

N° d'ordre : 42506

# SYNTHESE DES ACTIVITES DE RECHERCHE POUR L'OBTENTION DE L'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

En Sciences Physiques

présentée à

L'Université de Lille 1

Par

Yannick Coffinier

**Fabrication et fonctionnalisation de nanostructures pour des  
applications santé et environnementales.**

Présentée le 15 décembre 2017 devant la commission d'examen composée de :

Rapporteurs : Jean-Jacques Gaumet - Professeur à l'Université de Lorraine  
Christian Bergaud - Directeur de recherche CNRS - LAAS - Toulouse  
Myrtil Kahn - Chargée de recherche CNRS - LCC - Toulouse

Examineurs : Tuami Lasri - Professeur à l'Université de Lille  
Vincent Thomy - Maître de conférence à l'Université de Lille

Garant : Rabah Boukherroub - Directeur de recherche CNRS - IEMN - Lille

Invitée : Christine Enjalbal - Professeure à l'Université de Montpellier

## Sommaire

---

Préambule - Nanotechnologies pour la santé et l'environnement .....	5
Mon parcours universitaire et professionnel .....	6
Synthèse de carrière.....	8
Curriculum vitae .....	8
Encadrement doctoral et scientifique .....	9
Co-encadrements de thèse .....	9
Co-encadrements de Post-doc .....	10
Encadrement de Stage d'étudiant en école d'ingénieur et Masters.....	10
Enseignement, formation et diffusion de la culture scientifique.....	10
Enseignement.....	10
Vulgarisation de la recherche.....	10
Travaux d'expertise .....	11
Participation à des jurys de thèse .....	11
Travaux d'expertise .....	11
Participations à des contrats de recherche.....	11
Projets Région.....	11
Projets universitaires.....	12
Projets nationaux.....	12
Projets internationaux.....	12
Projets avec sociétés privées.....	12
Production scientifique .....	13
Publications dans des revues avec comité de lecture .....	13
Chapitres de livres .....	20
Congrès avec comité de lecture avec actes.....	20
Congrès, GdR, Workshop à comité de lecture sans actes .....	23
Journées thématiques .....	25
Séminaires .....	25
Partie 1 - Fabrication de micro et nanostructures .....	27
1.1. Croissance de nanofils - "Chemical vapor deposition (CVD)" - "Bottom-up" .....	28
1.2. Gravure sèche - Reactive ion etching (RIE).....	31
1.2.1. Nanofils de diamant .....	32
1.2.2. Nanofils de silicium - "black silicon" (gravure SF <sub>6</sub> /O <sub>2</sub> ) .....	35
1.3. Gravure humide -Metal assisted chemical etching "MACE"- .....	36
Partie 2 Fonctionnalisations de surfaces et quelques applications .....	39
2.1. La voie organique .....	39
2.1.1 Native chemical ligation (NCL).....	40
2.1.2. Formation de liens semicarbazone.....	40
2.1.3. La chimie "click" - Réaction de Huisgen - Cycloaddition 1,3-dipolaire .....	41
2.1.4. La photochimie .....	42

2.2 . La voie inorganique .....	43
2.2.1. L'immunodétection .....	43
2.2.2. Développement d'interfaces nanostructurées pour la spectroscopie Raman exaltée (SERS).....	44
2.2.3.Nanofils de silicium pour l'environnement .....	45
Partie 3 - Développement de surfaces superhydrophobes (SH), omniphobes (SO) et SLIPS et leurs applications.	51
3.1. Développement de surfaces omniphobes (SO).....	52
3.2. Développement de surfaces SLIPS - Slippery liquid infused porous surface.....	54
3.3. Utilisation des surfaces SH pour le déplacement de goutte de liquide par Electromouillage sur diélectrique (EWOD) .....	55
3.3.1 Surfaces superhydrophobes pour le déplacement EWOD .....	55
3.3.2. Collecte de particules .....	56
3.3.3. Déplacement de solutions protéiques par EWOD – Limitation du phénomène de « biofouling ».....	57
3.4. Autres applications des surfaces SH .....	58
3.4.1 Isolation cellulaire grâce au contraste de mouillabilité de surface.....	58
3.4.2. Récupération d'énergie en utilisant la microfluidique .....	59
Partie 4 - Développement d'interfaces nanostructurées pour la désorption/ionisation par laser et l'analyse en spectrométrie de masse (SALDI-MS) de petits composés. ....	60
4.1. Les surfaces SALDI .....	63
4.2. Mécanisme et facteurs pouvant influencer les performances.....	67
4.3. Nanofils/nanostructures de Si pour la LDI-MS .....	69
4.4. Développement de surfaces SALDI-MS d'affinité.....	73
4.5. Détection de biomarqueurs dans le sérum humain et d'antibiotiques par SALDI-MS. ....	76
4.5.1.Les CNWs .....	76
4.5.2.MoS <sub>2</sub> /TiO <sub>2</sub> /SiNWs .....	79
4.6. Autres matériaux nanostructurés pour la LDI-MS.....	81
4.7. Formation d'ions par photoclivage et analyse en MS .....	81
4.8. Utilisation de surfaces périodiques pour la LDI-MS .....	85
4.9. Amélioration du confinement thermique .....	87
4.9.1. Nanostructuration de films minces (2D) .....	88
4.10. Surface SALDI couplée à la microfluidique digitale (EWOD) - Intégration dans un laboratoire sur puce... 93	
4.10.1. Intégration dans un système microfluidique .....	96
4.10.2. Quelques limitations.....	96
4.11. Surfaces duales pour détections couplées .....	99
4.11.1. Couplage SPR-spectrométrie de masse pour la détection de toxines biologiques .....	99
4.11.2.Couplage Electrochimie - Spectrométrie de masse sur les CNWs .....	103
4.11.3. Couplage SERS - Spectrométrie de masse .....	105
Conclusions.....	106
Conclusion générale du mémoire.....	107
Partie 5 - Projets à futur ou long terme .....	108
5.1. Applications des nanostructures pour la LDI-MS - Continuité de mon projet principal .....	108
5.1.1. La détection de neurotoxiques par spectrométrie de masse .....	108

