). A molecular imprinting fluorescence sensor based on quantum dots and a mesoporous structure for selective and

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

---

sensitive detection of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Sensors and Actuators B: Chemical* 252, 934–943.

Kalab, T., and Skládal, P. (1995). A disposable amperometric immunosensor for 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Analytica Chimica Acta* 304, 361–368.

Khomutov, S.M., Zherdev, A.V., Dzantiev, B.B., and Reshetilov, A.N. (1994). Immunodetection of herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid by field-effect transistor-based biosensors. *Analytical Letters* 27, 2983–2995.

Kolb, H.C., and Sharpless, K.B. (2003). The growing impact of click chemistry on drug discovery. *Drug Discovery Today* 8, 1128–1137.

Kolb, H.C., Finn, M.G., and Sharpless, K.B. (2001). Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition* 40, 2004–2021.

Kröger, S., Turner, A.P., Mosbach, K., and Haupt, K. (1999). Imprinted polymer-based sensor system for herbicides using differential-pulse voltammetry on screen-printed electrodes. *Analytical Chemistry* 71, 3698–3702.

Langedijk, A.C., Spinelli, S., Anguille, C., Hermans, P., Nederlof, J., Butenandt, J., Honegger, A., Cambillau, C., and Pluëckthun, A. (1999). Insight into odorant perception: the crystal structure and binding characteristics of antibody fragments directed against the musk odorant traseolide1. *Journal of Molecular Biology* 292, 855–869.

Mehrotra, P. (2016). Biosensors and their applications—A review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* 6, 153–159.

Morris, G.M., Goodsell, D.S., Huey, R., and Olson, A.J. (1996). Distributed automated docking of flexible ligands to proteins: parallel applications of AutoDock 2.4. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 10, 293–304.

Morris, G.M., Goodsell, D.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belew, R.K., and Olson, A.J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry* 19, 1639–1662.

Nguyen, T.T.K., Nguyen, T.N., Anquetin, G., Reisberg, S., Noël, V., Mattana, G., Touzeau, J., Barbault, F., Pham, M.C., and Piro, B. (2018). Triggering the Electrolyte-Gated Organic Field-Effect Transistor output characteristics through gate functionalization using diazonium chemistry: Application to biodetection of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Biosensors and Bioelectronics* 113, 32–38.

Rueda, M., Bottegoni, G., and Abagyan, R. (2009). Consistent improvement of cross-docking results using binding site ensembles generated with elastic network normal modes. *Journal of Chemical Information and Modeling* 49, 716–725.

Shi, H., Zhao, G., Liu, M., and Zhu, Z. (2011). A novel photoelectrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer modified TiO<sub>2</sub> nanotubes and its highly selective detection of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *Electrochemistry Communications* 13, 1404–1407.

## Chapitre 4 : Etude autour de l'interaction biologique d'un biocapteur

---

Shultz, S., Baral, H.S., Charman, S., Cunningham, A.A., Das, D., Ghalsasi, G.R., Goudar, M.S., Green, R.E., Jones, A., and Nighot, P. (2004). Diclofenac poisoning is widespread in declining vulture populations across the Indian subcontinent. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 271, S458–S460.

Sumpter, J.P. (2010). Pharmaceuticals in the Environment: Moving from a Problem to a Solution. In *Green and Sustainable Pharmacy*, (Springer), pp. 11–22.

Suwalsky, M., Benites, M., Villena, F., Aguilar, F., and Sotomayor, C.P. (1996). Interaction of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) with cell and model membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 1285, 267–276.

Takacs, P., Martin, P.A., and Struger, J. (2002). Pesticides in Ontario, a Critical Assessment of Potential Toxicity of Agricultural Products to Wildlife, with Consideration for Endocrine Disruption: Triazine Herbicides, Glyphosate, and Metolachlor (Citeseer).

Taylor, D., and Senac, T. (2014). Human pharmaceutical products in the environment—The “problem” in perspective. *Chemosphere* 115, 95–99.

Teodoro, M.L., Phillips, G.N., and Kavraki, L.E. (2001). Molecular docking: A problem with thousands of degrees of freedom. In *Robotics and Automation, 2001. Proceedings 2001 ICRA. IEEE International Conference On, (IEEE)*, pp. 960–965.

Thilagavathi, R., and Mancera, R.L. (2010). Ligand- protein cross-docking with water molecules. *Journal of Chemical Information and Modeling* 50, 415–421.

Wagner, S., Bell, J., Biyikal, M., Gawlitza, K., and Rurack, K. (2018). Integrating fluorescent molecularly imprinted polymer (MIP) sensor particles with a modular microfluidic platform for nanomolar small-molecule detection directly in aqueous samples. *Biosensors and Bioelectronics* 99, 244–250.

Wang, X., Yu, J., Wu, X., Fu, J., Kang, Q., Shen, D., Li, J., and Chen, L. (2016). A molecular imprinting-based turn-on ratiometric fluorescence sensor for highly selective and sensitive detection of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D). *Biosensors and Bioelectronics* 81, 438–444.

Wedemayer, G.J., Patten, P.A., Wang, L.H., Schultz, P.G., and Stevens, R.C. (1997). Structural insights into the evolution of an antibody combining site. *Science* 276, 1665–1669.

Xie, C., Gao, S., Guo, Q., and Xu, K. (2010). Electrochemical sensor for 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid using molecularly imprinted polypyrrole membrane as recognition element. *Microchimica Acta* 169, 145–152.

Zhu, X., Dickerson, T.J., Rogers, C.J., Kaufmann, G.F., Mee, J.M., McKenzie, K.M., Janda, K.D., and Wilson, I.A. (2006). Complete reaction cycle of a cocaine catalytic antibody at atomic resolution. *Structure* 14, 205–216.

# **Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens**

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

### Sommaire

<b>1. Introduction.....</b>	<b>144</b>
<b>2. Détails techniques.....</b>	<b>147</b>
<b>3. Séquence d'accroche.....</b>	<b>147</b>
3.1. Paramétrage de la surface d'or au niveau quantique.....	148
3.2. Etude dynamique .....	150
3.3. Etude énergétique.....	156
3.4. Simplification du système .....	164
<b>4. Système tribloc en solution .....</b>	<b>168</b>
<b>5. Système tribloc sur une surface d'or.....</b>	<b>172</b>
<b>6. Enzyme V8 protease.....</b>	<b>174</b>
6.1. Protéase en solution.....	174
6.2. Analyse structurale avec le tribloc en solution .....	181
6.3. Protéase associée au peptide tribloc adsorbé sur une surface d'or .....	183
<b>7. Cateslytine sur Au .....</b>	<b>186</b>
<b>8. Une autre surface : le quartz .....</b>	<b>187</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>191</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>192</b>

### 1. Introduction

Chaque année de nombreux patients sont hospitalisés et leur prise en charge nécessitera la pose d'implants. Il est estimé que la pose de dispositifs, tels que les cathéters ou les implants de longue durée, sont responsables de la moitié des infections nosocomiales contractées à l'hôpital chaque année (Guggenbichler et al., 2011). Ces infections posent un réel problème sanitaire, avec près de 4000 décès par an en France, dont presque la moitié survenant pour des patients dont le pronostic vital n'était pas engagé au départ (Thiolet et al., 2016). En effet, le milieu hospitalier favorise l'apparition de souches bactériennes très résistantes qui rendent presque inefficaces les antibiotiques. Face à cette problématique, les revêtements antibactériens apparaissent comme une solution efficace (Cheng et al., 2017; Fullenkamp et al., 2012; Min et al., 2016).

Dans cette optique, l'unité Biomatériaux et Bioingénierie (INSERM) de Strasbourg dirigée par le Dr Philippe Laval, développe un nouveau type de revêtement antibactérien actif en présence d'une cible pathogène précise. Leurs travaux ont mené au développement d'un peptide inédit : (L-DOPA)-K-(L-DOPA)-K-(L-DOPA)-TLRGGE-RSMRLSFRARGYGFR. Ce peptide composé de trois parties lui conférant des propriétés bien spécifiques, est dit « tribloc ». (Voir figure 1)

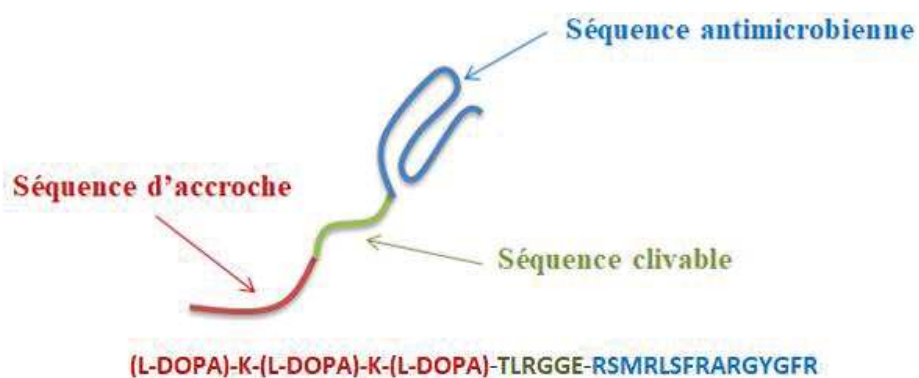


Figure 1 - Schéma général regroupant le peptide tribloc et sa séquence

La séquence d'accroche (L-DOPA)-K-(L-DOPA)-K-(L-DOPA) est une partie bio-inspirée par le mollusque bivalve *Mytilus* de la famille des *Mytilidae*, communément appelé la « moule ». En effet, ce mollusque marin possède la capacité de s'accrocher sur tous types de surfaces ou supports solides (bois, plastique, roche, etc). La glande byssogène de ces mollusques

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

sécrète un ensemble de fibres permettant l'adhésion aux différents types de substrats. Ces filaments sont composés en grande partie par les protéines mfp-3 et mfp-5, elles-mêmes abondamment composées de tyrosines qui peuvent être oxydées en L-3,4-dihydroxyphénylalanine ou L-Dopa, ainsi que de lysines. A titre d'exemple, la séquence de la protéine mfp-5 est donnée dans la figure 2.

```
SSEEYKGGYYPGNAYHYHSGGSYHGSGYHG  
GYKGKYYGKAKKYYYKYKNSGKYKYLKKAR  
KYHRKGYKYYGGSS
```

**Figure 2 - Séquence de la protéine mfp-5. Les résidus tyrosines (Y) sont indiqués en rouge dans la séquence. Ceux-ci sont oxydés en L-Dopa**

Plusieurs études ont déjà montré l'implication de L-Dopa et des lysines (Brubaker and Messersmith, 2012; Dalsin and Messersmith, 2005; Kaur et al., 2018; Waite and Tanzer, 1980) dans le processus d'adhésion dont sont responsables mfp-3 et mfp-5.

La séquence d'accroche du système tribloc est ainsi construite dans le but de permettre au système une adhésion sur tous types de surfaces, aussi bien organiques qu'inorganiques.

La seconde partie de la séquence peptidique, TLRGGE, est une partie clivable élaborée par l'équipe du Dr Laval. La principale caractéristique de cette seconde partie réside dans son clivage spécifique par *Staphylococcus Aureus*. En effet, ce dernier possède, à sa surface, un certain nombre de protéines dont l'endoprotéinase Glu-C ou enzyme V8 protéase, qui comme toute protéase a pour fonction de cliver des protéines ou des peptides en hydrolysant leur liaison peptidique. Ainsi, en présence spécifique du staphylocoque doré, cette seconde partie est coupée libérant alors dans le milieu la troisième partie de la séquence tribloc.

Cette troisième et dernière partie est une séquence antimicrobienne du nom de cateslytine ou RSMRLSFRARGYGFR. Il s'agit d'une séquence raccourcie de la catestatine (elle-même issue de la chromogranine A), ayant pour propriété d'avoir une bonne résistance aux protéases ainsi qu'une action bactéricide contre un nombre très important d'agents pathogènes, notamment *Staphylococcus Aureus*, et qui doit être libérée dans le milieu afin de pouvoir éliminer sa cible (Aslam et al., 2013; Preece et al., 2004).

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

Il s'agit donc d'un dispositif innovant, biocompatible et avec une sélectivité importante puisque l'agent bactérien ciblé est lui-même responsable de la libération de son propre poison dans le milieu.

Plusieurs tests expérimentaux réalisés par l'équipe du Dr Lavalle ont montré l'efficacité du système tribloc en solution. L'activité antibiotique du tribloc est donc avérée. De même une étude utilisant des données FRET (Förster Resonance Energy Transfer) montre que le clivage par la protéase V8 se produit.

Dans le but d'adapter le système à des dispositifs médicaux, il est nécessaire d'immobiliser le peptide sur une surface biocompatible. La figure 3 dresse le bilan du mode d'action de notre système une fois adsorbée sur une surface.

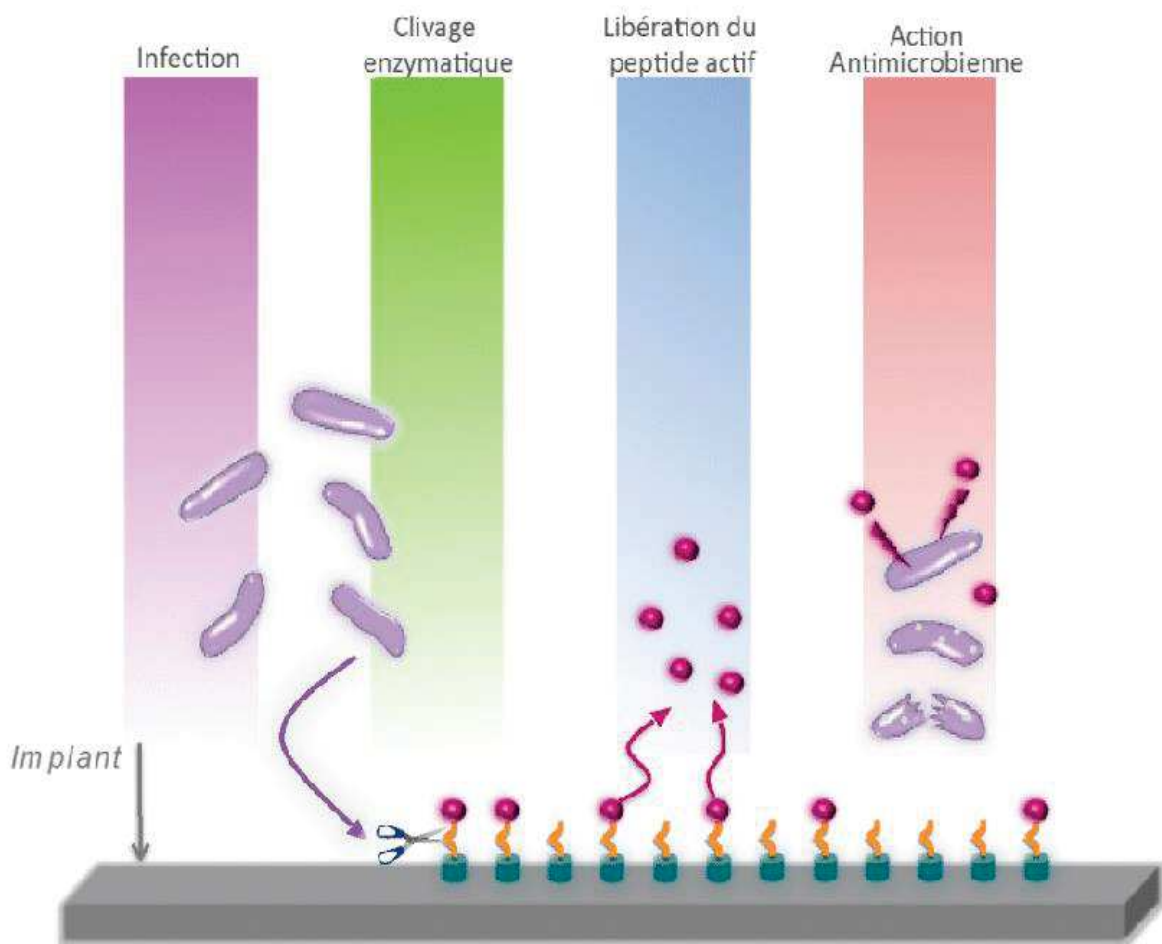


Figure 3 - Les différentes actions du peptide tribloc en présence d'un agent pathogène (*Staphylococcus Aureus*), d'après (Mutschler, « Nouveaux concepts de revêtements antimicrobiens à base de peptides naturels et polypeptides appliqués aux dispositifs médicaux », 2017)



Malheureusement, l'immobilisation sur surface engendre une perte de l'activité bactéricide du système, sans explications apparentes du point de vue de l'expérience. Cette observation est indépendante du type de surface considéré. L'utilisation de la modélisation moléculaire donnerait ici des informations à l'échelle atomique qui permettraient de mieux comprendre le processus d'adsorption du système tribloc sur une surface, ainsi que l'interaction entre la protéase et la séquence clivable, afin d'obtenir des voies d'explications quant à cette perte de propriétés bactéricides.

Dans le cadre de cette étude, nous nous proposons d'étudier un système composé de la séquence tribloc en adsorption sur une surface d'or au moyen de la modélisation moléculaire.

### 2. Détails techniques

Les dynamiques moléculaires ont été réalisées au moyen du code de calcul AMBER 16 (Case et al.). Les résidus oxydés (L-Dopa) ont été paramétrés à l'aide du champ de force gaff2 (Wang et al., 2004) et les charges atomiques partielles ont été obtenues par la méthode RESP (Kumar et al., 1992). L'algorithme SHAKE (Ryckaert et al., 1977) a été utilisé ainsi un pas de 2 fs a pu être choisi pour la dynamique. Les simulations ont été démarrées avec une géométrie optimisée suivie d'une chauffe. La visualisation et l'analyse des structures ont été réalisées à l'aide du logiciel « visual molecular dynamic » (Humphrey et al., 1996) et le logiciel cpptraj (Roe and Cheatham III, 2013).

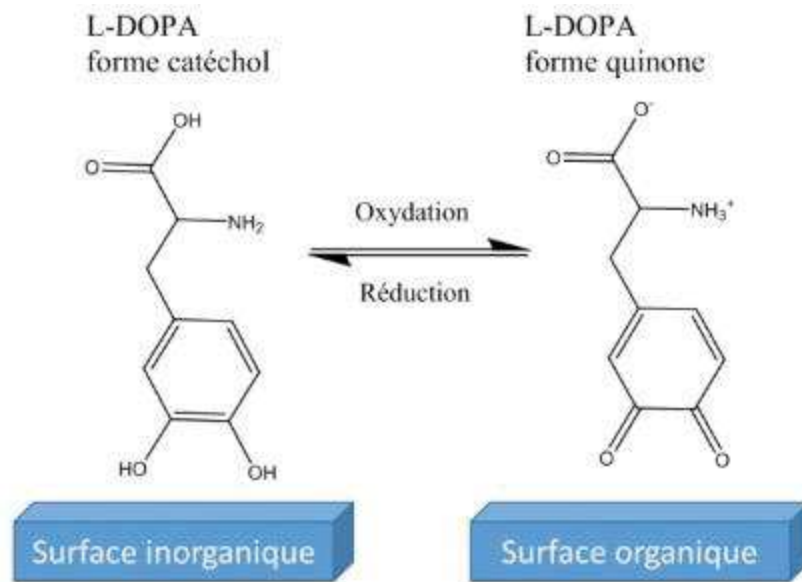
Les calculs Umbrella Sampling ont été réalisés sur un déplacement de 15 Å le long de la « surface separation distance » (SSD, voir plus loin) en réalisant 50 dynamiques biaisées de 40 ns chacune (chaque fenêtre). Une contrainte de 5 kcal/mol a été appliquée uniquement sur la coordonnée de réaction choisie. Le peptide est libre de translater ou d'opérer des mouvements de rotation. D'un point de vue statistique, il a été vérifié que chaque distribution se recoupe bien puis le PMF a été extrait à l'aide du logiciel WHAM (Kumar et al., 1992).

### 3. Séquence d'accroche

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la séquence d'accroche seule. En effet, dans la littérature il a été décrit que la L-Dopa s'adsorbe préférentiellement sur un

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

type de surface spécifique en fonction de sa forme catéchol (réduite) ou quinone (oxydée). Ainsi, sous une forme catéchol la L-Dopa aurait plutôt tendance à s'adsorber préférentiellement sur une surface inorganique (Krogsgaard et al., 2016) tandis que la forme quinone préfèrera les interactions avec les surfaces organiques (Lee et al., 2006; Yang et al., 2014). (Voir figure 4)



**Figure 4 – Adsorption préférentielle de la L-Dopa en fonction de son degré d'oxydation**

En milieu aquatique, la L-DOPA se présente sous la forme d'un équilibre entre sa forme catéchol et sa forme quinone, permettant au mollusque marin une adhésion sur tous types de supports. (Krogsgaard et al., 2016)

Nous avons ainsi décidé d'étudier, dans un premier temps, les formes quinone et catéchol envisageables pour la partie accroche de la séquence tribloc.

### 3.1. Paramétrage de la surface d'or au niveau quantique

Nous avons fait le choix d'une surface d'or de type Au(111) à 4 couches.

Afin de construire le modèle le plus intéressant possible, une recherche en amont sur le paramétrage de la surface d'or a été réalisée. Les paramètres du champ de force ont été obtenus dans la littérature (Agrawal et al., 2002; Heinz et al., 2013; Lee and Schatz, 2009; Lee et al., 2012). Ces données ont déjà été employées dans l'équipe (Ruan et al., 2017).

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

La prise en considération de la polarisabilité est toujours un atout pour toute étude de ce type. Cependant, elle induit un coût en calcul important. Dans le cadre de ce projet, nous avons choisi de ne pas considérer l'effet de la polarisabilité. En effet, il a été démontré pour une « gold binding protein » (Braun et al., 2002) que l'effet de polarisation n'était pas primordial et que son absence n'induisait pas de différence structurale à l'interface métallique de la surface d'or.

Une de nos interrogations était relative à la charge atomique partielle des atomes d'or. Dans la littérature, pour les calculs sur des surfaces de ce type d'atome, les charges atomiques partielles sont nulles. Cette vision est éloignée de la réalité car la création d'une surface d'or conduit à la coupure de liaison par rapport au « bulk ». Couper des liaisons engendre ainsi une anisotropie qu'il est nécessaire de matérialiser pour rendre compte de la réalité. Nous avons réalisé des calculs de charges partielles afin d'opérer une redistribution de celles-ci sur la surface concernée, en utilisant le modèle de Bader (Bader, 1985), dont une description est réalisée dans le chapitre 1 de ce manuscrit.

Dans le cadre de l'étude de notre système d'or, nous obtenons à partir des calculs, la répartition de charges présentée dans la figure 5.

