

Projet EVAMINTOX

EVALUATION BIOPHYSICOCHIMIQUE ET MOLÉCULAIRE DE LA TOXICITÉ DES NANOPARTICULES AUX INTERPHASES BACTÉRIENNES

Le projet vise à développer une méthodologie pour évaluer in situ –à l'échelle nanométrique et micronique - les mécanismes sous-jacents de l'action toxique des nanoparticules de TiO₂ (NPs, P25 Evonik-Degussa, \approx 25 nm) sur des surfaces bactériennes. À cette fin, nous déterminerons dans un premier temps la mobilité électrophorétique des bactéries présentant ou non des structures lipopolysaccharide (LPS) (mutants KEIO E. coli JW3601 (Δ rfaJ), JW3596 (Δ rfaC) et JW3605 (Δ rfaP)) et exposées à des nanoparticules (0 à 50 mg / L) sur des périodes allant de 0 à 20 heures. L'utilisation de formalismes développés dans notre groupe sur l'électrocinétique de biosurfaces molles, permettra l'identification des processus conduisant à la modification des surfaces bactériennes par abrasion, exulcération et / ou perforation. Nous quantifierons ensuite les dommages aux surfaces cellulaires par microscopie à force atomique (AFM) en réalisant:

- 1) une analyse fine de la morphométrie cellulaire en milieu liquide, avec une résolution de quelques nanomètres, et
- 2) la cartographie spatiale –à l'échelle de la cellule unique– des propriétés nanomécanique, hydrophobe et osmotique des bactéries.

Sur la base de la théorie que nous avons développée pour l'interprétation des courbes de force AFM, nous pourrions quantifier à chaque pixel sondé de la surface cellulaire, la relation -en fonction du temps et de la concentration en nanoparticules- entre l'élasticité de la membrane, la pression de turgescence et l'hydrophobie. Cette stratégie permettra d'identifier les zones préférentielles de la surface cellulaire où les nanoparticules agissent. Ces signatures spatiales et cinétiques de l'action des nanoparticules sur la surface des cellules permettront de définir des indicateurs reflétant les stades précurseurs de toxicité. Ils seront discutés en relation avec la nature de la surface cellulaire avant exposition, ce qui rendra possible l'évaluation des effets dits de barrière. Tous les résultats obtenus selon la méthode mentionnée ci-dessus seront comparés à des données de toxicité collectées via des tests de viabilité effectués au niveau de la population cellulaire en utilisant la cytométrie de flux [évaluation du potentiel de membrane (DiBAC4 (3)), de l'intégrité de la membrane (iodure de propidium / étiquetage Syto9 ou direct / Dead Test BacLight), mesure de la respiration (étiquetage CTC) et de l'activité d'estérase (FDA / CFDA)].

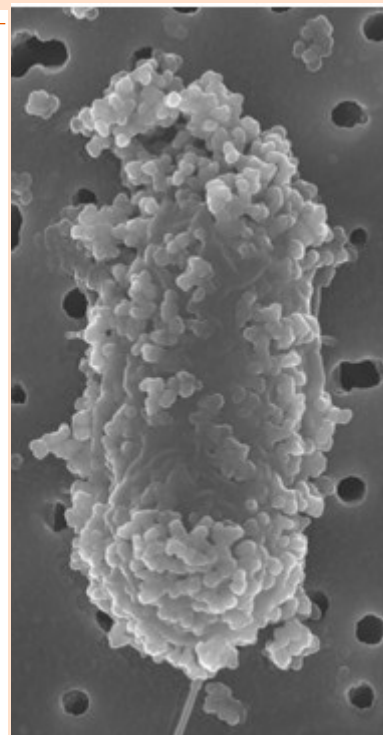
PARTENAIRES



UMR 7360 - Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux

Porteur: **Jérôme F.L. Duval**, physico-chimiste de formation, est Directeur de Recherche CNRS au Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux (LIEC, Vandœuvre-lès-Nancy). Ses recherches portent sur la compréhension mécanistique des processus réactifs aux interfaces complexes naturelles, telles que celles développées par les microorganismes, vis-à-vis de composants d'intérêts socio-économiques comme les nanoparticules ou les métaux.

Partenaires: Audrey Beaussart, Angelina Razafitianamaharavo, Céline Caillet, Bénédicte Sohm, Isabelle Bihannic, Pascale Bauda, Christophe Pagnout,



PUBLICATIONS

Sohm et al., **Proteomics** 2015, 15, 98.

Pagnout et al., **Colloids and Surfaces B** 2012, 92, 315.

Duval et al., **Current Opinion in Colloid and Interface Science** 2010, 15, 184.

Polyakov et al., **PLoS ONE** 2011, 6, e18887.

Francius et al., **PLoS ONE** 2011, 6, e20066.

Jacquot et al., **Journal of Biomedical Nanotechnology** 2014, 10, 3361.

Jacquot et al., **Nanoscale** 2014, 6, 12665

EN IMAGE



Aide apportée par la Fondation Rovaltain: 50 000€