

Développement de supports solides fonctionnalisés par des aptamères pour l'analyse d'ions présents à l'état de trace dans des échantillons complexes

De nombreux ions métalliques sont reconnus comme essentiels au bon fonctionnement de notre organisme, mais certains tels que les ions cadmium ou plomb sont eux nocifs, même à l'état de traces. D'autres ions tels que les ions cuivre peuvent s'avérer nocif lorsqu'un déficit ou un excès est constaté dans l'organisme. Des normes et seuils de normalité ont donc été fixés, notamment dans les denrées alimentaires, mais aussi dans les matrices biologiques comme le sang. Il est alors nécessaire de pouvoir quantifier ces métaux à l'état de traces dans des matrices complexes. Afin de pallier les limites en termes de performances des instruments d'analyse élémentaire comme le manque de spécificité ou encore la sensibilité aux effets de matrices, une étape préalable de traitement de l'échantillon est nécessaire, telle que l'extraction sur phase solide. Cependant les supports conventionnels manquent de spécificité, entraînant la co-extraction d'autres ions. Pour combler ce manque de spécificité, de nouveaux supports hautement spécifiques sont en cours de développement, tels que les polymères à empreintes ioniques, dont le potentiel à d'ores et déjà été démontré mais dont la synthèse et la mise en œuvre peuvent s'avérer complexes. L'objectif de cette thèse est d'investiguer l'utilisation d'aptamères, de simples brins d'ADN ou d'ARN, afin de développer des supports d'extraction hautement spécifiques et sélectifs aux ions métalliques. Si leur potentiel a déjà été démontré pour l'extraction de molécules organiques, peu de travaux concernent à ce jour l'extraction d'ions métalliques tels que ceux ciblés dans cette étude à savoir les ions cadmium, plomb et cuivre. Après une étude bibliographique portant sur l'utilisation d'aptamères spécifiques de ces ions métalliques, notamment dans le cadre du développement de capteurs, des séquences d'intérêt ont été sélectionnées pour chacune des cibles. Ces séquences ont été greffées de manière covalente sur de la Sépharose activée CNBr. Après avoir évalué la capacité théorique des supports obtenus par la mesure des taux de greffage, une étude approfondie de l'effet des milieux de percolation et de lavage sur la rétention des ions ciblés a été réalisée grâce à la mesure de chacune des fractions en ICP-MS, démontrant la forte influence des ions présents dans le milieu sur la spécificité et la sélectivité. Ces deux paramètres ont été étudiés respectivement par l'étude de la rétention d'autres cations divalents sur les supports greffés par les aptamères spécifiques et des ions ciblés sur des supports greffés par des séquences dites de contrôle, à savoir n'ayant pas d'affinité connue pour les ions ciblés. Après optimisation des protocoles pour chacun des supports les plus prometteurs permettant d'extraire l'un des ions cibles, les capacités des supports ont été déterminées. Enfin, les supports ont permis avec succès l'extraction des ions ciblés d'échantillons réels tels que le sérum, illustrant le fort potentiel des aptamères pour l'extraction d'ions métalliques.