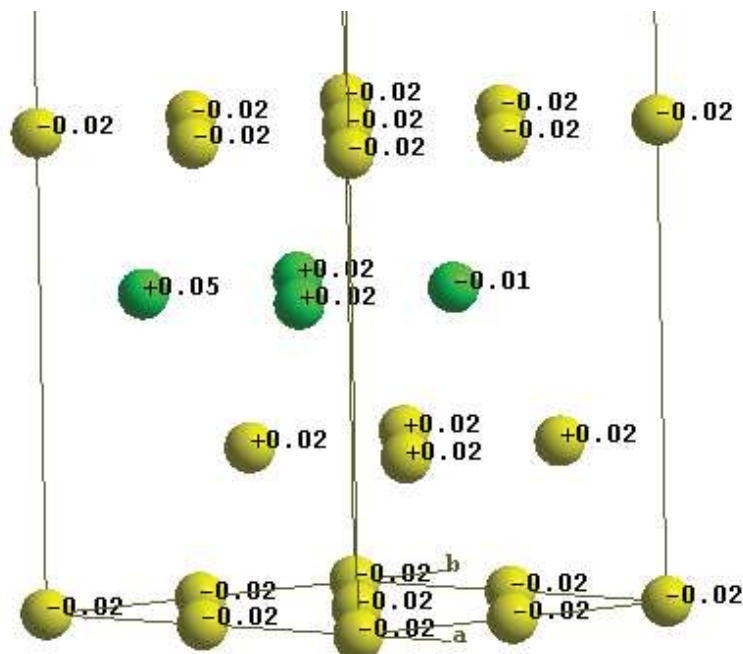
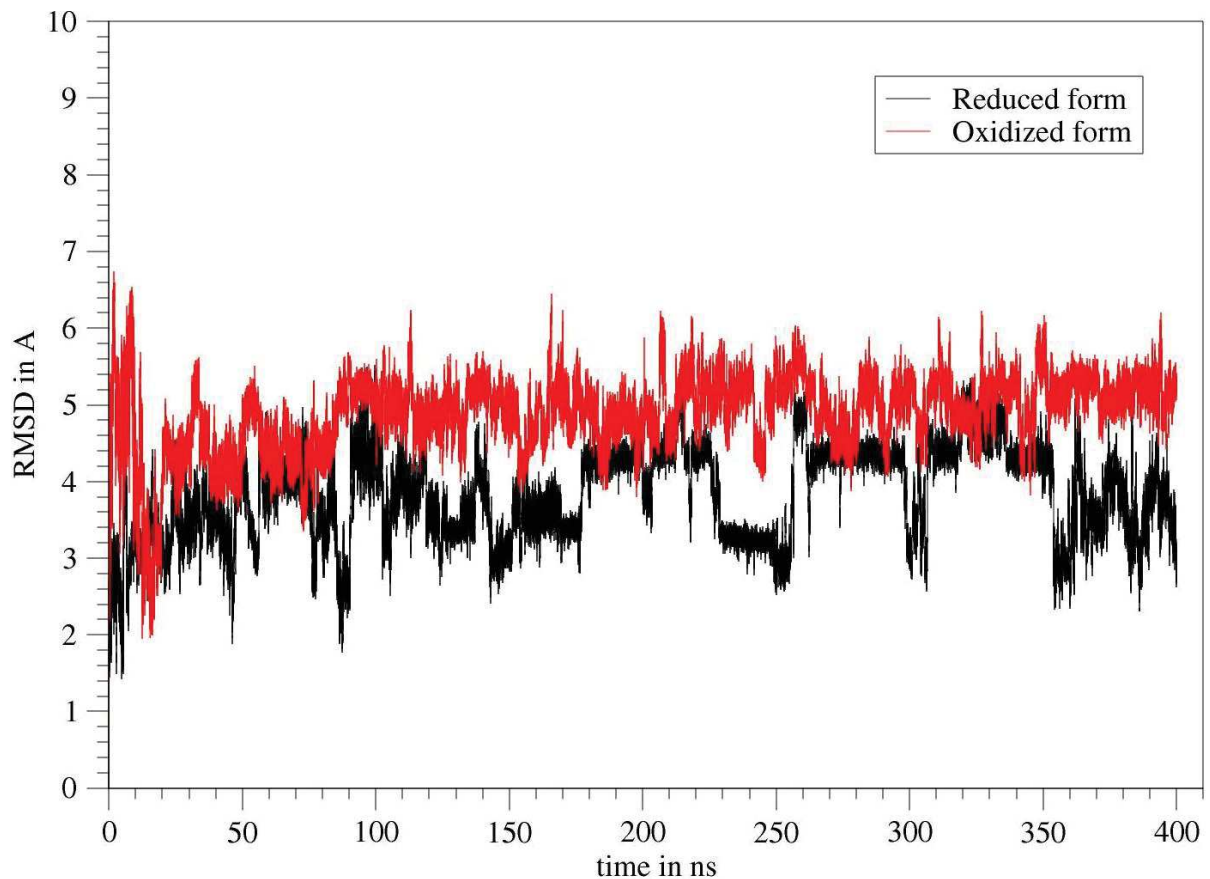


Figure 5 - Répartition des charges obtenue, sur les 4 couches d'or, à partir du modèle de Bader

A notre connaissance notre approche est originale car la littérature montre que la prise en compte des surfaces d'or se fait, lorsque le champ de force utilisé n'inclut pas de terme de polarisabilité, avec des charges partielles nulles sur les atomes d'or. En effet, les études de dynamique moléculaire dans ce domaine, par exemple (Kubiak-Ossowska et al., 2014; Lee et al., 2012; Utesch et al., 2013), utilisent un modèle où chaque atome d'or présente une charge atomique partielle nulle ce qui, mathématiquement, efface toute interaction électrostatique et fait intervenir uniquement le potentiel de van der Waals pour décrire l'interaction avec la surface métallique.

### 3.2. Etude dynamique

Le peptide d'accroche (DOPA)-K-(DOPA)-K-(DOPA) a ensuite été étudié grâce à la dynamique moléculaire afin d'observer le processus d'adsorption du système. Nous nous intéressons ici à la partie d'accroche sous ses deux formes, quinone et catéchol, en interaction avec Au(111). Une dynamique de 400 ns est réalisée et une analyse du RMSD est proposée dans la figure 6. Le peptide d'accroche est positionné à une distance initiale de quelques dizaines d'Angströms de la surface d'or.



**Figure 6 - Analyse RMSD de la séquence d'accroche sous ses formes oxydée et réduite. La séquence d'accroche est en interaction avec Au(111)**

Le RMSD est ici établi en fonction de la position initiale de la séquence d'accroche et les mouvements de rotation ainsi que de translation sont annulés lors du calcul. En raison des mouvements internes du système, cette analyse RMSD est relativement peu informative, car elle témoigne des mouvements internes du système et ne différencie pas proprement ces mouvements du déplacement de la protéine sur la surface.

Afin de mieux décrire ce processus, nous proposons de mesurer la « Surface Separation Distance » (SSD) en fonction du temps. Cette autre métrique est fréquemment utilisée, dans la littérature, pour décrire les phénomènes d'adsorption de protéines sur les surfaces. (Abramyan et al., 2015; Levine et al., 2016; Notman and Walsh, 2009; Snyder et al., 2012; Sun et al., 2007; Wang et al., 2008; Wright et al., 2015; Xie et al., 2012; Xu et al., 2008)

Ici la SSD se définit comme la distance entre la surface et le centre de gravité des atomes  $C_{\alpha}$  du squelette peptidique. Autrement dit la distance normale entre le centre de gravité des atomes  $C_{\alpha}$  et la surface. La figure 7 illustre la SSD.

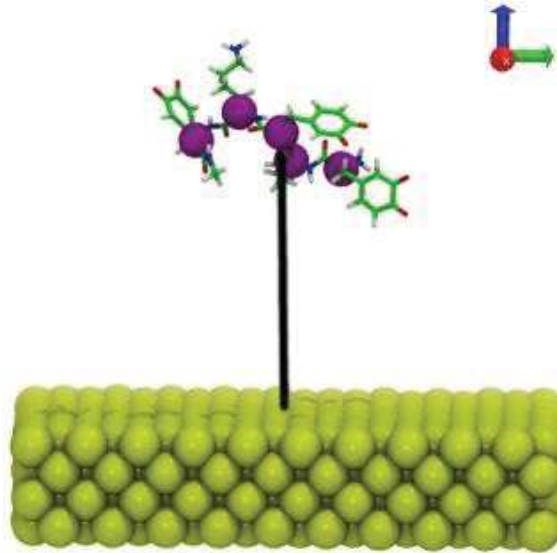


Figure 7 - Définition du SSD correspondant ici à la distance entre la surface d'or et le centre de gravité des atomes  $C_{\alpha}$  du squelette peptidique

Le tracé de la SSD en fonction du temps, pour les formes oxydée et réduite de la partie d'accroche, est donné dans la figure 8.

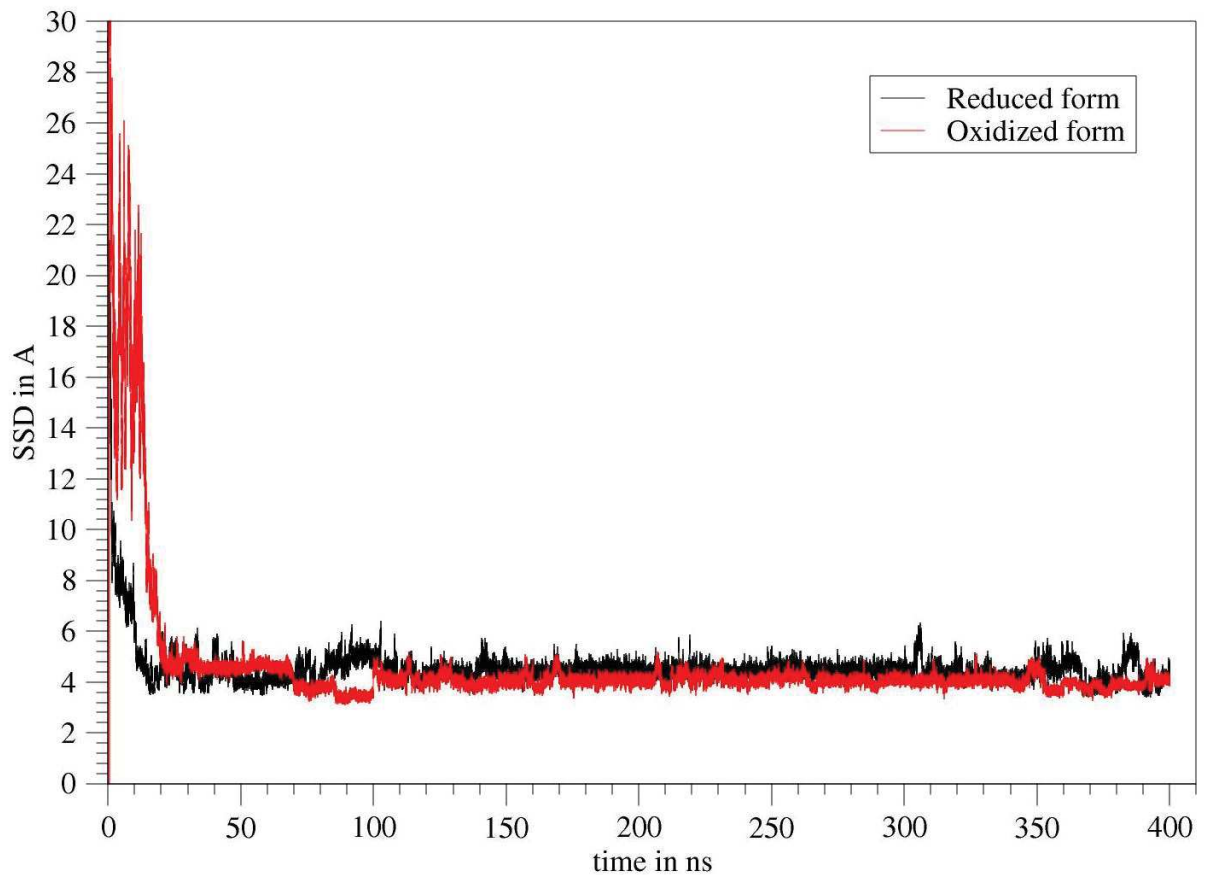


Figure 8 - SSD pour les formes oxydée et réduite de la séquence d'accroche en interaction avec Au(111)



## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

Pour les deux formes, la SSD montre l'atteinte d'un plateau relativement rapidement (après environ une vingtaine de ns de dynamique) marquant le point où le système d'accroche entame son adsorption sur la surface d'or. Ce plateau est ensuite maintenu tout au long de la dynamique indiquant une adsorption favorable et stable.

Différentes images issues de la dynamique moléculaire de la séquence d'accroche (forme quinone) sont données. La figure 9 montre le début de la dynamique.

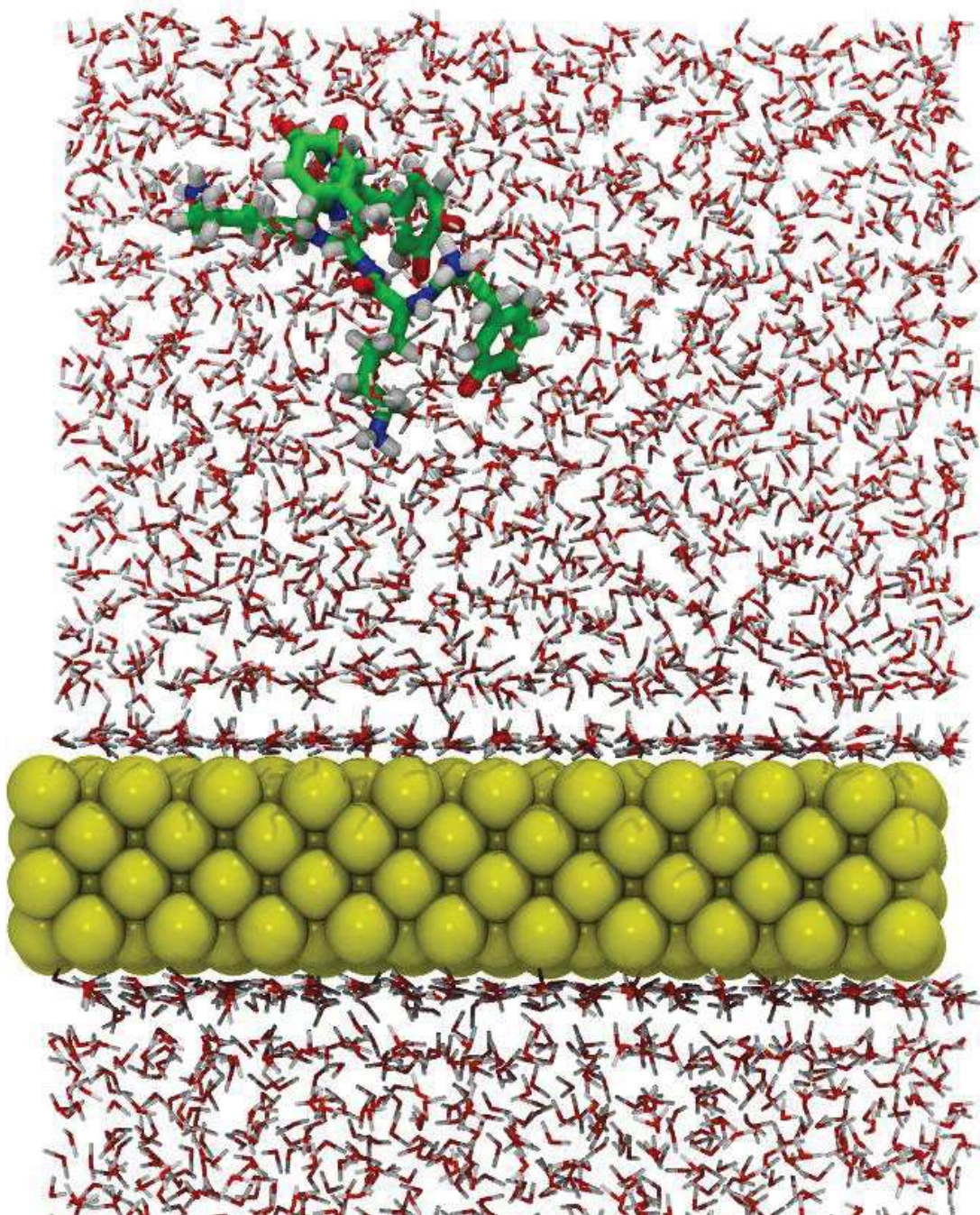


Figure 9 - Début de la dynamique de la partie d'accroche (forme quinone) et de la surface d'or

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

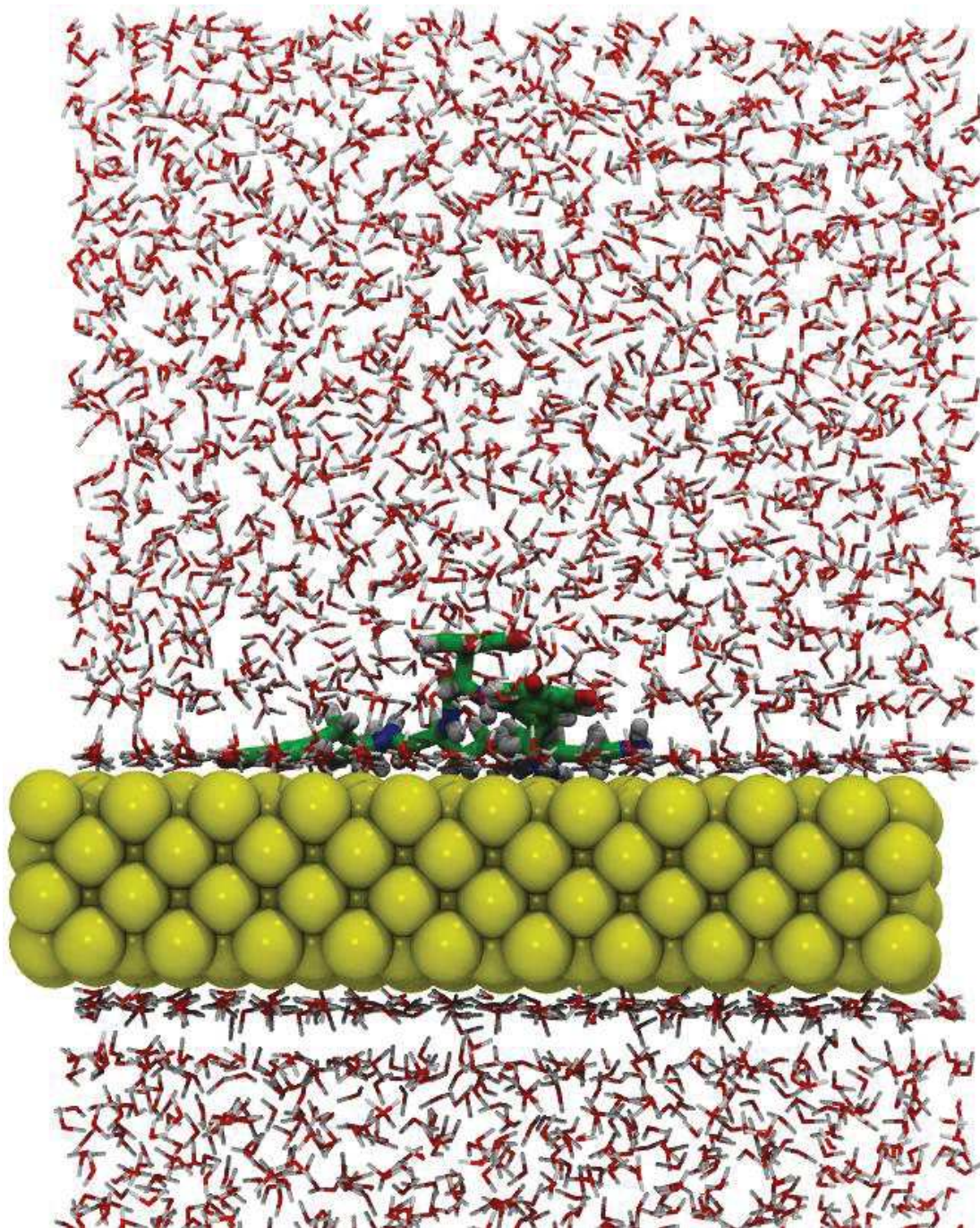
Dans cette phase, nous constatons ainsi que le système se trouve relativement éloigné de la surface.

L'adsorption s'entame ensuite avec l'interaction entre la séquence d'accroche et une surface d'eau structurée. Cette organisation de l'eau au-dessus d'une surface est un phénomène décrit dans la littérature. (Di Felice and Corni, 2011; Notman and Walsh, 2009; Wright et al., 2015) On parle de « couche de glace » dans laquelle l'eau est reconnue pour se structurer spécifiquement. Il a été montré que cette structuration guide et influence les phénomènes d'adsorption sur des surfaces telles que l'or, notamment par l'étude d'un complexe composé de « gold binding protein » et d'une surface d'or. (Kim et al., 2001)

Tout l'enjeu de l'adsorption réside dans la capacité de l'adsorbat à briser cette structuration afin d'entrer en interaction avec la surface sous-jacente. Cette perte de structuration amène en effet un gain entropique qui viendra apporter de la stabilité au système. Ce phénomène est défini comme très important pour l'étude de l'adsorption sur des surfaces. (Di Felice and Corni, 2011; Notman and Walsh, 2009; Skelton et al., 2011; Wright et al., 2015)

Après 400 ns de dynamique nous constatons que la séquence d'accroche est entièrement adsorbée sur la surface en s'étalant sur cette dernière (cf. figure 10).





**Figure 10 - Fin de la dynamique de la séquence d'accroche (forme quinone) en interaction avec la surface d'or**

La description des différentes étapes d'adsorption de la forme catéchol sur Au(111) est identique à celle de la forme quinone.

Ce résultat est en accord avec l'expérience puisqu'il signifie que l'adsorption des deux formes est favorable sur une surface inorganique tel que l'or. La littérature distingue cependant une adsorption plus favorable de la forme catéchol sur les surfaces inorganiques.

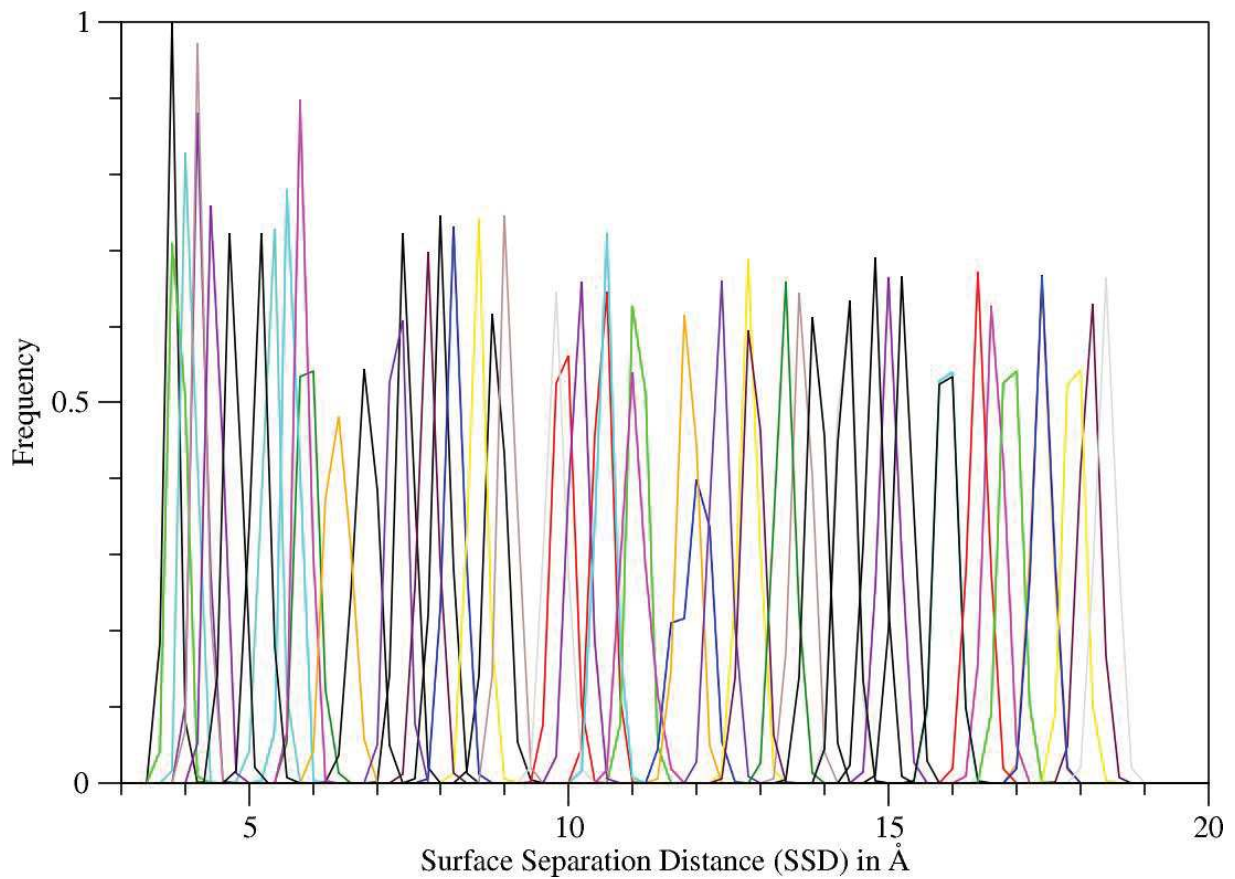
Au niveau structural, il n'est pas possible de différencier les deux formes. Nous proposons ainsi, afin de différencier les deux formes, une étude du point de vue énergétique.

### 3.3. Etude énergétique

Nous réalisons une investigation du point de vue énergétique grâce à des calculs d'Umbrella Sampling. Pour ceux-ci, la SSD est employée comme coordonnée de réaction. Sur un déplacement de 15 Å, 50 dynamiques de 40 ns biaisées sont réalisées dans des conditions où la contrainte n'est appliquée que sur la SSD (le peptide est libre de translater). Dans ces simulations nous nous sommes intéressés au processus de désorption plutôt qu'à celui d'adsorption. La raison de ce choix est que l'état adsorbé provient de l'exploration de dynamique moléculaire après 400 ns alors que l'état désorbé est artificiellement créé en plaçant arbitrairement le peptide au-dessus de la surface. Partir d'un point de départ, pour ce type de simulation, d'une structure déjà raffinée par les 400 ns de trajectoire nous est apparu plus opportun.

En observant les fréquences de distributions, pour chaque simulation, des différentes valeurs de SSD lors des différentes fenêtres (cf. figure 11) nous constatons que chaque distribution se recoupe. Ce recoupement nous prouve que l'espace conformationnel est exhaustivement exploré et nous autorise à extraire le potentiel de force moyen (en anglais le « Potential of Mean Force » (PMF)) à l'aide du logiciel WHAM (Kumar et al., 1992).

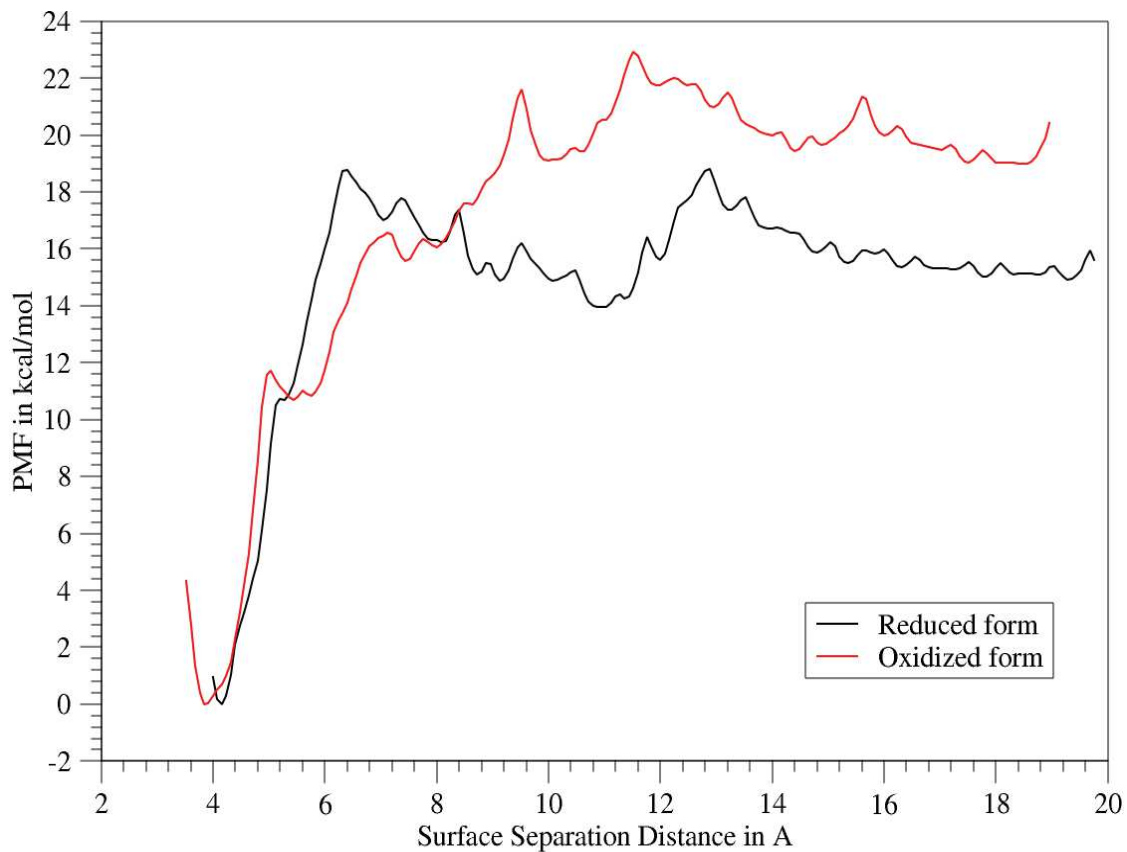
La qualité de l'échantillonnage final a été vérifiée par l'analyse de la superposition des distributions des fenêtres adjacentes (cf. figure 11)



**Figure 11 - Superposition des distributions des fenêtres adjacentes**

Après analyse à l'aide du logiciel WHAM (Kumar et al., 1992), nous obtenons la SSD en fonction du PMF, donné en figure 12.





**Figure 12 - PMF en fonction de la SSD obtenu à partir de l'étude Umbrella Sampling pour les formes oxydées et réduites de la séquence d'accroche en interaction sur Au(111).  $\Delta G_{ads}$  est l'inverse de la désorption.**

L'énergie libre d'adsorption  $\Delta G_{oxy}$  est déterminée à  $-19,0$  kcal/mol pour le cas de la quinone et l'énergie libre d'adsorption  $\Delta G_{red}$  à  $-15,3$  kcal/mol pour le catéchol. Ces deux valeurs sont négatives ce qui montre le processus thermodynamiquement favorable de l'interaction et est conforme aux résultats expérimentaux pour les deux systèmes étudiés. Les valeurs d'énergies déterminées sont dans l'ordre d'idée de ce que l'on peut trouver dans la littérature. En effet, à notre connaissance, seules deux études ont traité de la détermination d'énergies libres pour une association avec une surface Au(111), toutes deux ont été obtenues par la méthode Umbrella Sampling. Une s'intéresse à AuBP1 tandis que la seconde s'intéresse à l'adsorption des 20 acides aminés. Les énergies libres enregistrées sont de  $-12,4$  kcal/mol (Wang et al., 2008) pour AuBP1 et chacun des 20 acides aminés présente des valeurs comprises entre  $-4,2$  kcal/mol (acide glutamique) et  $-10,2$  kcal/mol (tyrosine). (Hoefling et al., 2010)

Les mesures expérimentales que nous possédons montrent une différence d'adsorption entre catéchol et quinone mais ne peuvent pas directement être traduites en énergie. Nous

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

pensons que les valeurs obtenues dans notre cas pour les énergies libres d'adsorption sont dans une gamme de valeurs attendues.

Ces valeurs impliquent donc ici une adsorption légèrement plus favorable de la forme quinone par rapport à la forme catéchol ce qui est contradictoire avec la littérature. La forme réduite possède un caractère de donneur de liaison hydrogène, contrairement à la forme oxydée, et implique des interactions électrostatiques plus fortes. Il est ainsi plus difficile de désolvater la forme catéchol au cours du processus de la dynamique, que la forme quinone, ce qui résulte par une adsorption sur la surface plus favorable lorsque la séquence d'accroche est sous sa forme quinone.

Pour aller plus loin dans nos investigations, nous avons réalisé une analyse des mouvements dans les plans au-dessus de la surface. Durant la simulation Umbrella Sampling, 2  $\mu$ s d'exploration conformationnelle sont disponibles pour chacune des deux formes du système, qui opèrent alors, des mouvements de translation et de rotation. La contrainte imposée par chaque fenêtre ne s'appliquant uniquement que sur la SSD, il est possible d'analyser ces mouvements pour chaque fenêtre. Des cartographies 2D ont été calculées à partir de ces trajectoires de dynamique en utilisant les coordonnées arbitraires, x et y. L'énergie libre est calculée grâce à l'équation (1) :

$$\Delta G(x, y) = -k_B T \cdot \ln \left[ \frac{P(\rho(x, y))}{P_{max}(\rho(x, y))} \right] \quad (1)$$

Dans cette équation,  $k_B$  et T sont les constantes de Boltzmann et la température (300K) de la simulation.  $P(\rho)$  est la probabilité de densité des coordonnées de réactions définis par x et y.  $P_{max}(\rho)$  est la probabilité la plus importante. Pour faire cette analyse nous avons utilisé le logiciel map\_DG.pl (Ruan et al., 2017).

Les résultats ont été analysés en établissant une cartographie d'énergie libre pour la SSD, avec à chaque fois des portions, de 2 Å de longueur, considérées. Comme la SSD évolue de 4 à 20 Å, 8 cartographies d'énergie libre sont reportées dans les figures 13 à 20 avec à chaque fois la considération des deux formes, oxydée et réduite, de la séquence d'accroche.

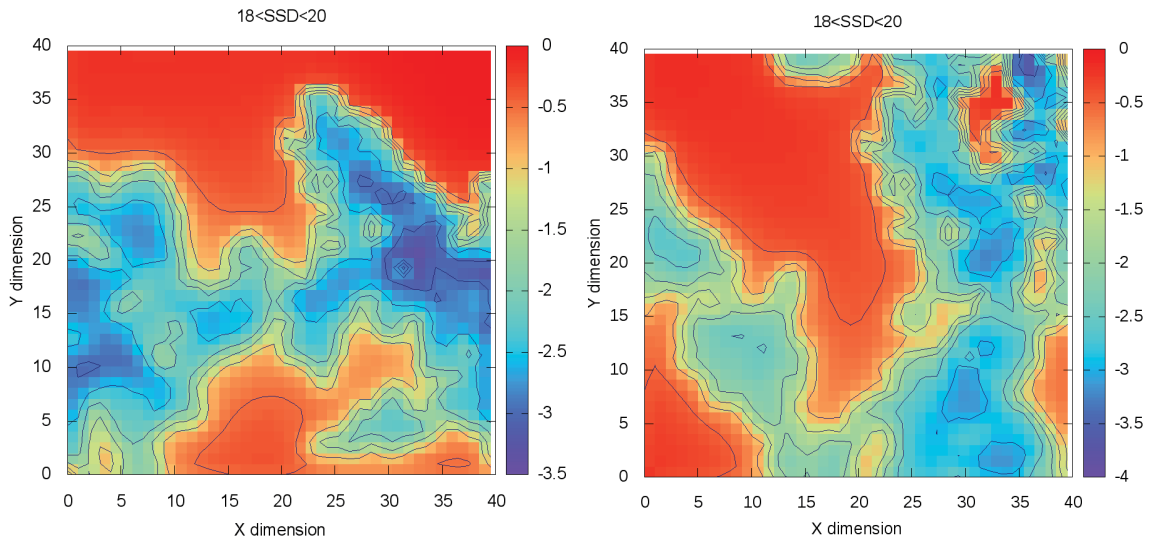


Figure 13 - Cartographie forme catéchol (à gauche) et forme quinone (à droite) pour une SSD compris entre 18 et 20 Å

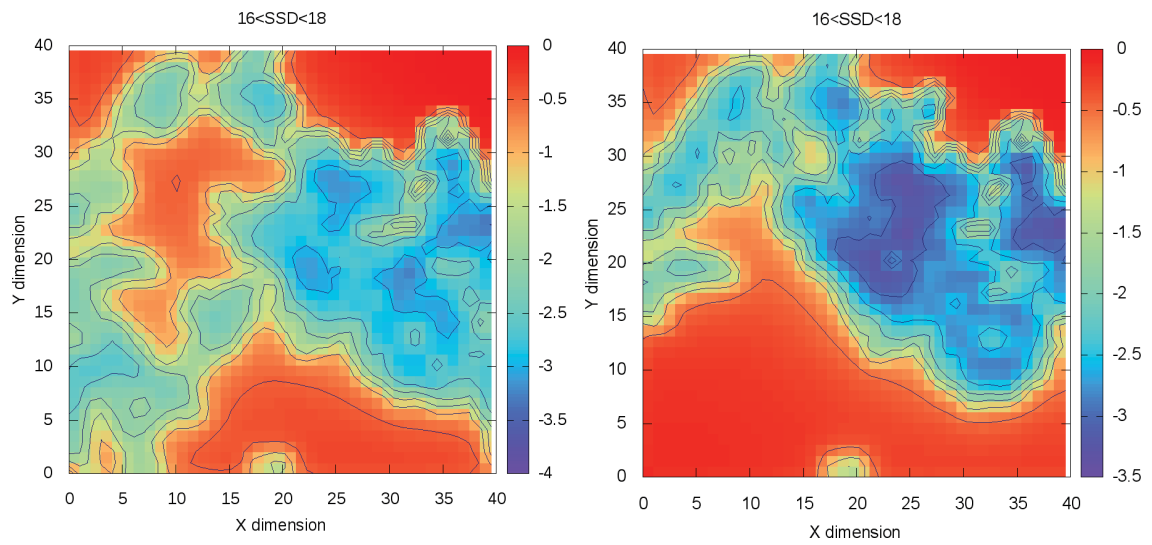


Figure 14 - Cartographie forme catéchol (à gauche) et forme quinone (à droite) pour une SSD comprise entre 16 et 18 Å

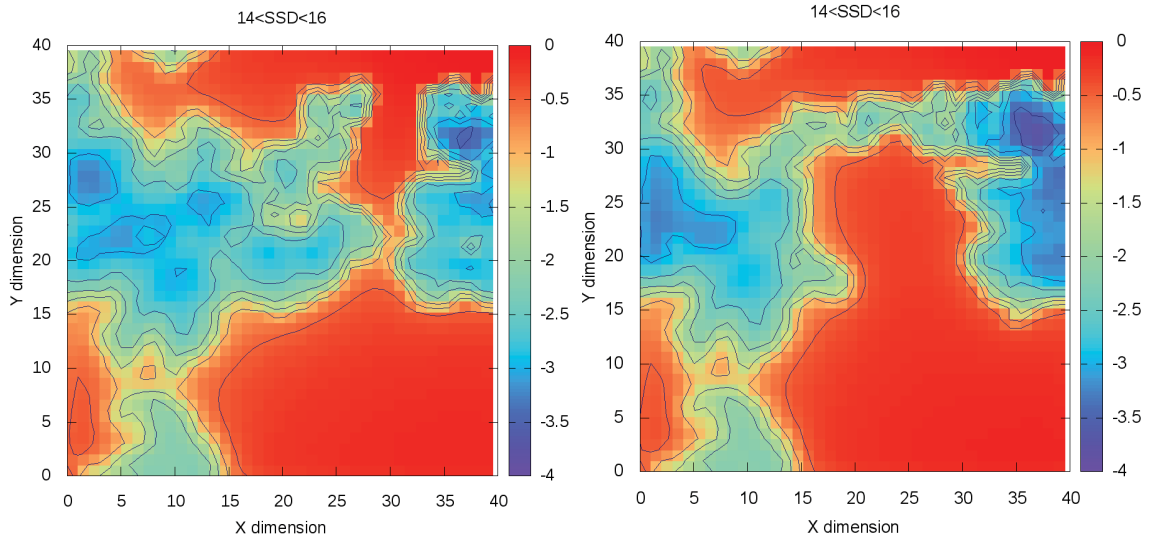


Figure 15 - Cartographie forme catéchol (à gauche) et forme quinone (à droite) pour une SSD comprise entre 14 et 16 Å

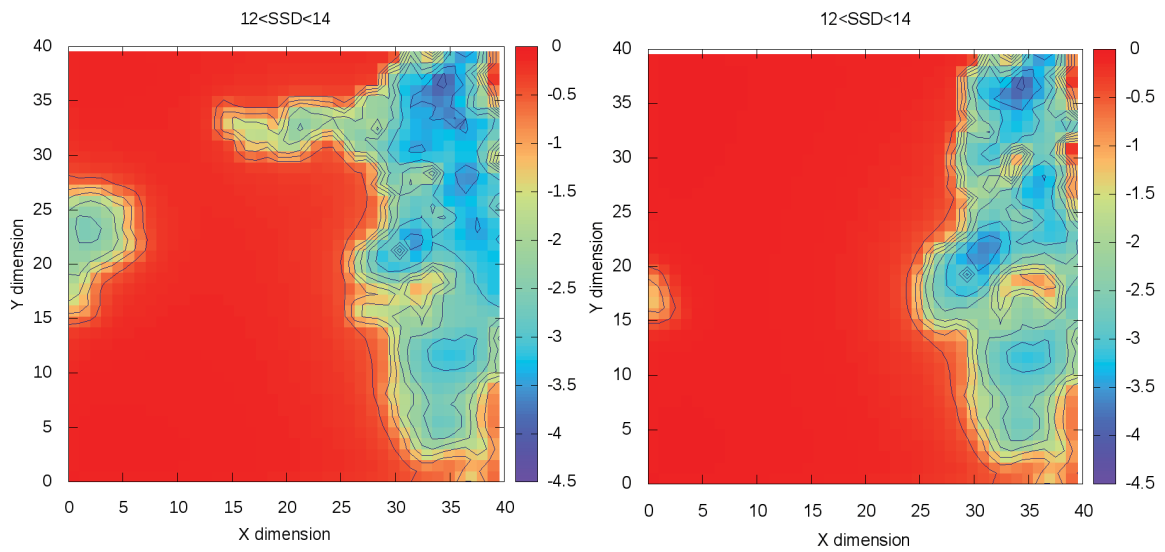


Figure 16 - Cartographie forme catéchol (à gauche) et forme quinone (à droite) pour une SSD comprise entre 12 et 14 Å

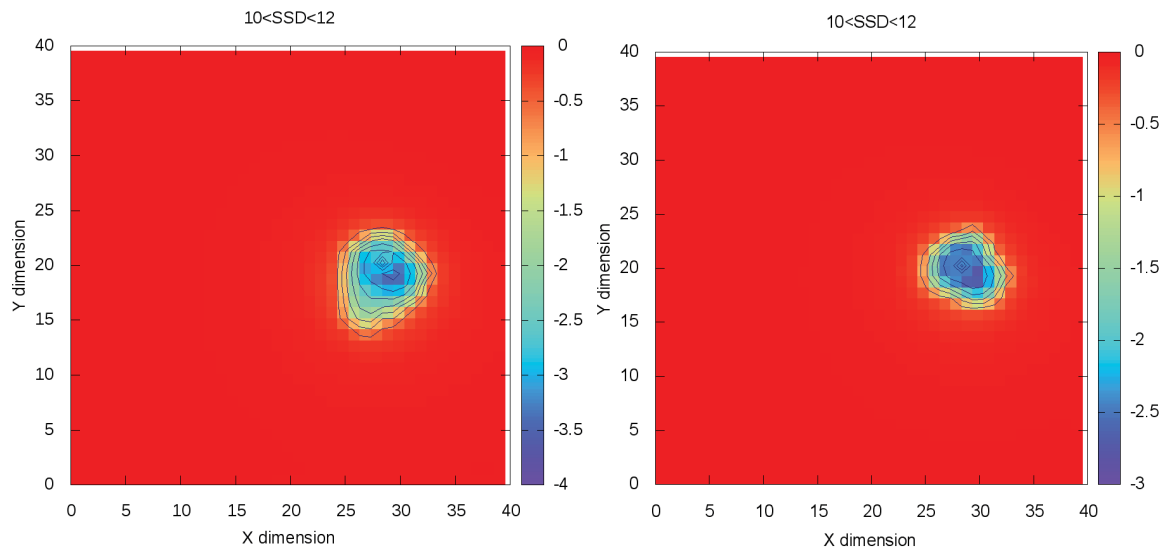


Figure 17 - Cartographie forme catéchol (à gauche) et forme quinone (à droite) pour une SSD comprise entre 10 et 12 Å

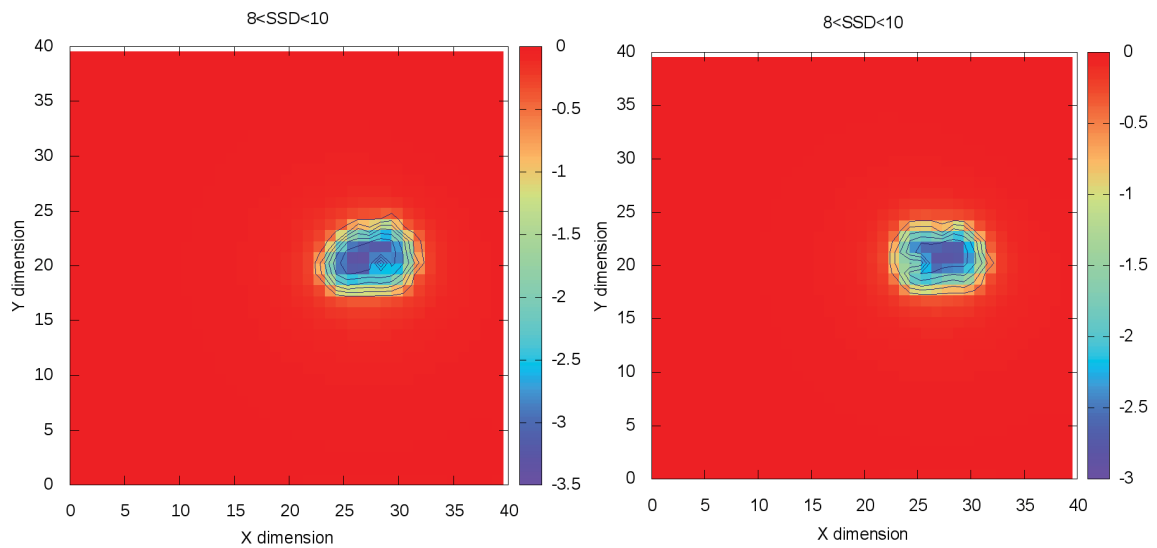


Figure 18 - Cartographie forme catéchol (à gauche) et forme quinone (à droite) pour une SSD comprise entre 8 et 10 Å



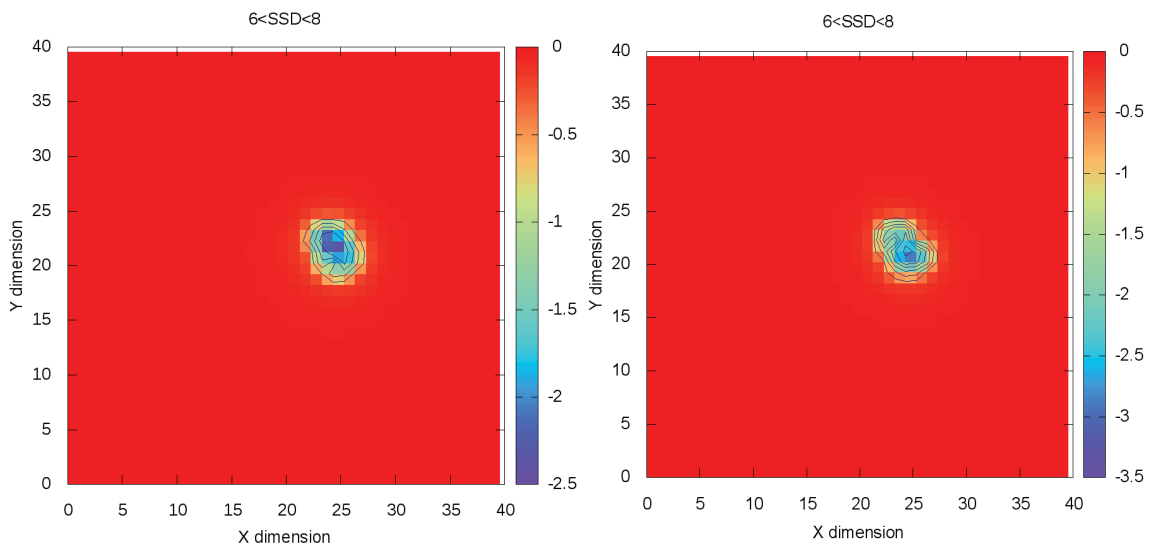


Figure 19 - Cartographie forme catéchol (à gauche) et forme quinone (à droite) pour une SSD comprise entre 6 et 8 Å

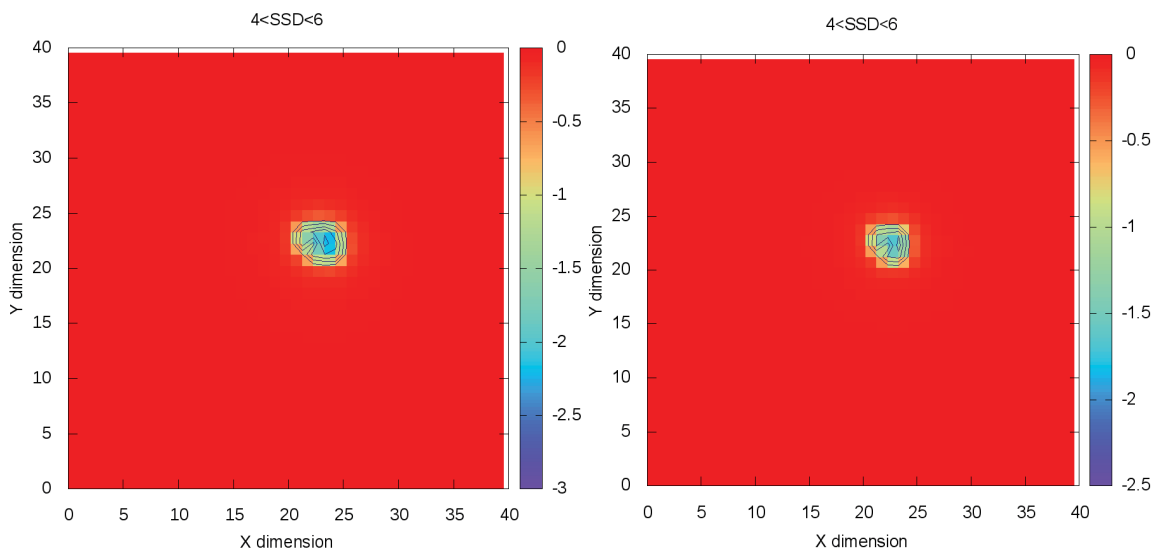


Figure 20 - Cartographie forme catéchol (à gauche) et forme quinone (à droite) pour une SSD comprise entre 4 et 6 Å

Dans les deux états d'oxydation, et l'espace entre 18 et 20 Å, un espace conformationnel relativement large est présenté, indiquant que le peptide évolue librement à haute distance de la surface. Au contraire, à une SSD comprise entre 4 et 6 Å, l'espace conformationnel est autant restreint montrant cette fois que dans cet espace, le peptide est grandement immobilisé et ne peut se déplacer que faiblement. Des conclusions similaires émergent de l'état réduit. La partie la plus intéressante réside dans l'étude l'énergie libre dans la fenêtre de 12 à 14 Å. En effet, pour l'état oxydé, la variation d'énergie libre est uniquement située sur l'axe Y. Cette observation marque la présence d'un premier point d'ancrage de la

séquence d'accroche sur la surface qui vient ainsi limiter le mouvement du système sur la surface. En comparant avec la forme réduite, plus libre, nous pouvons conclure que l'état oxydé est adsorbé plus tôt au cours du processus traduisant ainsi la meilleure affinité pour la forme quinone déjà observée avec l'étude par umbrella sampling.

L'ensemble de ces résultats montrent ainsi conjointement une adsorption plus favorable pour la forme quinone que pour la forme catéchol, ce qui est quelque peu contradictoire avec la littérature.

Nous nuancions ainsi ces résultats. En effet, à notre connaissance, les études discriminant le processus d'adsorption entre forme oxydée et forme réduite pour L-DOPA n'ont été réalisées que sur un seul type de surface pour chacune des catégories, organique et inorganique, à savoir sur du titane et sur du PEG. (Krogsgaard et al., 2016; Lee et al., 2006) La conclusion générale de ces études a ainsi été extrapolée pour indiquer que l'état oxydé (quinone) de la dopamine adsorbe mieux sur une surface organique tandis que l'état réduit (catéchol) adsorbe mieux sur une surface inorganique.

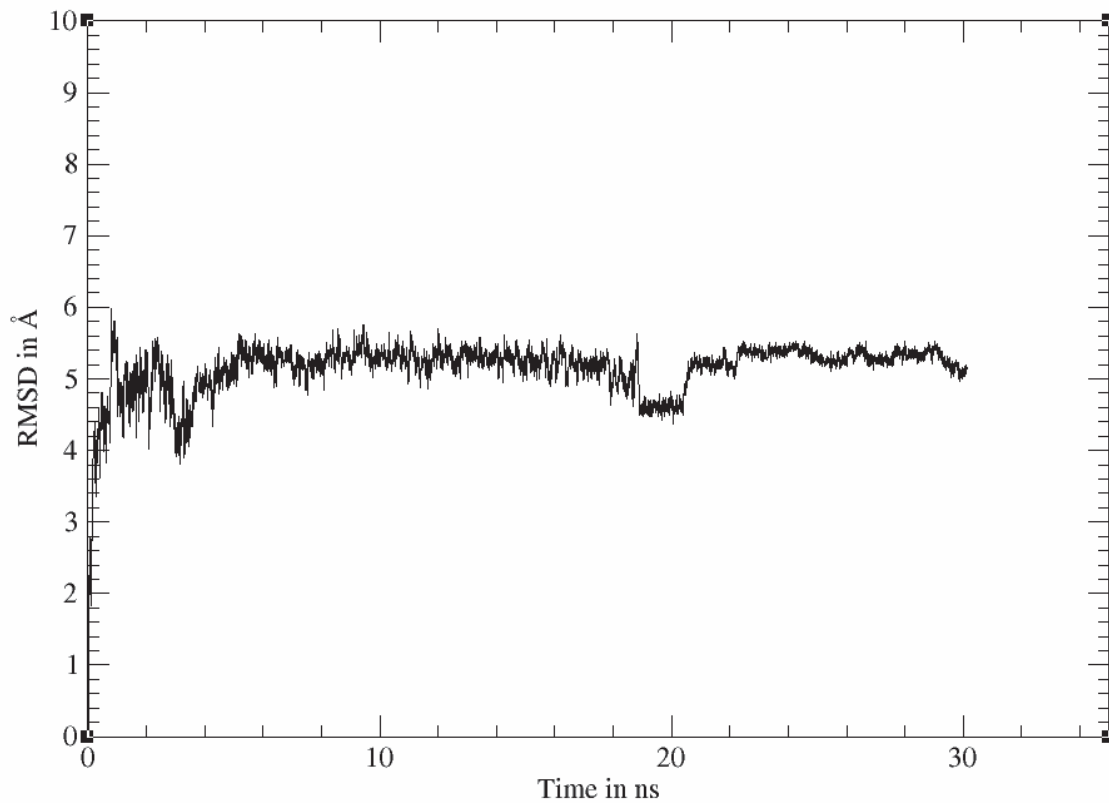
Nous affirmons effectivement que les deux formes s'adsorbent sur les deux types de surfaces mais qu'il faudrait l'étude de davantage de types de surfaces afin d'extrapoler plus largement l'affinité respective de chacune des deux formes.

### 3.4. Simplification du système

L'utilisation des 4 couches d'or de notre surface représente un coût important de temps de calculs. Nous avons ainsi réitéré notre expérience, en prenant comme support la forme catéchol de la séquence d'accroche, et en utilisant un modèle simplifié de notre surface d'or ne comportant que 2 couches. Nous conservons l'utilisation de notre modèle d'or affiné. Nous avons choisi le système catéchol car c'est celui qui marque une plus faible adhésion et donc qui, potentiellement, nécessite une représentation la plus précise du système.

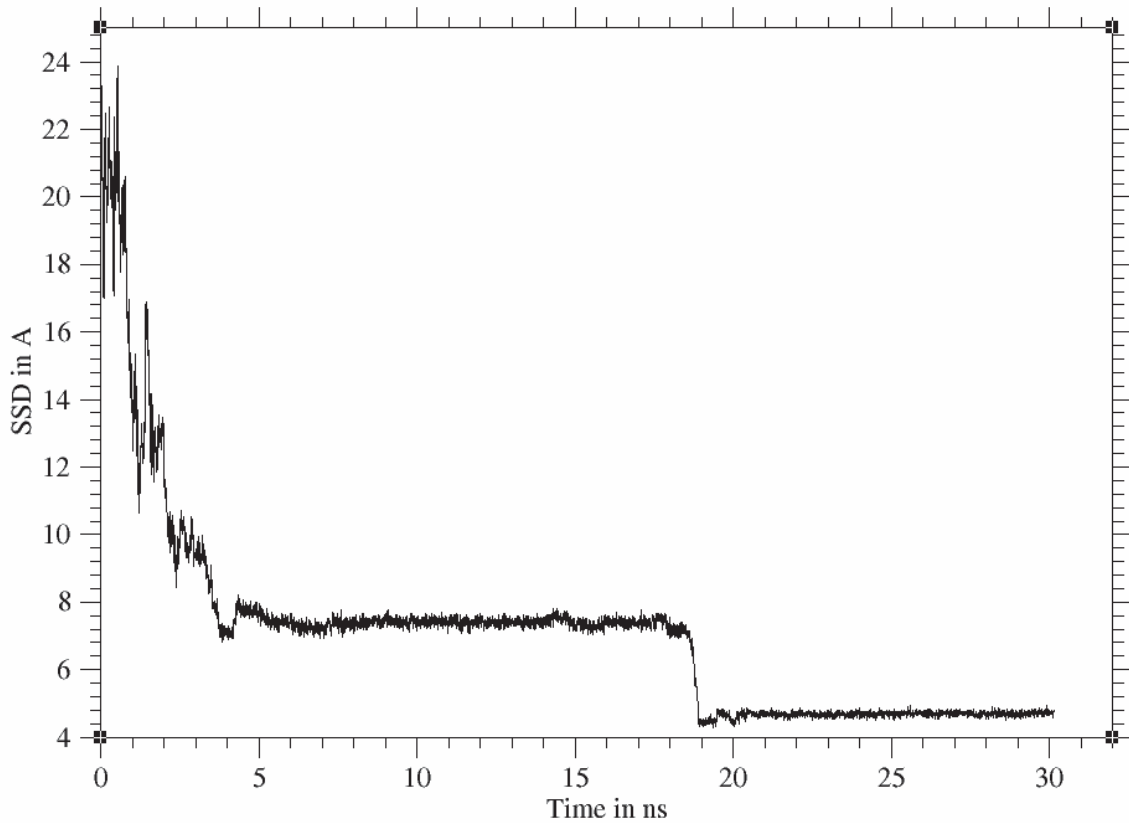
Nous avons réalisé des trajectoires de 30 ns dans l'ensemble NVT. Une dizaine de répliques de dynamique ont été lancées avec des vitesses initiales aléatoires pour augmenter l'exploration conformationnelle (Leach, 2001). Le RMSD des différentes simulations est analysé. Les figures suivantes reportent, pour des raisons de clarté, une seule de ces simulations. Dans cette analyse RMSD, nous constatons l'atteinte d'un plateau pour l'ensemble de nos simulations. Ce passage est marqué par un saut, puis un second plateau est ensuite atteint. Ils indiquent respectivement l'adsorption et l'équilibration sur la couche

d'eau structurée puis sur la surface d'or. Un exemple de ces RMSD est présenté dans la figure 21.



**Figure 21 - RMSD du peptide d'accroche (forme catéchol). Le peptide est adsorbé sur un système d'or à deux couches d'or**

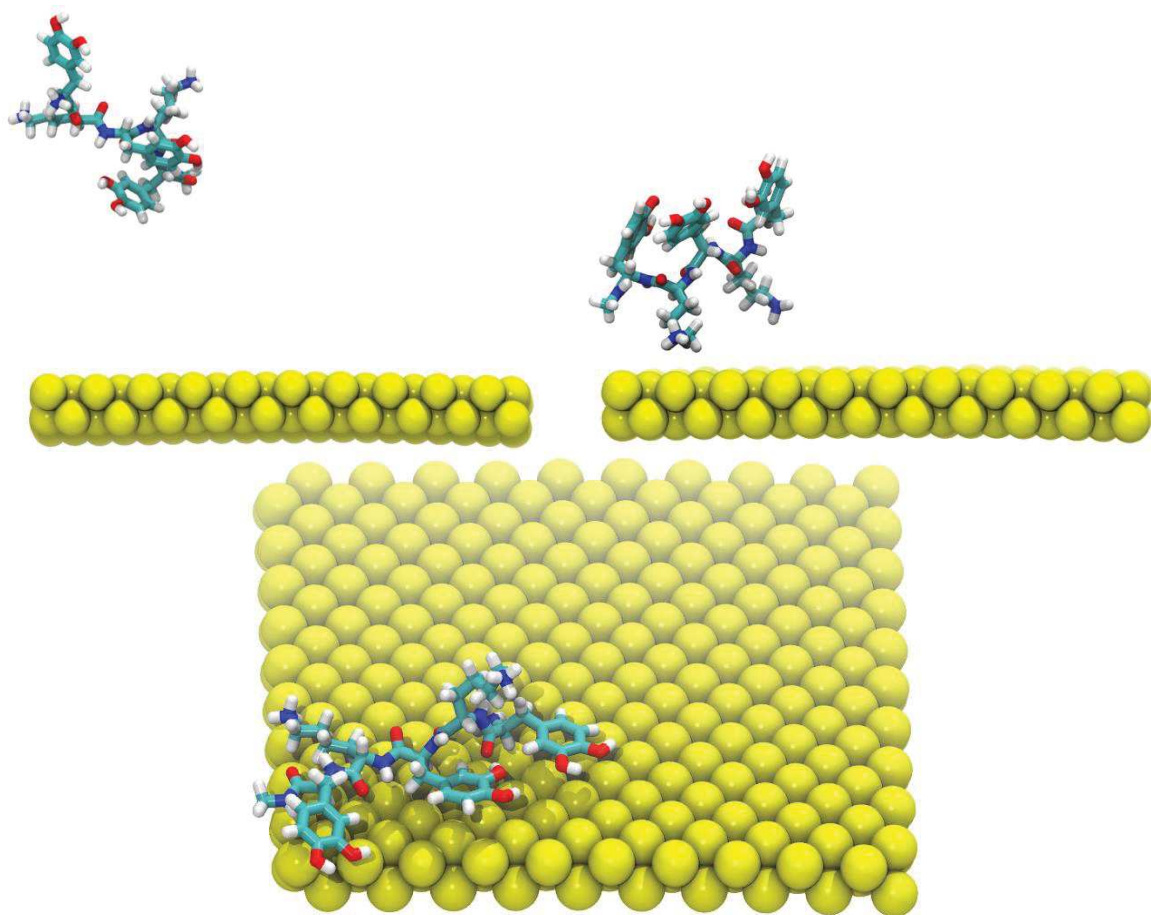
Afin de compléter cette analyse, nous proposons également l'étude de la SSD en fonction du temps. (cf. figure 22)



**Figure 22 - SSD de la partie d'accroche (forme catéchol) adsorbée sur deux couches l'or**

Tout comme sur le RMSD, nous observons distinctement l'atteinte des deux plateaux, le premier étant attribué à l'adsorption sur la couche d'eau structurée puis le second à l'adsorption sur la surface d'or.

Nous pouvons également observer la dynamique complète du système. La figure 23 illustre le processus d'adsorption que l'on peut observer sur les 10 répliques.



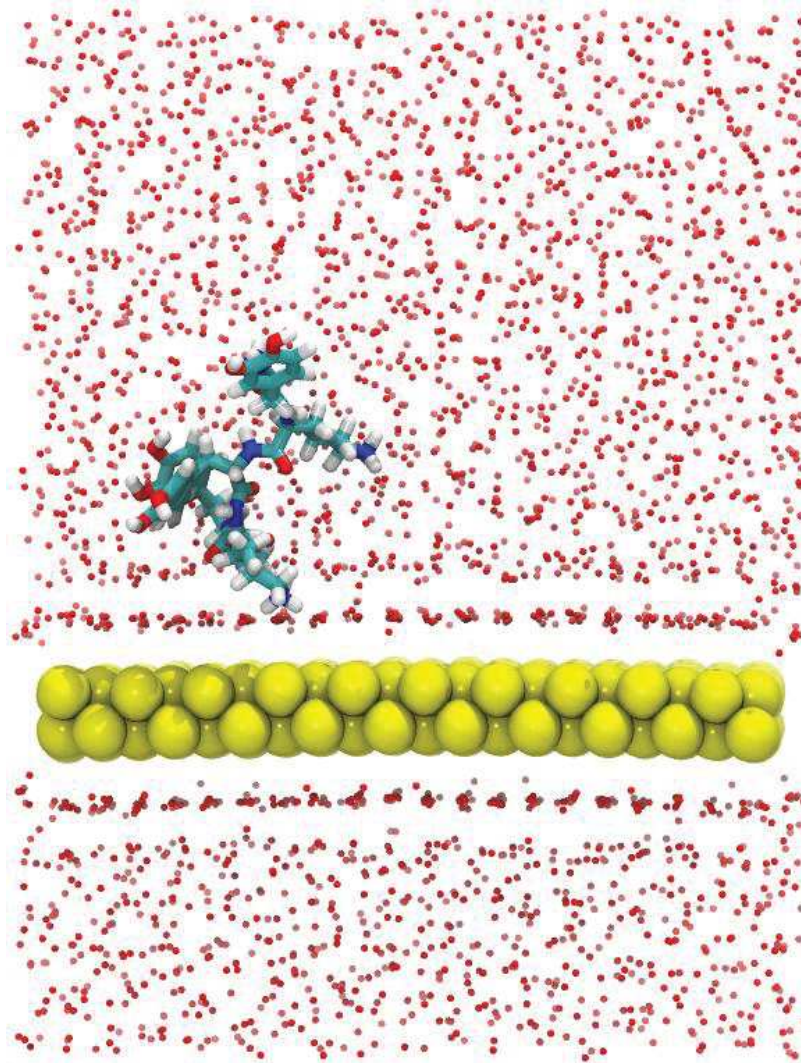
**Figure 23 - Dynamique moléculaire de la partie d'accroche (forme catéchol) sur une surface d'or. Début de la dynamique (en haut à gauche), premier point d'ancrage (en haut à droite) et fin de la dynamique (en bas)**

L'analyse de plusieurs structures/conformations issues de la visualisation des trajectoires montre tout d'abord un début de simulation où la séquence d'accroche n'est pas adsorbée sur la surface d'or.

Puis progressivement la séquence d'accroche diffuse et se rapproche de la surface jusqu'à un premier point d'ancrage situé, par exemple, sur une lysine de la séquence.

Enfin après à peine une soixantaine de nanosecondes de MD, nous constatons que la séquence d'accroche tombe entièrement sur la surface après diffusion au travers de la couche d'eau structurée. Les fonctions catéchols se positionnent parallèlement à la surface d'or impliquant ainsi un effet de stacking avec la surface.

La partie d'accroche réalise un premier point d'ancrage correspondant à une adsorption sur la surface d'eau structurée. Celle-ci se brise ensuite et le système vient s'adsorber sur la surface d'or (figure 24). Pour rappel, ce phénomène stabilisant est directement lié à un gain d'entropie comme explicité précédemment.



**Figure 24 - Dynamique moléculaire de la partie d'accroche (forme catéchol) sur une surface d'or. Mise en évidence d'une couche d'eau structurée par adsorption sur la surface**

Cette analyse démontre encore la forte attirance de la séquence d'accroche pour la surface d'or.

Nous obtenons ainsi des résultats similaires à ceux observés pour le modèle à 4 couches d'or d'un point de vue géométrique, ce qui ferait de notre modèle à 2 couches, un intermédiaire vraisemblablement suffisant et permettant d'engendrer un coût en calcul amoindris.

#### **4. Système tribloc en solution**

Nous nous sommes intéressés à l'adsorption du système tribloc sur notre surface d'or (modèle comportant la redistribution de charge), avec la forme catéchol de la séquence d'accroche présente dans notre peptide.

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

Le but ici est de discriminer le système tribloc lorsqu'il est composé de la séquence d'accroche sous forme catéchol ou bien sous forme quinone. Pour rappel, nous avons vu précédemment que la forme réduite possédait un caractère de donneur de liaison hydrogène, contrairement à la forme oxydée, et impliquait des interactions électrostatiques plus fortes. Nous avons alors conclu qu'il est plus difficile de désolvater la forme catéchol au cours du processus de la dynamique, que la forme quinone, ce qui résulte par une adsorption sur la surface plus favorable lorsque la séquence d'accroche est sous sa forme quinone.

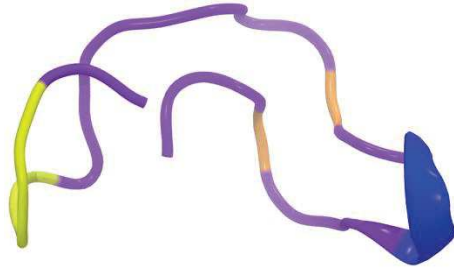
Pour commencer nous avons construit notre système tribloc. La construction de la cateslytine présente la première difficulté car, bien que nous ayons sa séquence, nous ne connaissons pas sa structure 3D. Nous avons ainsi utilisé le logiciel i-tasser grâce auquel nous avons pu établir une homologie de séquence à partir de la séquence de la catestatine. Nous avons ainsi obtenu une homologie avec la séquence de la catestatine humaine dont provient la cateslytine comme je l'ai présentée dans le chapitre 2. (Preece et al., 2004) l'homologie des deux séquences est donnée dans la figure 25.

```
cateslytin      1 RSMRLSFRARGYGFR----- 15
                  .||:|||||.||||
catestatin     1 SSMKLSFRARAYGFRGPGPQL 21
```

Figure 25 - Homologie de séquence entre la cateslytine et la catestatine

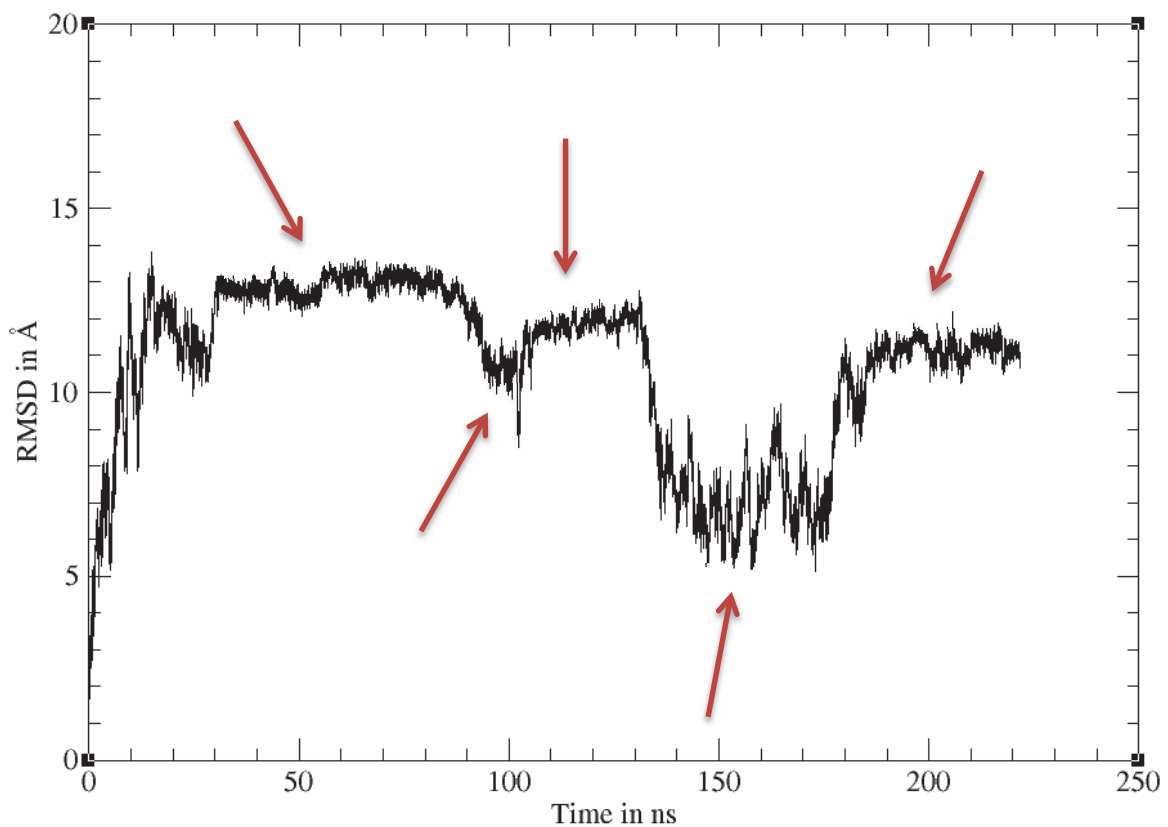
Les 11 acides aminés manquant et composant notre système tribloc sont ensuite ajoutés à la séquence de la cateslytine obtenue par homologie puis le système tribloc est soumis à une dynamique moléculaire en solution dans une boîte d'eau. Nous relevons après approximativement 200 ns de simulation une espèce structurée en feuillet  $\beta$ . (Voir figure 26)





**Figure 26 - Représentation de la structure secondaire observée pour le système tribloc après une dynamique en solution**

A partir du RMSD et de la visualisation de cette dynamique (Figure 27), nous observons 5 conformations distinctes représentant la protéine. Ces 5 zones correspondent aux 5 zones marquées par une flèche et sont séparées par des sauts montrant une différence marquée de géométries les unes entre les autres. De plus, chacune de ces géométries apparaît comme relativement stable compte tenu du plateau décrit par chacune de ces portions du RMSD.

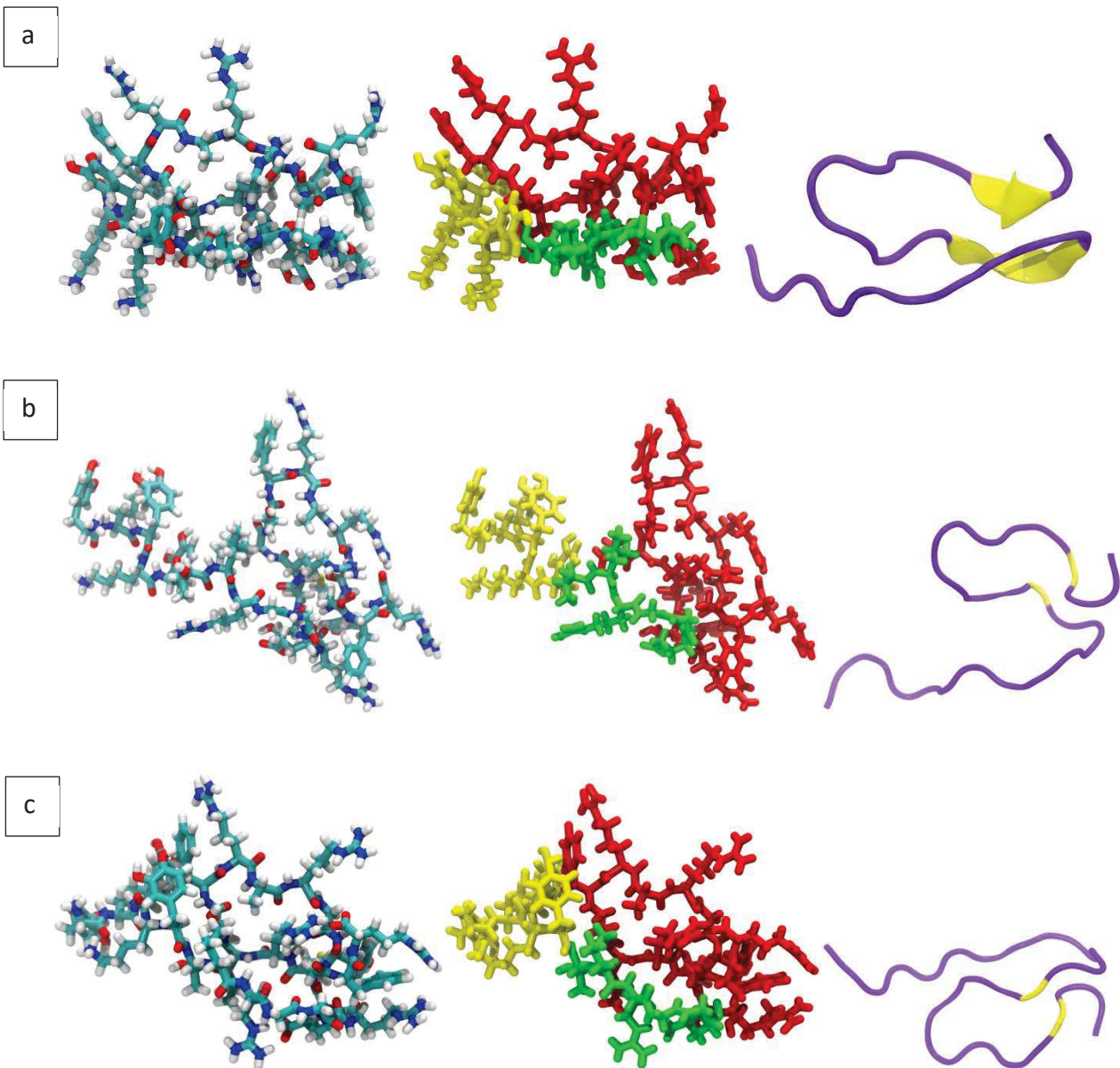


**Figure 27 - RMSD du système tribloc en solution avec identification de 5 portions permettant l'extraction de 5 structures représentatives**

A partir de ces structures, 5 dynamiques moléculaires du système tribloc sur or ont été réalisées afin d'étudier les 5 conformations représentatives du système en adsorption.

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

Les figures 28 a, b, c, d et e montrent ces 5 systèmes choisis pour l'étude. Pour chacune des structures représentatives, 3 images sont données. La première montre la structure globale du système avec chacun des atomes représenté en fonction de son type atomique. La seconde identifie par un code couleur chacune des 3 parties composant notre séquence peptidique (pour la partie accroche, vert pour la partie clivable et rouge pour la partie antimicrobienne). Enfin la troisième image montre la structure secondaire du peptide. Ces 5 structures représentatives seront par la suite nos points de départ pour l'étude de la séquence tribloc sur surface d'or.



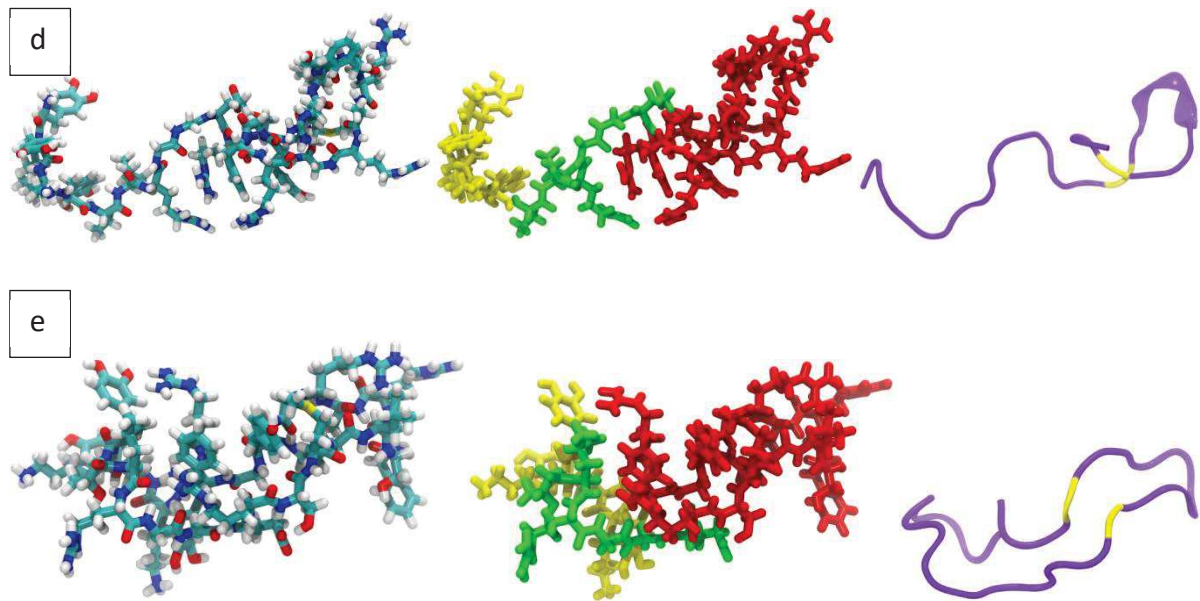


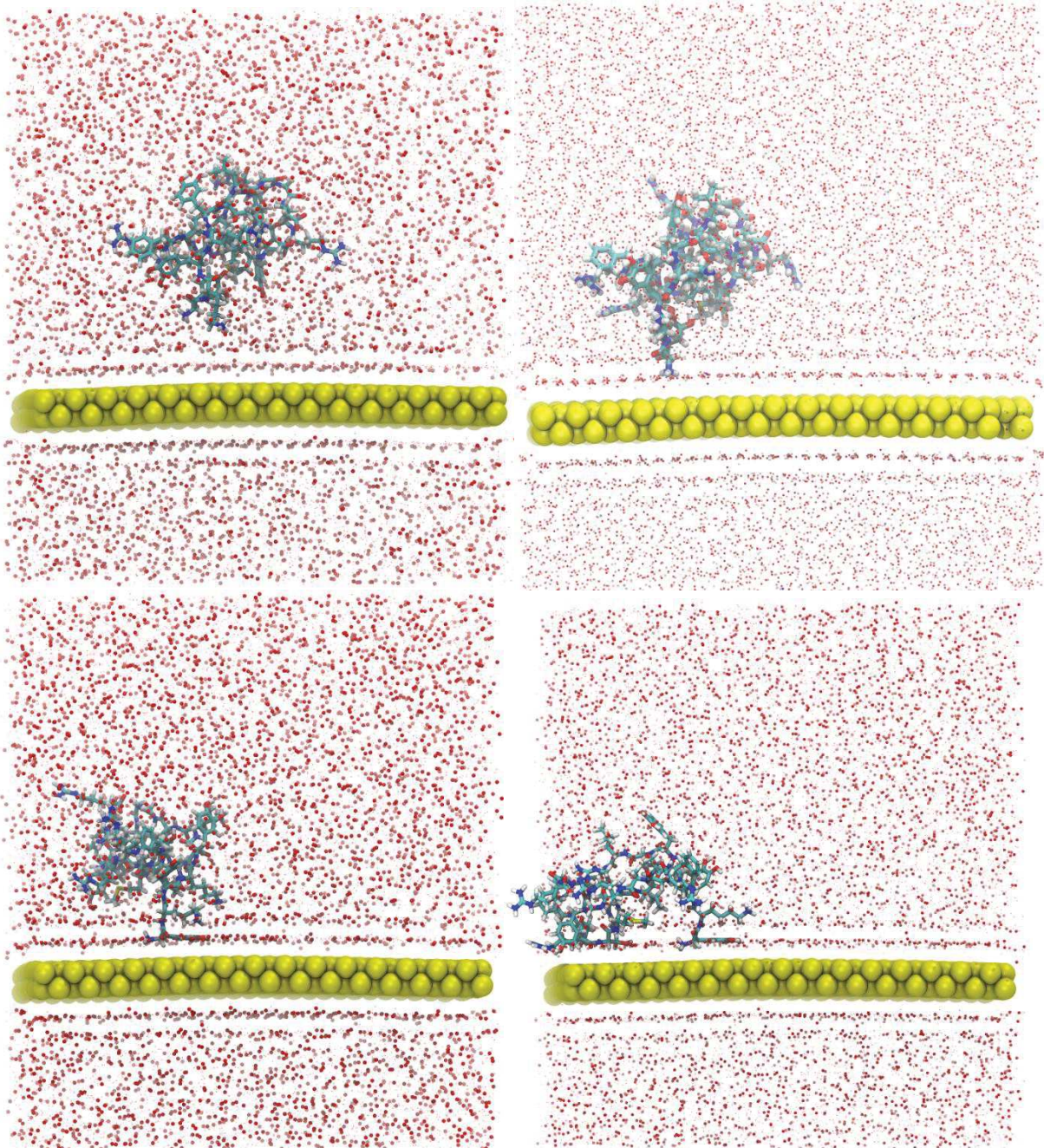
Figure 28 - Les 5 Structure représentatives (a, b, c, d, et e) obtenues à partir de la MD en solution du peptide tribloc

### 5. Système tribloc sur une surface d'or

Le peptide tribloc est placé à une vingtaine d'Angström de la surface au commencement de la dynamique. La surface d'or est considérée comme assez grande ( $58.4 \times 58.7 \text{ \AA}$ ) pour permettre au peptide de s'adsorber sur cette dernière. Si l'on considère un repère cartésien, la surface d'or à deux couches est positionnée dans le plan  $xOy$  et la distance entre cette double couche et son image selon l'axe  $z$  est d'environ  $70 \text{ \AA}$  (conditions périodiques). Quelques images de cette dynamique molculaire, dans le cas de l'adsorption de la structure représentative n°1, sont données dans la figure 29.

Au commencement de la simulation le centre de gravité du tribloc est à  $10 \text{ \AA}$  de la surface et n'est pas adsorbé sur cette dernière.





**Figure 29 – Exemple de dynamique moléculaire du système tribloc adsorbée sur une surface d'or. Début de la dynamique (en haut à gauche), adsorption du tribloc sur la couche d'eau structurée (en haut à droite), rupture de la couche d'eau structurée et premier point d'ancrage (en bas à gauche) et adsorption globale du système tribloc sur la surface (en bas à droite).**

Après quelques nanosecondes de dynamique, le système tribloc se positionne au-dessus de la surface d'eau structurée et s'adsorbe sur cette dernière.

Puis la couche d'eau structurée est brisée et le système tribloc s'adsorbe sur la surface en impliquant un effet entropique stabilisant avec un premier point d'encrage sur la cateslytine.

Après approximativement 200 ns de simulation le système se stabilise.

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

Les résultats obtenus pour les autres structures représentatives sont relativement identiques. Ils viennent notamment confirmer les observations réalisées sur la séquence d'accroche seule quant à sa capacité à s'adsorber sur la surface. Ils montrent également une forte appétence du système complet pour la surface d'or. En effet, nous observons que l'accroche ne se fait pas exclusivement par l'intermédiaire de la séquence d'accroche, mais aussi par la séquence clivable ou bien la séquence antimicrobienne. Dans tous les cas, après une longue dynamique et quelle que soit la partie du système tribloc qui s'est adsorbé en premier sur la surface d'or, celui-ci finit toujours par tomber entièrement sur la surface.

Les résultats soulèvent ainsi plusieurs questions : Est-il possible dans ce cas pour la protéase d'approcher la séquence clivable afin de couper cette dernière et ainsi de libérer la cateslytine dans l'environnement ? Et même si la cateslytine est libérée, peut-elle atteindre le staphylocoque doré afin de mener à bien son action antibactérienne ? Des questions cruciales pour comprendre la perte d'activité bactéricide du dispositif après son immobilisation sur une surface.

Ainsi, afin de répondre à ces questions, nous avons réalisé une série d'analyses sur l'interaction entre la protéase et le peptide clivable ainsi que sur la cateslytine et son affinité pour la surface.

### 6. Enzyme V8 protease

#### 6.1. Protéase en solution

La protéase V8 est une endoprotéinase à sérine, propre à la surface du staphylocoque doré, contenant 216 résidus et un site actif dont l'activité est régie par 6 d'entre eux (ASP93, HIS51, SER169, THR164, ASN193 et VAL1). (Prasad et al., 2004)

Le mécanisme de clivage de l'endoprotéinase est assuré par les acides aminés Histidine 51, acide aspartique 93 et sérine 169, tous 3 explicités sur la figure 30, tandis que les 3 autres acides aminés du site actif sont responsables de la stabilisation du peptide coupée lors du mécanisme. (Prasad et al., 2004) (Di Cera, 2009) Ce dernier est explicité dans la figure 31.



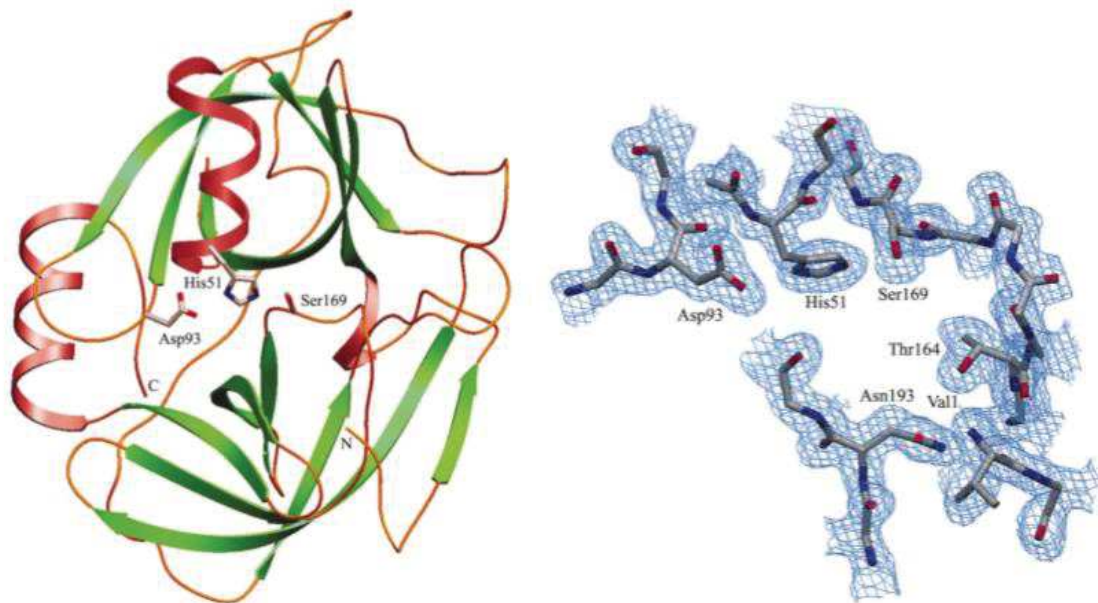


Figure 30 - Structure de la protéase V8 (à gauche) et zoom sur son site actif (droite). Les images sont issues de (Prasad et al., 2004)

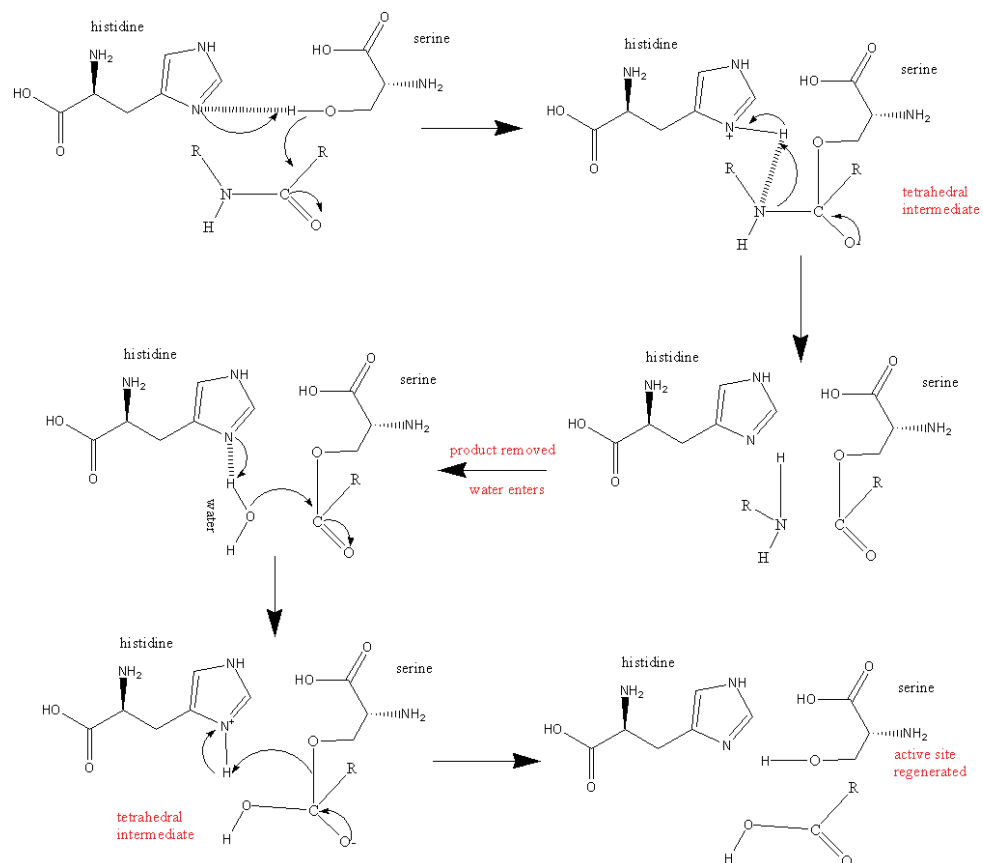


Figure 31 - Réaction catalytique conduisant au clivage d'un peptide par une endoprotéinase à sérine (image issue de la publication (Hedstrom, 2002))

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

L'histidine déprotone la fonction hydroxyle de la sérine permettant une réaction de type addition nucléophile avec la fonction Cter du peptide coupé. Cette étape est ensuite suivie par un départ nucléofuge de la fonction Nter grâce à la captation du proton de l'histidine (clivage de l'acide aminé). Enfin, une réaction d'hydrolyse vient favoriser le départ de l'ex fonction Cter de l'acide aminé, jusqu'ici lié à la sérine de la protéase.

Au-delà de la structure de l'enzyme, une relation structure-activité a été proposée pour la séquence clivable par Prasad (Prasad et al., 2004). Malheureusement, les résultats de cette étude réalisée par amarrage moléculaire, ne sont pas disponibles sur la PDB. Ces résultats sont néanmoins en accord avec les connaissances acquises jusqu'ici sur les mécanismes de ce type d'enzyme (Hedstrom, 2002).

Une étude par amarrage moléculaire avec Autodock (Goodsell et al., 1996; Morris et al., 2001) a ainsi été réalisée pour le complexe protéase et peptide clivable afin de comprendre ces relations structure-activité. L'étude est menée à partir de la séquence de la protéase seule disponible sur la PDB (code PDB : 1QY6) et publiée par Prasad (Prasad et al., 2004). Pour se faire, les acides aminés impliqués dans le mécanisme de clivage ont d'abord été repérés au sein de la protéase puis une boîte pour l'amarrage moléculaire est placée à leur niveau. Le peptide clivable est ensuite ajouté après avoir été acétylé et finalisé par un groupement N méthyl afin d'éviter l'ajout d'ions superficiels (cette partie étant la partie centrale du peptide tribloc). L'amarrage moléculaire est réalisé. L'une des poses obtenue se démarque des autres avec une énergie de liaison légèrement plus favorable (-3,2 kcal/mol). Une représentation de cette pose est donnée dans la figure 32.



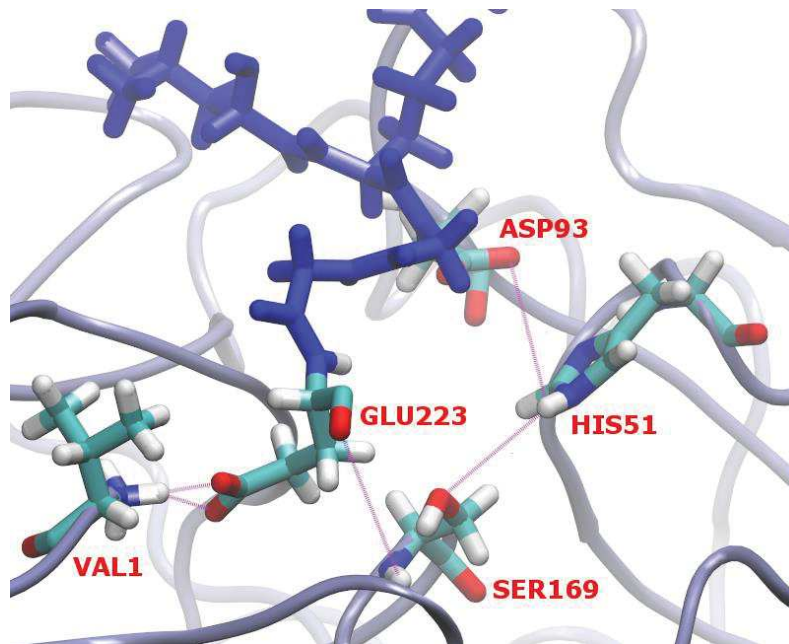


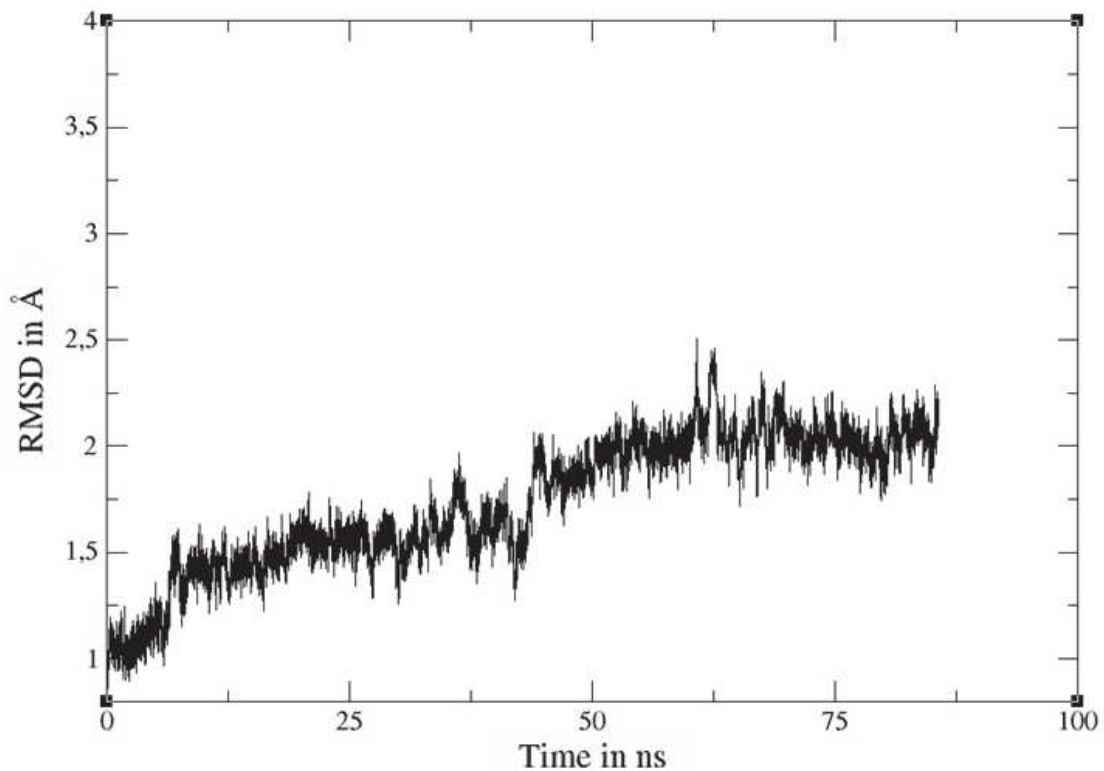
Figure 32 - Pose préférentielle obtenue par amarrage moléculaire

Dans celle-ci nous remarquons que la partie glutamate du peptide clivable pointe vers le  $\text{NH}_3^+$  de la valine ce qui est en accord avec le mécanisme expérimental de la littérature (Hedstrom, 2002; Prasad et al., 2004). Cette étude permet ainsi d'isoler une configuration pour l'étude en dynamique moléculaire du complexe en solution.

Expérimentalement, nous savons que le clivage a lieu sur l'acide glutamique de la séquence. Il s'agit donc ici de s'assurer que notre méthode de modélisation par dynamique moléculaire apporte des résultats cohérents avec l'expérience. Cette première étude consiste ainsi à vérifier la stabilité en solution de la conformation du peptide clivable, sélectionnée, dans le site actif de la protéase.

A l'issue de la dynamique moléculaire, notre première observation est que le ligand clivable ne se détache pas de la protéase au cours de la dynamique ce qui montre le choix cohérent de la pose d'amarrage moléculaire.

Nous analysons tout d'abord cette dynamique par un RMSD de l'ensemble du complexe, qui est comparé avec la position initiale servant de référence. Les résultats sont donnés dans la figure 33.



**Figure 33 - RMSD du complexe protéase et peptide clivable par rapport à sa position initiale en référence**

Bien que les valeurs de RMSD soient faibles, nous observons un profil légèrement ascendant le long de la trajectoire. Afin de déterminer si cet écart de distance interatomique est causé par le mouvement de la protéase ou de la séquence clivable, nous avons utilisé la même méthodologie pour faire une analyse RMSD de la protéase seule et de la séquence clivable seule. (Figures 34 et 35)

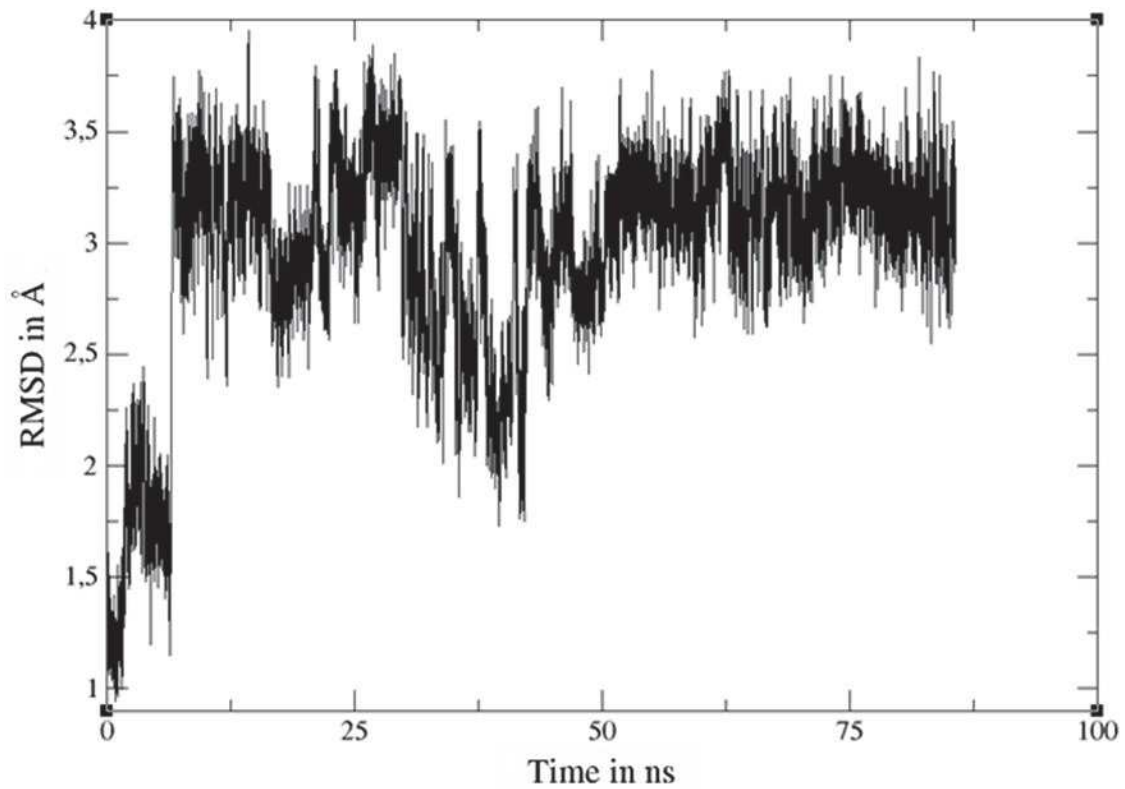


Figure 34 - RMSD de la séquence clivable seule par rapport à sa position initiale

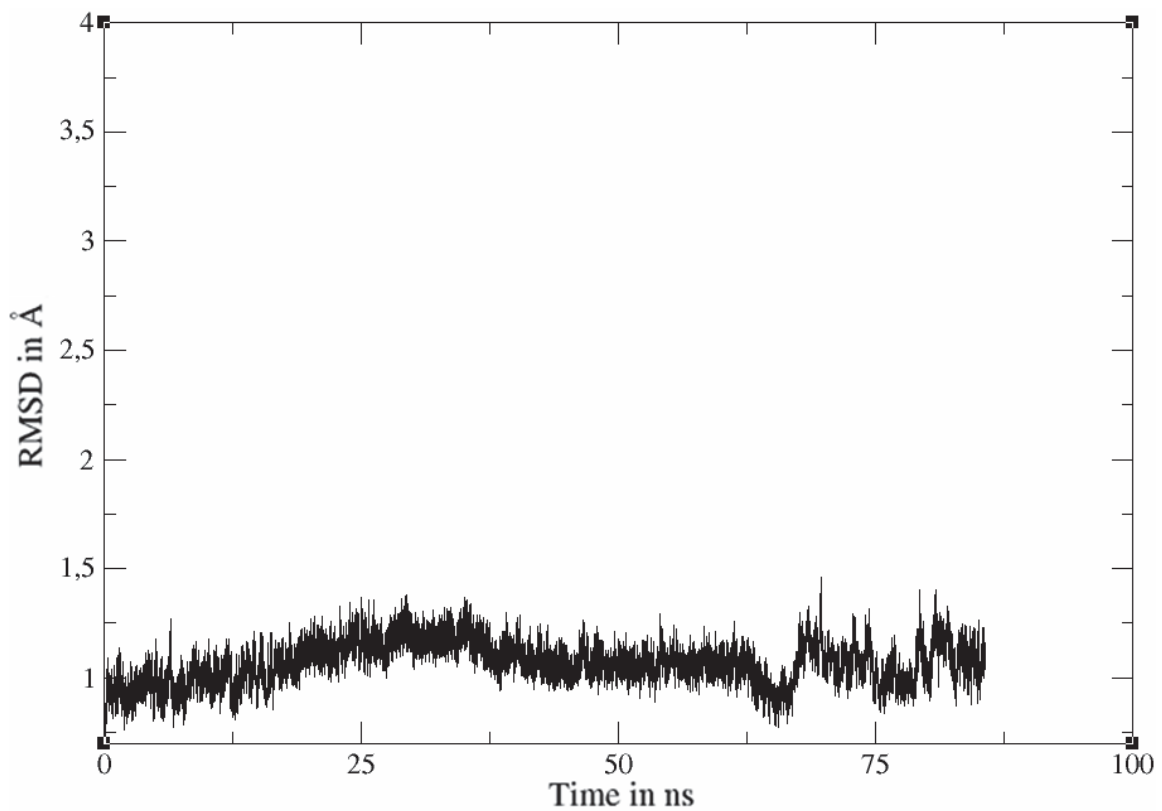
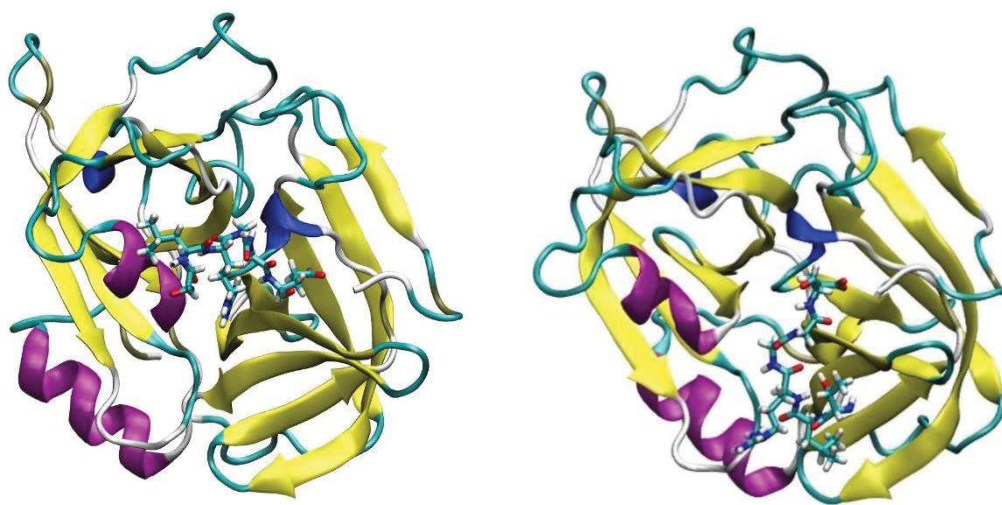


Figure 35 - RMSD de la protéase seule par rapport à sa position initiale

L'analyse de la séquence clivable seule, comparée à sa position initiale, montre un écart important dû au mouvement de celle-ci durant la dynamique.

Ce mouvement d'importance est dû à l'adaptation structurale de la séquence clivable qui a été obtenue par amarrage moléculaire. Une analyse visuelle de la dernière position de la séquence clivable, au cœur du site actif, durant la dynamique moléculaire montre cette évolution par rapport à la position initiale de la séquence clivable utilisée pour la MD (obtenue par amarrage moléculaire et présenté précédemment). (Figure 36)



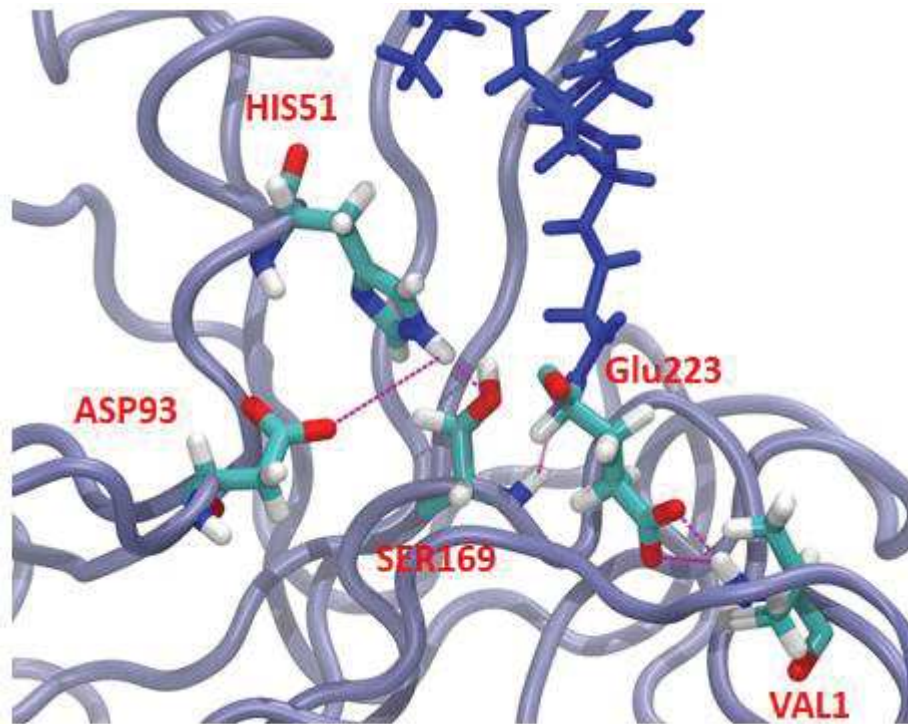
**Figure 36 - Position initiale de la séquence clivable dans la protéase, après l'amarrage moléculaire et avant la MD (à gauche) et position finale de la séquence clivable dans la protéase, après MD (à droite)**

Nous observons effectivement un mouvement important de la séquence clivable au cours du processus dynamique. Néanmoins, les éléments clés de l'interaction entre la protéase et la séquence clivable sont conservés. En effet seul le fragment de début de la séquence opère un mouvement (Thr-Leu-Arg-Gly).

De plus, les extrémités de la séquence clivable, censées lier la séquence d'accroche d'une part et la cateslytine d'autre part, sont toujours tournées vers l'extérieur de la protéase, ce qui rend toujours possible l'accessibilité de la séquence clivable par la protéase dans le tribloc.

L'analyse des interactions entre la séquence clivable et la protéase après équilibration montre toujours une interaction importante entre les deux systèmes. La liaison ionique

entre VAL1 de la protéase et le glutamate de la séquence clivable est conservée. De plus, un réseau de liaisons hydrogènes est toujours présent au sein de la protéase, impliquant ASP93, HIS51, SER169 et l'acide glutamique de la séquence à cliver. (Figure 37)



**Figure 37 - Interactions entre la séquence clivable et le site actif de la protéase V8 après la MD.**

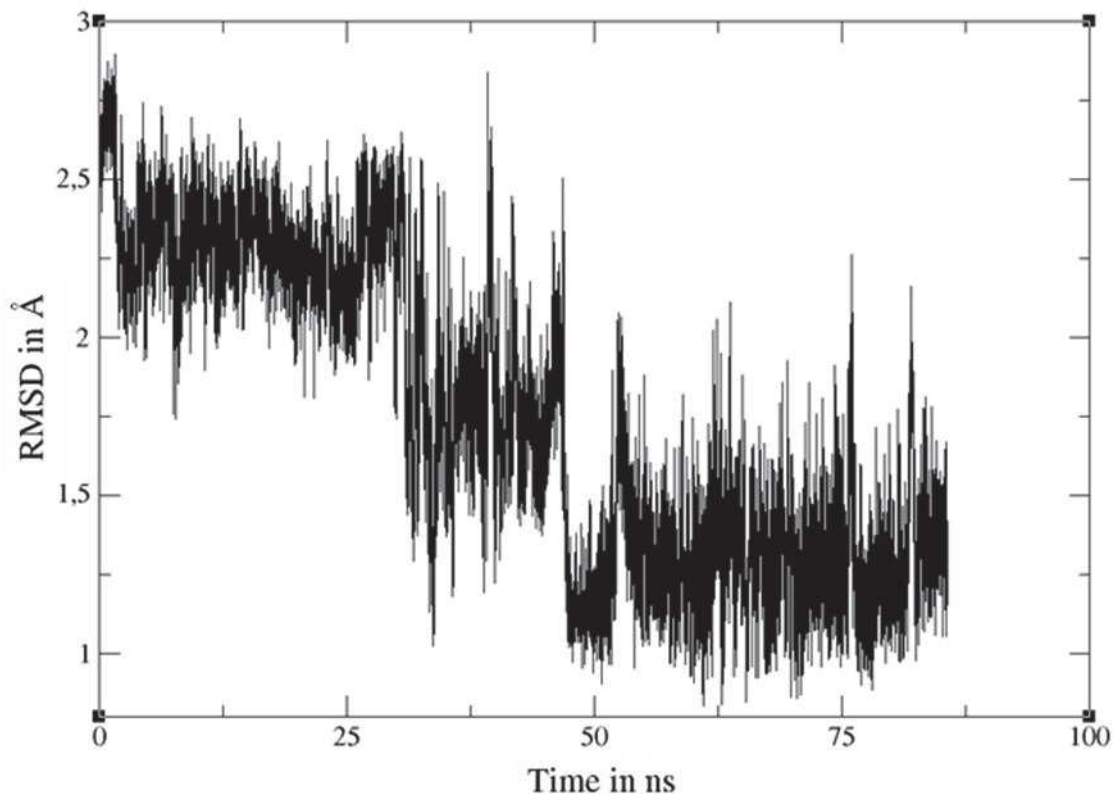
Ainsi, les interactions nécessaires à la bonne conformation de la séquence afin qu'elle puisse être clivée sont conservées.

De cette étape, nous extrayons la conformation dite "bioactive" de la séquence clivable c'est-à-dire celle qui permettra le clivage par la protéase. Cette référence nous sera utile pour identifier, dans l'ensemble de nos études, si la partie clivable du tribloc aborde une structuration capable d'être coupée par la protéase V8.

### 6.2. Analyse structurale avec le tribloc en solution

L'analyse simple de la dynamique protéase-séquence clivable nous a permis de conclure que la séquence clivable seule possède les interactions et une conformation cohérente avec son clivage réel. Néanmoins, il s'agit de savoir maintenant si cette conformation est possible et accessible à la protéase dans le système tribloc en solution dans son ensemble.

Dans un premier temps, afin de vérifier si la conformation de la séquence clivable dans le tribloc est compatible avec une interaction avec la protéase, nous avons réalisé une analyse RMSD où la conformation du peptide clivable, identifiée dans la partie précédente de ce manuscrit, sert de référence. (Figure 38)

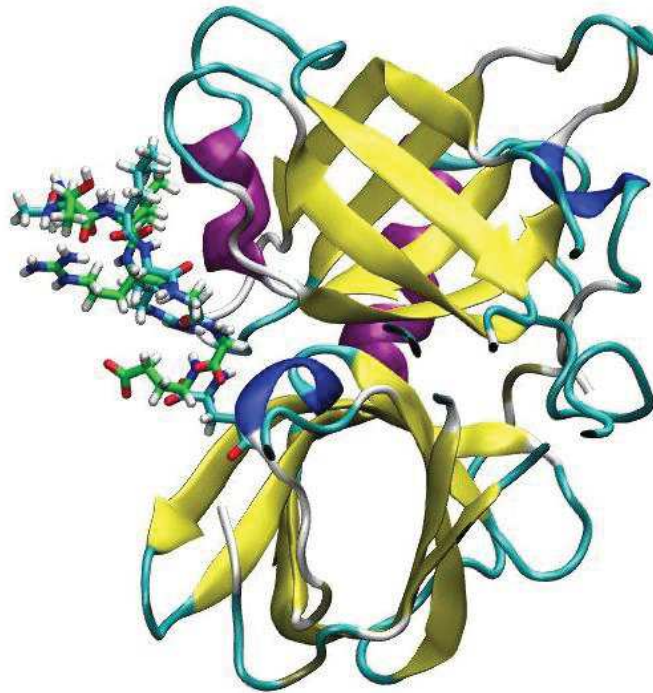


**Figure 38 - RMSD de la partie clivable présente dans le tribloc par rapport à la partie clivable obtenue après amarrage moléculaire et dynamique moléculaire**

L'analyse nous permet donc de voir si une conformation de la séquence clivable du tribloc pendant la dynamique n'est pas éloignée de celle obtenue précédemment par MD pour le peptide clivable seul. Il s'avère que l'analyse de la chaîne principale montre des RMSD faible et donc une similitude importante dans la conformation. Nous avons mis en place un seuil de 2,0 Angström en dessous duquel le RMSD était considéré comme faible et présentant une conformation similaire. Ce seuil a été choisi sur la base de deux critères : tout d'abord cette valeur de 2,0 Angström correspond au seuil de clustering utilisé dans des calculs d'amarrage moléculaire pour discriminer deux poses (Goodsell et al., 1996; Morris et al., 1996). Ensuite ce critère est également visuel. En effet, la superposition de la séquence clivable du tribloc (les parties cateslytine et accroche ont été enlevées par confort visuel) avec la séquence



clivable seule obtenu précédemment, montre une similitude entre les chaînes principales qui est presque totale. (Figure 39)



**Figure 39 - Superposition de la séquence clivable du tribloc (en bleu) par rapport à la séquence clivable seule (en vert)**

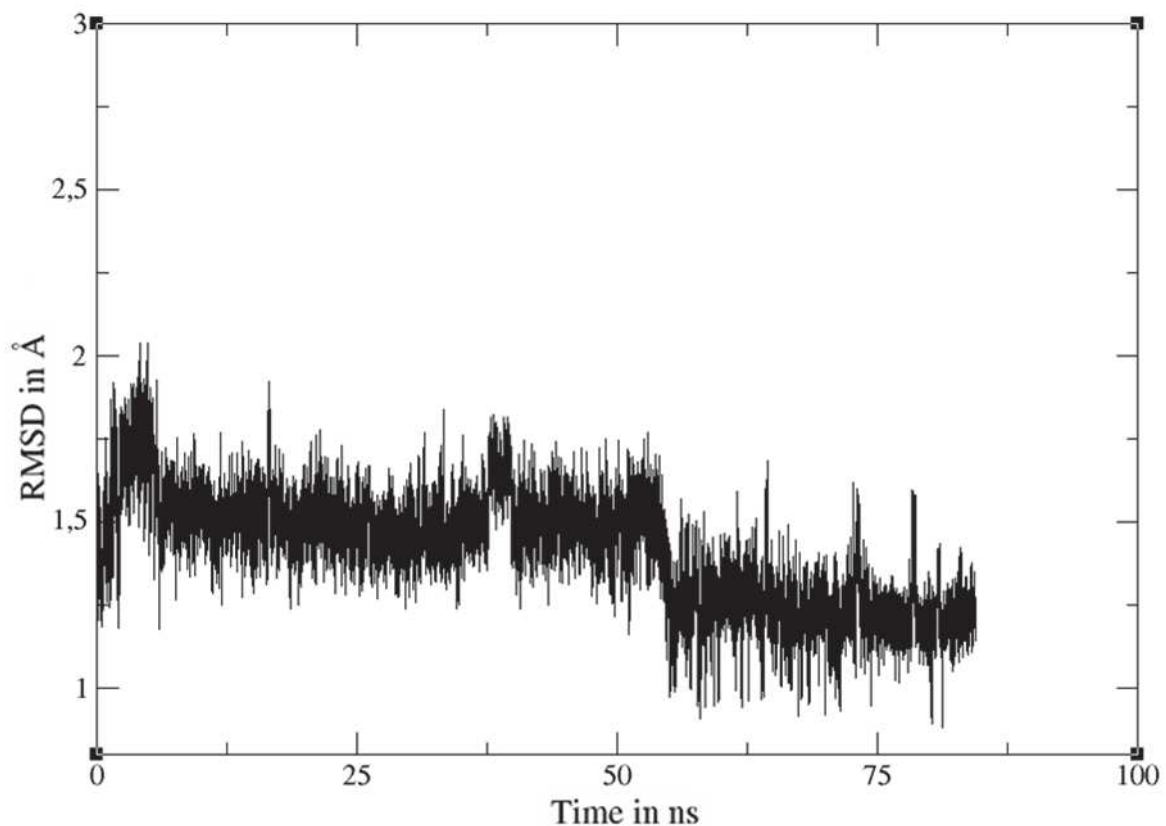
Ainsi, le tribloc adopte naturellement une conformation qui permet, en solution, une interaction entre la séquence clivable et la protéase. Nous avons donc une cohérence entre les données expérimentales et la modélisation quant à l'existence du mécanisme en solution. La suite de notre étude, maintenant, se porte sur la compréhension des pertes de propriétés antimicrobiennes lorsque le système est greffé sur une surface.

### 6.3. Protéase associée au peptide tribloc adsorbé sur une surface d'or

Dans le cadre de cette analyse structurale, nous avons réutilisé les dynamiques des 5 structures représentatives du tribloc sur surface d'or. Nous avons réalisé les RMSD de ces dynamiques en utilisant, cette fois, pour référence la séquence clivable bioactive positionnée dans la protéase à la toute fin de la dynamique en solution. De ces RMSD, nous avons isolé des structures selon deux critères : le RMSD est inférieur à 2 Å d'une part et ces structures devaient être à un intervalle de temps où le tribloc était adsorbé sur la surface d'autre part.



Une représentation d'un de ces RMSD est donnée dans la figure 40 (les 5 RMSD apportant des résultats similaires).



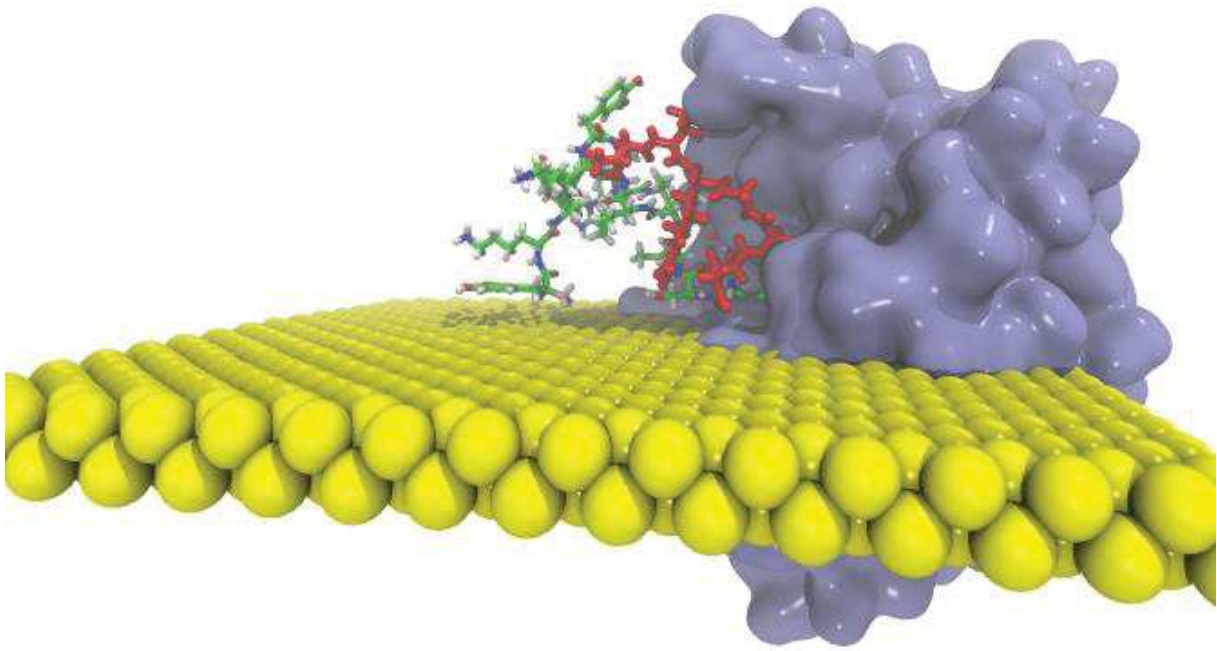
**Figure 40 - RMSD de la dynamique de la séquence clivable, présente dans la séquence tribloc adsorbée sur surface d'or, comparé à la partie clivable isolée, correspondant à la conformation bioactive**

L'analyse RMSD montre un écart assez faible (inférieur à 2 Å) indiquant une conformation de la séquence clivable du tribloc plutôt similaire à celle du peptide clivable seul présent dans la protéine.

Nous pouvons donc, à cette étape, supposer que l'absence d'activité n'est pas liée à une perte de conformation de la séquence clivable au sein du tribloc compte tenu de cette ressemblance géométrique. Le clivage est donc toujours à priori réalisable une fois le système greffé sur surface.

Afin de poursuivre cette analyse, nous avons positionné la protéase V8 dans la configuration nécessaire au mécanisme de coupure, par rapport à la séquence clivable dans le peptide tribloc, tout en conservant autour de ce complexe : les parties d'accroche et antimicrobienne du peptide tribloc ainsi que la surface d'or. Les résultats ont ainsi été exploités pour les 5 structures représentatives de la séquence tribloc et ont conduit à des

conclusions identiques. Une représentation pour l'une des 5 structures est donnée dans la figure 41.



**Figure 41 – Complexe séquence clivable-protéase dans la configuration permettant le mécanisme de coupure. La séquence clivable bioactive est représentée en rouge avec autour d'elle le reste du peptide tribloc, la surface d'or en jaune et la protéase V8 en gris**

Cette figure 41 est édifiante, nous constatons ainsi que lorsque que le système tribloc est adsorbé sur une surface, la protéase devrait traverser celle-ci pour atteindre le peptide clivable et couper ce dernier !

Il est donc impossible, du point de vue géométrique, pour la protéase d'atteindre le peptide clivable, expliquant ainsi la perte d'activité antimicrobienne sur surface puisque celle-ci est intrinsèque à la libération de la cateslytine dans le milieu par le biais de ce clivage. Nous démontrons donc, sans équivoque, qu'il est structurellement impossible de cliver la séquence.

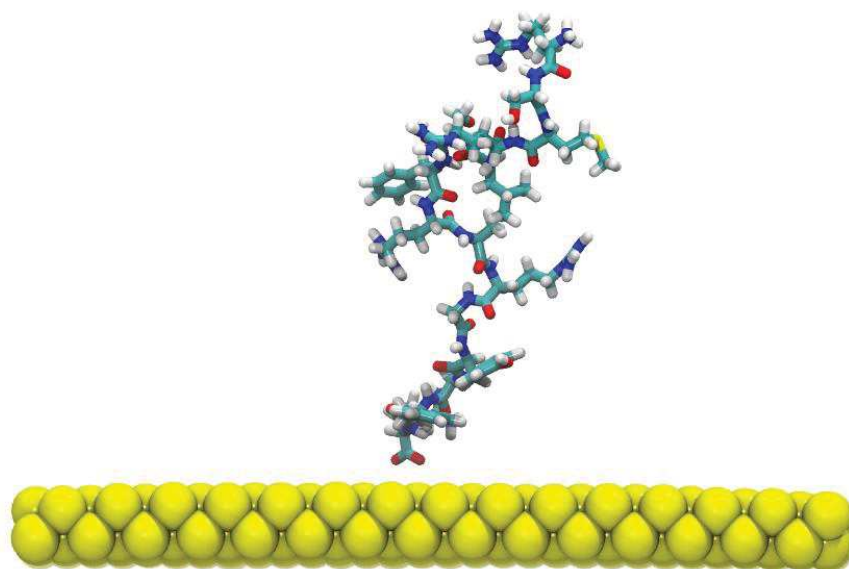
Cette dernière observation est ainsi un premier élément clé permettant d'expliquer la perte d'activité bactéricide du système une fois greffé sur surface, car comme nous l'avons explicité précédemment, la cateslytine doit être libérée dans le milieu pour agir, or cette libération est entièrement lié à la coupure de la partie clivable du tribloc.

### 7. Cateslytine sur Au

La seconde hypothèse pour expliquer la perte d'activité bactéricide lorsque le système tribloc est greffé sur une surface relève de l'interaction entre le peptide antimicrobien (la cateslytine) et la surface d'or. Cette affinité particulière a déjà été quelque peu appréciée lors de la dynamique de la séquence tribloc sur la surface, avec un point d'amarrage sur celle-ci.

Nous nous intéressons ici à la dynamique moléculaire de la cateslytine sur la surface d'or. Pour cette dernière, nous considérons notre modèle incluant une redistribution de charges à sa surface.

Les résultats de la dynamique moléculaire sont donnés ci-dessous. Très rapidement (après moins de 9 ns de dynamique) la cateslytine s'adsorbe sur la surface d'or avec un premier point d'ancrage situé ici sur une arginine (figure 42).



**Figure 42 - Adsorption de la cateslytine sur une surface d'or observée par dynamique moléculaire. Premier point d'ancrage**

Après 200 ns de dynamique, nous remarquons que l'intégralité du système se couche sur la surface. (Figure 43)

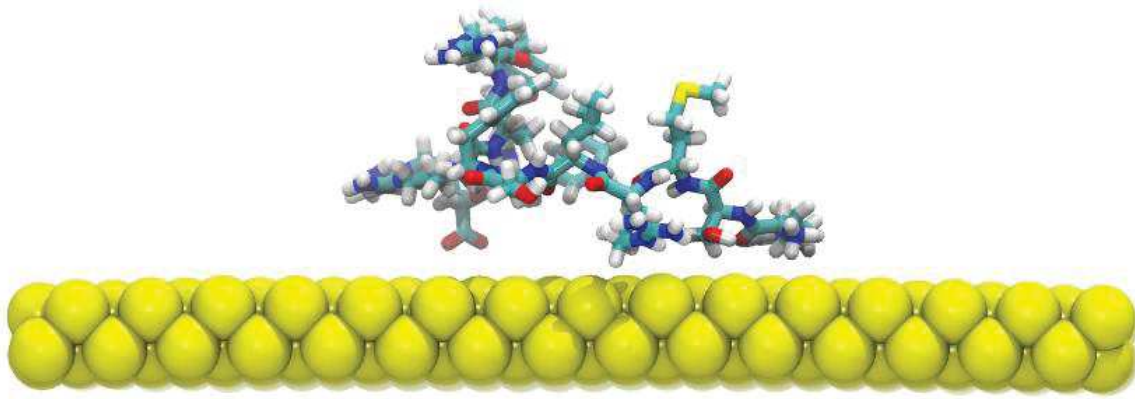


Figure 43 - Adsorption de la cateslytine sur une surface d'or observée par dynamique moléculaire. Fin de la dynamique

Ces résultats montrent ainsi une affinité de la cateslytine pour la surface d'or ce qui implique une seconde limite au processus mis en place : même en présence d'une coupure de la séquence clivable, le peptide antimicrobien pourrait préférer tomber sur la surface d'or plutôt que de s'attaquer au staphylocoque doré.

## 8. Une autre surface : le quartz

Nous nous sommes également intéressés à un autre support composé de quartz afin d'adsorber notre système tribloc. Les paramètres pour cette surface sont issus de la littérature (Emami et al., 2014) et explicités dans la figure 44.

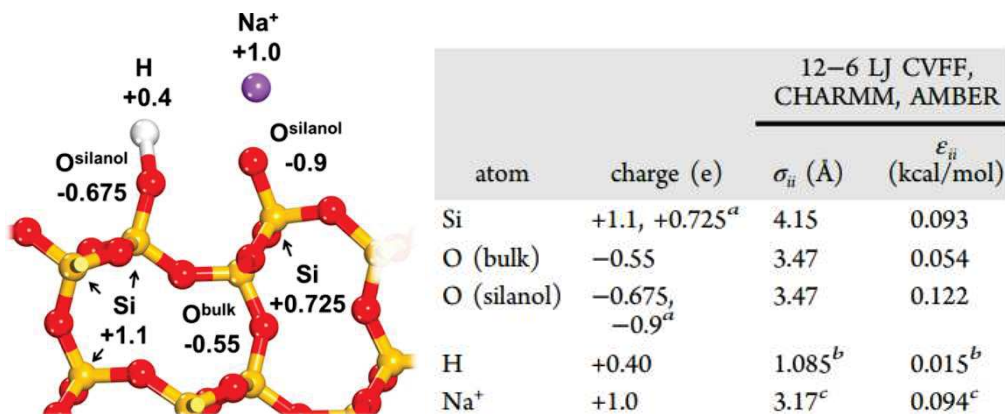


Figure 44 - Paramètres pour la surface de Quartz. Le tableau montre les paramètres pour les termes non liants avec la charge atomique partielle ainsi que  $\sigma_{ii}$  et  $\epsilon_{ii}$  les paramètres de Lennard Jones. (figure d'après (Emami et al., 2014))

Les résultats obtenus pour ce modèle de quartz sont comparés à des surfaces de verre du point de vue de l'expérience, le modèle de quartz s'avérant être un modèle permettant de modéliser efficacement des surfaces de verre en modélisation moléculaire. (Emami et al., 2014)

Dans le modèle de verre expérimental, nous sommes en présence d'une structure amorphe avec des groupements  $\text{SiO}^-$  et  $\text{SiOH}$ . Sur notre modèle de quartz nous considérons qu'il n'y a que des groupements  $\text{SiOH}$  car nous n'avons pas d'information sur la proportion de  $\text{SiO}^-$  et  $\text{SiOH}$  présents expérimentalement, ni sur la répartition de ces groupements. De plus, le système tribloc étant globalement chargé positivement, comme décrit précédemment, l'hypothèse est émise que si le système s'adsorbe efficacement sur une surface de  $\text{SiOH}$ , l'apport de charges négatives lié à  $\text{SiO}^-$  ne pourra que faciliter davantage cette adsorption. En d'autres termes, si le tribloc s'adsorbe sur  $\text{SiOH}$ , il s'adsorbera forcément sur  $\text{SiO}^-$ . La dynamique moléculaire du système tribloc sur cette surface est réalisée selon un protocole similaire à celui évoqué précédemment pour l'adsorption sur les surfaces d'or. Au commencement de la dynamique, les systèmes tribloc ne sont pas adsorbés sur la surface. Après environ 30 ns de dynamique, le système tribloc s'adsorbe par l'intermédiaire d'un premier point d'ancrage sur la surface (figure 45).

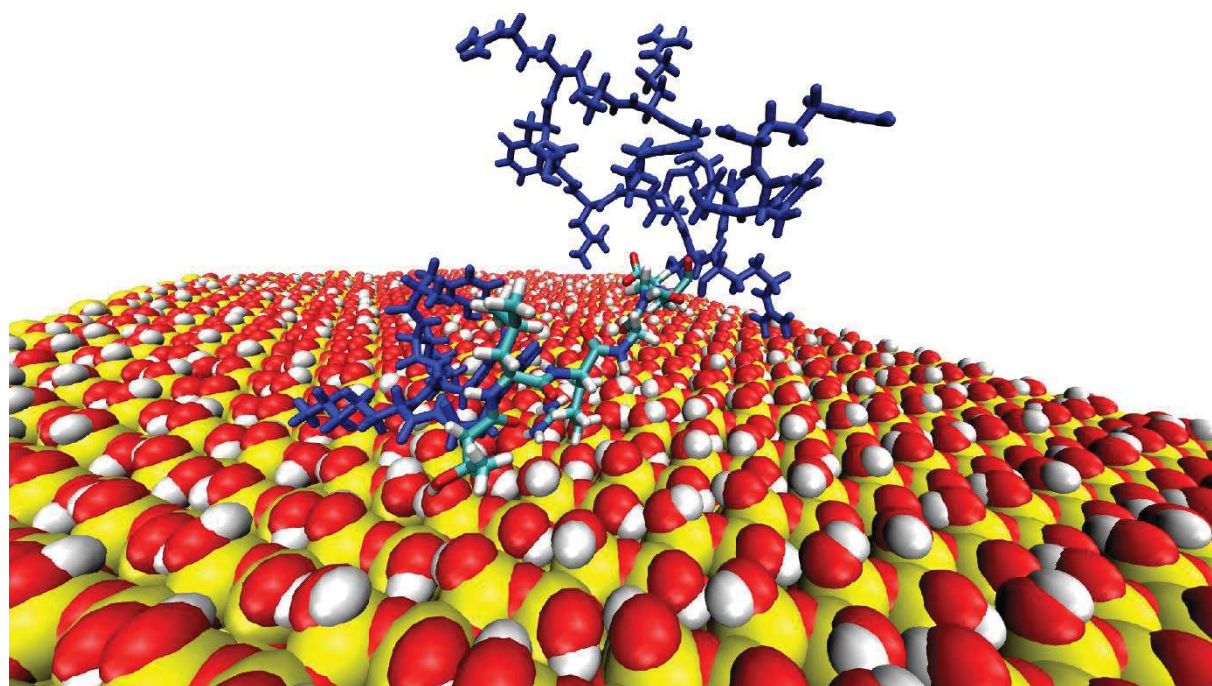
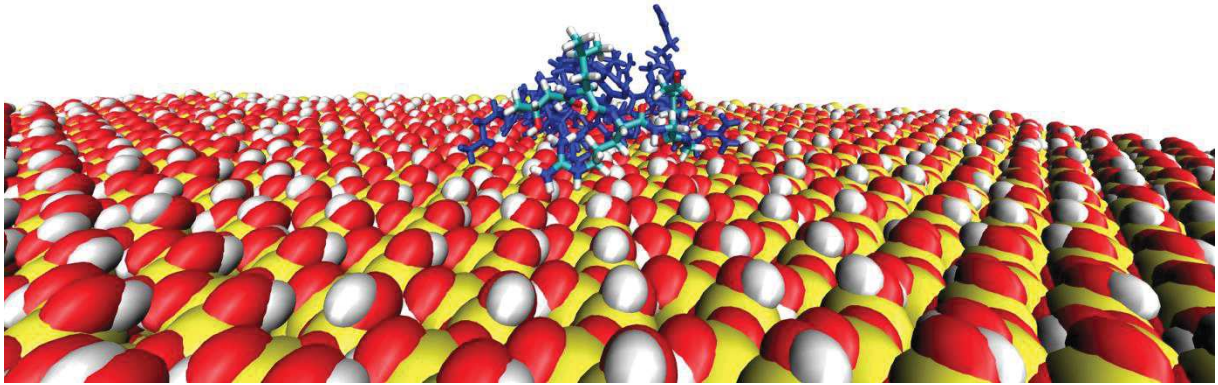


Figure 45 : adsorption partielle du tribloc sur la surface de quartz



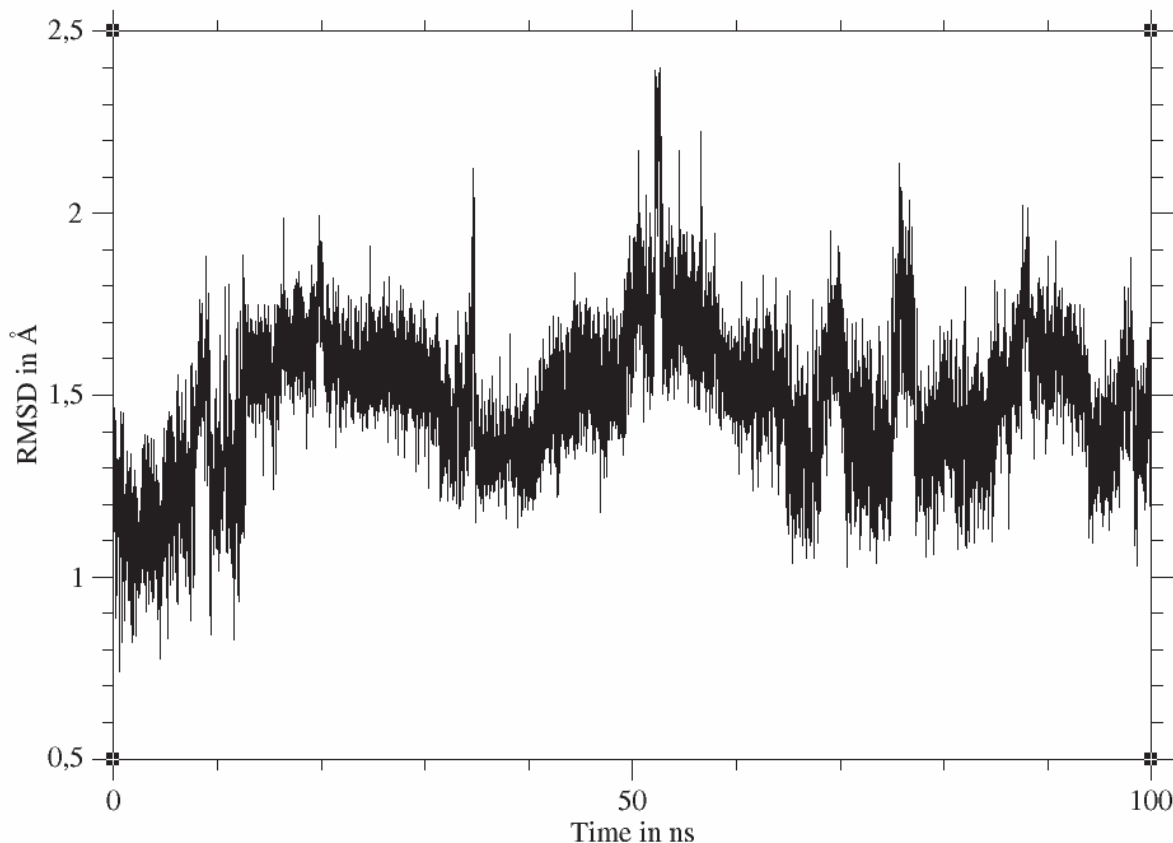
Puis la séquence s'adsorbe intégralement et se couche vers la surface aux alentours de 50 ns de dynamique (figure 46).



**Figure 46 Adsorption totale du tribloc sur surface de quartz**

Tout comme sur la surface d'or, nous constatons une affinité de notre système tribloc pour la surface de quartz avec une adsorption importante de celui-ci. Au cours de l'étude, le système est également resté adsorbé sur la surface montrant la stabilité du complexe. Les résultats sont ici reproduits dans les 5 structures représentatives utilisées durant notre étude.

De même que pour l'or, la question de la perte de propriété bactéricide lors de l'adsorption du tribloc sur la surface est prospectée, avec en premier lieu l'interaction de la protéase avec la partie clivable. Une première étude comparative entre le peptide clivable étudié par amarrage moléculaire précédemment et le peptide clivable issue du système tribloc adsorbé sur la surface de quartz est réalisé par l'intermédiaire d'un RMSD (cf. figure 47).



**Figure 47 - RMSD de la séquence clivable, issue du peptide tribloc adsorbé sur une surface de quartz, comparée à la partie clivable dans sa configuration bioactive**

Après adsorption, le RMSD se stabilise autour de 2.5 Å soit une valeur relativement faible indiquant une superposition vraisemblablement plutôt bonne entre les 2 séquences.

Si l'on superpose maintenant ces deux représentations comme précédemment en gardant également les parties d'accroche, antimicrobienne ainsi que la protéase, nous observons des résultats similaires à ceux obtenus pour la surface d'or. En effet la gêne occasionnée par la surface pour que la protéase puisse atteindre la partie clivable est également relevée maintenant la conclusion quant au lien entre cette affinité du tribloc pour la surface et l'absence des propriétés bactéricides, liées à l'absence de clivage.



### Conclusion

Nous avons ainsi pu présenter un système peptidique composé de 3 parties aux rôles distincts : une partie d'accroche, une partie clivable coupée spécifiquement par une protéase de surface du staphylocoque doré libérant ainsi la troisième partie du système, possédant des propriétés antimicrobiennes. Le système a prouvé son efficacité expérimentalement parlant en solution, mais se retrouve inefficace lorsqu'il est greffé sur une surface.

Des analyses du peptide tribloc adsorbé sur des surfaces d'or et de quartz montrent tout d'abord la bonne affinité de celui-ci pour ces surfaces respectives et un maintien du complexe dans le temps. L'affinité est relativement importante et le système se couche rapidement sur la surface, soulevant ainsi deux questions importantes, qui peuvent expliquer la perte d'affinité. Est-il possible dans ce cas pour la protéase d'approcher la séquence clivable afin de couper cette dernière et ainsi de libérer la cateslytine dans l'environnement ? Et même si la cateslytine est libérée, peut-elle atteindre le staphylocoque doré afin de mener à bien son action antibactérienne ?

L'étude de l'interaction entre la cateslytine et la surface d'or montre une réelle affinité du peptide pour celle-ci, amenant une possible compétitivité non négligeable entre interaction surface-peptide et une interaction bactérie-peptide. Ce cas de figure montre ainsi la nécessité d'éloigner un maximum le peptide antimicrobien de la surface afin de favoriser son action sur la bactérie.

L'adsorption du peptide se couchant sur la surface entraîne également des complexités quant à l'interaction de la partie clivable avec la protéase. En effet l'analyse montre que lorsque le système est adsorbé, la protéase devrait pouvoir traverser la surface afin de se positionner selon le mécanisme de coupure envisagé. Il est donc impossible pour la protéase d'opérer dans ce cas de figure. Ici encore, une solution reviendrait à éloigner au maximum le peptide clivable de la surface afin de favoriser l'attaque de la protéase sur celui-ci sans gêne stérique et ainsi permettre la libération de la cateslytine.

Des perspectives peuvent être imaginées avec l'utilisation par exemple d'un champ de force polarisable afin d'améliorer notre modèle, ou bien utilisant un modèle de verre qui soit plus proche encore de la surface de verre du point de vue expérimental.

### Bibliographie

Abramyan, T.M., Snyder, J.A., Yancey, J.A., Thyparambil, A.A., Wei, Y., Stuart, S.J., and Latour, R.A. (2015). Parameterization of an interfacial force field for accurate representation of peptide adsorption free energy on high-density polyethylene. *Biointerphases* 10, 021002.

Agrawal, P.M., Rice, B.M., and Thompson, D.L. (2002). Predicting trends in rate parameters for self-diffusion on FCC metal surfaces. *Surface Science* 515, 21–35.

Aslam, R., Marban, C., Corazzol, C., Jehl, F., Delalande, F., Van Dorsselaer, A., Prévost, G., Haïkel, Y., Taddei, C., and Schneider, F. (2013). Cateslytin, a chromogranin A derived peptide is active against *Staphylococcus aureus* and resistant to degradation by its proteases. *PLoS One* 8, e68993.

Bader, R.F. (1985). Atoms in molecules. *Accounts of Chemical Research* 18, 9–15.

Braun, R., Sarikaya, M., and Schulten, K. (2002). Genetically engineered gold-binding polypeptides: structure prediction and molecular dynamics. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 13, 747–757.

Brubaker, C.E., and Messersmith, P.B. (2012). The present and future of biologically inspired adhesive interfaces and materials. *Langmuir* 28, 2200–2205.

Case, D.A., Betz, R.M., Cerutti, D.S., Cheatham, T.E., Darden, T., and Duke, R.E. AMBER16, 2016. San Francisco.

Cheng, H., Yue, K., Kazemzadeh-Narbat, M., Liu, Y., Khalilpour, A., Li, B., Zhang, Y.S., Annabi, N., and Khademhosseini, A. (2017). Mussel-inspired multifunctional hydrogel coating for prevention of infections and enhanced osteogenesis. *ACS Applied Materials & Interfaces* 9, 11428–11439.

Dalsin, J.L., and Messersmith, P.B. (2005). Bioinspired antifouling polymers. *Materials Today* 8, 38–46.

Di Cera, E. (2009). Serine proteases. *IUBMB Life* 61, 510–515.

Di Felice, R., and Corni, S. (2011). Simulation of peptide–surface recognition. *The Journal of Physical Chemistry Letters* 2, 1510–1519.

Emami, F.S., Puddu, V., Berry, R.J., Varshney, V., Patwardhan, S.V., Perry, C.C., and Heinz, H. (2014). Force field and a surface model database for silica to simulate interfacial properties in atomic resolution. *Chemistry of Materials* 26, 2647–2658.

Fullenkamp, D.E., Rivera, J.G., Gong, Y., Lau, K.A., He, L., Varshney, R., and Messersmith, P.B. (2012). Mussel-inspired silver-releasing antibacterial hydrogels. *Biomaterials* 33, 3783–3791.

Goodsell, D.S., Morris, G.M., and Olson, A.J. (1996). Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock. *Journal of Molecular Recognition* 9, 1–5.

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

Guggenbichler, J.P., Assadian, O., Boeswald, M., and Kramer, A. (2011). Incidence and clinical implication of nosocomial infections associated with implantable biomaterials—catheters, ventilator-associated pneumonia, urinary tract infections. *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär* 6.

Hedstrom, L. (2002). Serine Protease Mechanism and Specificity. *Chem. Rev.* 102, 4501–4524.

Heinz, H., Lin, T.-J., Kishore Mishra, R., and Emami, F.S. (2013). Thermodynamically consistent force fields for the assembly of inorganic, organic, and biological nanostructures: the INTERFACE force field. *Langmuir* 29, 1754–1765.

Hoefling, M., Iori, F., Corni, S., and Gottschalk, K.-E. (2010). Interaction of amino acids with the Au (111) surface: adsorption free energies from molecular dynamics simulations. *Langmuir* 26, 8347–8351.

Humphrey, W., Dalke, A., and Schulten, K. (1996). VMD: visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics* 14, 33–38.

Kaur, S., Narayanan, A., Joy, A., and Dhinojwala, A. (2018). Understanding the Role of DOPA in Underwater Adhesion. *Bulletin of the American Physical Society*.

Kim, J., Kim, G., and Cremer, P.S. (2001). Investigations of water structure at the solid/liquid interface in the presence of supported lipid bilayers by vibrational sum frequency spectroscopy. *Langmuir* 17, 7255–7260.

Krogsgaard, M., Nue, V., and Birkedal, H. (2016). Mussel-Inspired Materials: Self-Healing through Coordination Chemistry. *Chemistry—A European Journal* 22, 844–857.

Kubiak-Ossowska, K., Mulheran, P.A., and Nowak, W. (2014). Fibronectin module FNIII9 adsorption at contrasting solid model surfaces studied by atomistic molecular dynamics. *The Journal of Physical Chemistry B* 118, 9900–9908.

Kumar, S., Rosenberg, J.M., Bouzida, D., Swendsen, R.H., and Kollman, P.A. (1992). The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method. *Journal of Computational Chemistry* 13, 1011–1021.

Leach, A.R. (2001). *Molecular modelling: principles and applications* (Pearson education).

Lee, O.-S., and Schatz, G.C. (2009). Molecular dynamics simulation of DNA-functionalized gold nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C* 113, 2316–2321.

Lee, H., Scherer, N.F., and Messersmith, P.B. (2006). Single-molecule mechanics of mussel adhesion. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, 12999–13003.

Lee, O.-S., Cho, V.Y., and Schatz, G.C. (2012). A-to B-form transition in DNA between gold surfaces. *The Journal of Physical Chemistry B* 116, 7000–7005.

Levine, Z.A., Rapp, M.V., Wei, W., Mullen, R.G., Wu, C., Zerze, G.H., Mittal, J., Waite, J.H., Israelachvili, J.N., and Shea, J.-E. (2016). Surface force measurements and simulations of

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

mussel-derived peptide adhesives on wet organic surfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *113*, 4332–4337.

Min, J., Choi, K.Y., Dreaden, E.C., Padera, R.F., Braatz, R.D., Spector, M., and Hammond, P.T. (2016). Designer dual therapy nanolayered implant coatings eradicate biofilms and accelerate bone tissue repair. *ACS Nano* *10*, 4441–4450.

Morris, G.M., Goodsell, D.S., Huey, R., and Olson, A.J. (1996). Distributed automated docking of flexible ligands to proteins: parallel applications of AutoDock 2.4. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* *10*, 293–304.

Morris, G.M., Goodsell, D.S., Huey, R., Hart, W.E., Halliday, S., Belew, R., and Olson, A.J. (2001). AutoDock. Automated Docking of Flexible Ligands to Receptor-User Guide.

Notman, R., and Walsh, T.R. (2009). Molecular dynamics studies of the interactions of water and amino acid analogues with quartz surfaces. *Langmuir* *25*, 1638–1644.

Prasad, L., Leduc, Y., Hayakawa, K., and Delbaere, L.T. (2004). The structure of a universally employed enzyme: V8 protease from *Staphylococcus aureus*. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography* *60*, 256–259.

Preece, N.E., Nguyen, M., Mahata, M., Mahata, S.K., Mahapatra, N.R., Tsigelny, I., and O'Connor, D. (2004). Conformational preferences and activities of peptides from the catecholamine release-inhibitory (catestatin) region of chromogranin A. *Regulatory Peptides* *118*, 75–87.

Roe, D.R., and Cheatham III, T.E. (2013). PTRAJ and CPPTRAJ: software for processing and analysis of molecular dynamics trajectory data. *Journal of Chemical Theory and Computation* *9*, 3084–3095.

Ruan, M., Seydou, M., Noel, V., Piro, B., Maurel, F., and Barbault, F. (2017). Molecular dynamics simulation of a RNA aptasensor. *The Journal of Physical Chemistry B* *121*, 4071–4080.

Ryckaert, J.-P., Ciccotti, G., and Berendsen, H.J. (1977). Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *Journal of Computational Physics* *23*, 327–341.

Skelton, A.A., Fenter, P., Kubicki, J.D., Wesolowski, D.J., and Cummings, P.T. (2011). Simulations of the quartz (1011)/water interface: a comparison of classical force fields, ab initio molecular dynamics, and X-ray reflectivity experiments. *The Journal of Physical Chemistry C* *115*, 2076–2088.

Snyder, J.A., Abramyan, T., Yancey, J.A., Thyparambil, A.A., Wei, Y., Stuart, S.J., and Latour, R.A. (2012). Development of a tuned interfacial force field parameter set for the simulation of protein adsorption to silica glass. *Biointerphases* *7*, 56.

## Chapitre 5 : Etude de nouveaux revêtements antimicrobiens

---

Sun, Y., Dominy, B.N., and Latour, R.A. (2007). Comparison of solvation-effect methods for the simulation of peptide interactions with a hydrophobic surface. *Journal of Computational Chemistry* 28, 1883–1892.

Thiolet, J.M., Vaux, S., Lamy, M., Gauthier, A., Barret, A.S., and Leon, L. (2016). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. Institut de veille sanitaire. 2013.

Utesch, T., Millo, D., Castro, M.A., Hildebrandt, P., Zebger, I., and Mroginski, M.A. (2013). Effect of the protonation degree of a self-assembled monolayer on the immobilization dynamics of a [NiFe] hydrogenase. *Langmuir* 29, 673–682.

Waite, J.H., and Tanzer, M.L. (1980). The bioadhesive of *Mytilus byssus*: a protein containing L-dopa. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 96, 1554–1561.

Wang, F., Stuart, S.J., and Latour, R.A. (2008). Calculation of adsorption free energy for solute-surface interactions using biased replica-exchange molecular dynamics. *Biointerphases* 3, 9–18.

Wang, J., Wolf, R.M., Caldwell, J.W., Kollman, P.A., and Case, D.A. (2004). Development and testing of a general amber force field. *Journal of Computational Chemistry* 25, 1157–1174.

Wright, L.B., Palafox-Hernandez, J.P., Rodger, P.M., Corni, S., and Walsh, T.R. (2015). Facet selectivity in gold binding peptides: exploiting interfacial water structure. *Chemical Science* 6, 5204–5214.

Xie, Y., Liu, M., and Zhou, J. (2012). Molecular dynamics simulations of peptide adsorption on self-assembled monolayers. *Applied Surface Science* 258, 8153–8159.

Xu, Z., Yang, X., and Yang, Z. (2008). On the mechanism of surfactant adsorption on solid surfaces: Free-energy investigations. *The Journal of Physical Chemistry B* 112, 13802–13811.

Yang, J., Stuart, M.A.C., and Kamperman, M. (2014). Jack of all trades: versatile catechol crosslinking mechanisms. *Chemical Society Reviews* 43, 8271–8298.

## Conclusion Générale

---

Le présent travail a permis d'explorer les mécanismes fondamentaux liés à l'élaboration de biomatériaux pour deux types d'application, à l'échelle atomique et mesoscopique, par l'utilisation d'outils de modélisation moléculaire.

Ma thèse de doctorat m'a permis d'appréhender ces problématiques avec une étude multi-échelle (à la fois en quantique et en mécanique moléculaire) de systèmes expérimentaux impliquant des biomolécules.

Dans un premier projet, nous nous sommes intéressés à l'élaboration d'un biocapteur impliquant un transistor à effet de champs de type EGO-FET et nous avons porté un regard plus particulier sur le canal semi-conducteur du transistor. Afin de l'optimiser nous avons proposé l'utilisation de graphène, un matériau conducteur qui a la capacité de passer à l'état de semi-conducteur lorsque des molécules riches en électrons, par exemple, sont adsorbées sur sa surface.

Nous avons ainsi étudié le processus d'adsorption entre des molécules de type métalloporphyrine et une surface de graphène dans le but d'étudier les modifications des propriétés électroniques du graphène due à cette adsorption. Nous avons exploré et identifié, dans un premier temps, les structures les plus stables et constaté que le processus d'adsorption était hautement dirigé par des interactions de type van der Waals. L'ouverture de gap engendrée par cette adsorption a été calculée et comparée à des valeurs expérimentales pour certains systèmes avec un bon accord, montrant ainsi que les porphyrines sont de bons candidats pour l'ouverture de ces gaps électronique sur les surfaces de graphène. Nous avons identifié deux cas de figures distincts liés à une adsorption très largement contrôlée par la taille des rayons atomiques, l'occupation des orbitales  $3d$  et la structure du squelette de la porphyrine.

Nous avons vu que pour un rayon atomique du métal important, le processus d'adsorption est guidé par celui-ci (cas du titane), tandis que pour un rayon beaucoup plus petit (cas du zinc) le processus est cette fois-ci guidé par le squelette de la porphyrine et ses substituants phényles. L'analyse des propriétés électroniques par DOS et PDOS ont également montré que l'ouverture du gap était vraisemblablement corrélée à la proximité des orbitales  $d$  du métal et du niveau de Fermi.

Cette étude se poursuit actuellement avec le design de nouveaux systèmes moléculaires à base de métalloporphyrines ou composés de deux groupements triazine bi-substitués par des chaînes alkyles et séparés par un benzène, afin d'une part, de favoriser les interactions

## Conclusion Générale

---

de type  $\pi$ -stacking entre les plans de graphène et les cycles aromatiques de la molécule, et d'autre part les forces de dispersion de London entre les chaînes alkyles et la surface du graphène. Les chaînes alkyles peuvent également servir à établir une interaction entre molécules par inter-digitation et ainsi favoriser la cristallisation et la formation d'une couche mince à la surface du graphène tout en évitant l'arrangement intermoléculaire de type « pelote statistique ». De plus, la présence d'atomes d'azote induit un transfert de charges, ne perturbant que faiblement la structure du graphène et pouvant induire un dopage de type n. Nous nous sommes également intéressés à une autre facette de ce biocapteur avec une étude autour de l'interaction biologique. Ici l'étude réside autour de l'interaction entre des composés polluants que sont le 2.4-D et le diclofenac, avec leurs immunoglobulines cibles. Les structures de ces édifices biologiques n'étant pas connu, une première approche par amarrage moléculaire croisé a permis de définir une structure consensus pour une immunoglobuline adéquat. Nous avons vérifié que l'interaction du 2.4-D et du diclofenac à l'intérieur de cette immunoglobuline permettait de laisser libre, vers l'extérieur de la molécule, une partie permettant le greffage sur une surface grâce à des réactions de chimie click impliquant des diazonium. Il s'agit d'une stratégie très bien maîtrisée expérimentalement au sein de notre laboratoire. Nous avons également investigué la taille optimale de la chaîne carbonée, entre le ligand d'intérêt et l'accroche à la surface, à prendre en compte pour ne pas engendrer de gêne stérique entre l'immunoglobuline et la surface d'accroche.

Dans un second projet, nous nous sommes intéressés à un système composé de trois parties, destiné à la lutte contre des agents pathogènes dangereux tels que *Staphylococcus Aureus*, et plus largement contre les maladies nosocomiales. Ce système est composé d'une partie accroche permettant de lier l'édifice à une surface, d'une partie clivable qui peut être coupé spécifiquement par une enzyme du staphylocoque doré, venant ainsi libérer dans le milieu la troisième partie du système qui est antimicrobienne. Expérimentalement, ce système tribloc fonctionne très bien en solution mais devient inefficace lorsqu'il est greffé sur une surface.

Nous nous sommes ainsi intéressés à ce dispositif en solution et sur surface grâce à la modélisation moléculaire afin de comprendre pourquoi cette perte d'efficacité a lieu. Deux idées principales ont été étudiées, avec tout d'abord la capacité de l'enzyme de surface du



## Conclusion Générale

---

staphylocoque à réaliser le clivage nécessaire à la libération du peptide antimicrobien dans le milieu, y compris lorsque le système tribloc est adsorbé sur une surface.

Nous avons mis en lumière, dans un premier temps, le processus de clivage du système par l'enzyme qui est un mécanisme connu de protéase à sérine, largement étudié dans la littérature. Nous avons ainsi constaté que même accroché sur la surface, tous les prérequis structuraux à cette coupure étaient présents dans notre système du côté du peptide clivable. En revanche, une gêne stérique très importante entre l'enzyme et la surface d'or rend cette coupure totalement impossible.

Nous avons également constaté que la cateslytine (partie antimicrobienne) possédait elle aussi une forte affinité pour la surface d'or utilisée, provoquant une chute complète du système tribloc sur la surface et non uniquement une adsorption par la partie d'accroche. Une étude de la cateslytine seule sur surface d'or a aussi confirmé cette forte affinité.

Cette double difficulté explique raisonnablement l'absence d'efficacité lorsque le système tribloc est greffé sur une surface. Ainsi une double solution serait à la fois d'empêcher le système tribloc de chuter entièrement sur la surface et de forcer une interaction uniquement par l'intermédiaire de la séquence d'accroche, permettant de se prémunir de la gêne stérique et d'inciter la cateslytine à être libérée dans le milieu et non à s'adsorber sur la surface.

A partir des conclusions formulées dans ce manuscrit, nous pourrions envisager des améliorations et extrapolations dans le cadre des deux projets.

Les études menées au niveau électronique, relatives aux métalloporphyrines, pourraient s'étendre pour l'intégralité des métaux de transition afin de cataloguer rigoureusement les propriétés de chacun et prévoir le design de systèmes spécifiques en fonction d'une application visée.

Par rapport aux revêtements antibactériens, il serait intéressant de mettre en jeu des solutions pour se prémunir de l'adsorption de la cateslytine sur la surface d'or. Nous pourrions par exemple penser à fonctionnaliser la surface au préalable avec des groupements chargés positivement afin de provoquer une répulsion entre la cateslytine et ce revêtement. Le peptide tribloc serait ainsi éloigné et accessible à la fois pour le clivage et à la fois pour la libération en solution du peptide antimicrobien. Les études réalisées sur surface d'or et de quartz pourraient également être étendues à d'autres types de surface

## Conclusion Générale

---

tels que le dioxyde de titane par exemple. Pour cela une nouvelle étude préalable afin de paramétrer correctement le champ de force pour une telle surface sera nécessaire.

Nous pourrions améliorer nos modèles, notamment pour la surface de verre, en construisant un modèle autre que celui du quartz pour représenter ce type de surface.

Enfin nous pourrions poursuivre nos études en utilisant un champ de force polarisable.

Résumé de la thèse en Français :

La confection de dispositifs impliquant des biomolécules, notamment dans le cadre de la détection (biocapteurs) ou de la protection contre des pathogènes (revêtements antimicrobiens), compte toujours un grand nombre d'interrogations notamment à l'échelle atomique. Dans ce contexte, nous avons utilisé les outils de la modélisation moléculaire afin de réaliser des études multi-échelles (à la fois en quantique et en mécanique moléculaire) pour étudier des systèmes (expérimentaux) impliquant des biomolécules et solutionner des problématiques. L'étude a été menée au sein de deux projets.

Dans le cadre du premier d'entre eux, nous nous sommes tout d'abord intéressé à l'optimisation d'un biocapteur impliquant un transistor à effet de champ de type EGFET, en nous concentrant plus particulièrement sur le canal semi-conducteur du transistor. Dans un second temps, nous avons réalisé une étude autour de l'interaction biologique et spécifique du biocapteur.

Dans le cadre du second projet, nous nous sommes intéressés à un revêtement antimicrobien. Celui-ci s'appuie sur le greffage d'un peptide comportant une séquence d'accroche, une séquence antimicrobienne ainsi qu'un site clivable par une enzyme spécifique au pathogène que l'on souhaite traiter. En présence de ce dernier uniquement, le peptide antimicrobien est ainsi libéré dans le milieu. Bien que ce système fonctionne parfaitement en solution, ses propriétés bactéricides sont perdues lorsqu'il est greffé sur une surface, une étape indispensable pour une utilisation dans le domaine biomédicale. Nous avons ainsi étudié ce système grâce à la modélisation moléculaire afin de comprendre la perte de ces propriétés.

Abstract :

The tailoring of devices involving biomolecules, for applications such as the detection (biosensors) or protection against pathogens (antimicrobial coats), still introduce several interrogations at an atomic point of view. In this context, we used molecular modelling tools in order to realize multi-scale studies (quantic level and molecular mechanics level) about experimental systems and solve issues. We interested in two projects.

In the first one, we firstly focused on biosensor involving field effect transistor (EGOFET type), by studying the optimization of the semi-conductor channel. Then we interested in the specific biological interaction of the biosensor.

In the second one, we interested in an antimicrobial coat. This device is composed by a peptide containing three parts: an anchoring one, a cleavable one which can be cut specifically by a surface protease of the target and so, release the last peptide in the area which involves antimicrobial properties. The system is very efficient in solution but when it's grafted on a surface, antimicrobial properties disappear. Consequently, we used molecular modelling tools in order to prospect those antimicrobial properties loss.