5.1.2. Applications à la détection intracellulaire - Collaboration avec l'Institut des biomolécules Max Mousseron de Montpellier (équipe de C. Enjalbal). .....	113
5.1.3. "Black metal" pour la LDI-MS - Equipex LEAF.....	116
5.2.1 Surface "SLIPS" contre l'encrassement de protéines de lait des lignes de production de l'industrie laitière. ....	117
5.3. Développement de capteurs optiques utilisant des nanostructures .....	118
5.3.1 Microrésonateur optique en silicium poreux pour la détection de COVs et application au diagnostic médical (Collaboration avec le laboratoire FOTON, J. Charrier).....	118
5.3.2. Graphène pour la détection d'ADN circulants par la technologie SEEC (société Nanolane, plateforme de diagnostic de pathologies génétique Lille2). ....	121
5.4. Capteurs pour les neurosciences - Culture et étude d'organoïdes (minicerveau) dans un système de type laboratoire sur puce.....	124
Références.....	126

## Préambule - Nanotechnologies pour la santé et l'environnement

Les nanosciences et les nanotechnologies font depuis plus de vingt ans l'objet de travaux de recherche à la confluence de nombreuses disciplines scientifiques et technologiques. En raison de leurs propriétés particulières à l'échelle nanométrique, les nanotechnologies permettent d'envisager aujourd'hui et à l'avenir de nouvelles fonctions jusqu'ici inimaginables. Fabriquer, observer et manipuler des nano-objets; les étudier afin de comprendre leurs propriétés et leurs interactions avec leur environnement permet d'envisager le développement des applications dans tous les champs technologiques. De la nanoélectronique, aux nanomatériaux en passant par la nanomédecine ou encore les nanobiotechnologies, les champs d'applications sont très vastes. Si certaines potentialités des nanotechnologies relèvent encore aujourd'hui de prospective voire de la science fiction, d'autres apportent déjà la démonstration d'un saut technologique éprouvé qui pourraient répondre à des enjeux majeurs dans le domaine de l'énergie, de la chimie et des capteurs, des matériaux, de l'information et des communications, de la biologie, de la santé et de l'environnement .

En matière de remédiation en particulier, les problématiques principales se focalisent sur la restauration de la qualité des sols ou de l'eau (eaux usées, contaminées...) avec à la clé une restauration de la biodiversité. On parle dans ce cas de remédiation durable. Le développement de nouveaux outils issus des nouvelles technologies notamment des biotechnologies, de la chimie et des nanotechnologies associées au génie écologique est donc crucial pour la détection et l'élimination de certains types de polluants (nanofiltration, photocatalyse de polluants...). Cependant, on ne peut parler d'environnement sans discuter du problème de la gestion des ressources énergétiques disponibles. En effet, Les inadéquations entre les besoins énergétiques et les ressources disponibles demandent un effort considérable pour la mise au point de dispositifs robustes, efficaces et fiables de stockage et de conversion. Là encore, les nanotechnologies sont impliquées dans les dispositifs énergétiques du futur : cellules photovoltaïques, microbatteries, supercondensateurs, récupération d'énergie (thermoélectricité, microfluidique).

L'avènement des nanotechnologies dans le domaine de la santé a permis le développement de nouveaux outils performants pour le domaine médical. Dans ce cas, l'exploitation des propriétés physiques, chimiques ou biologiques de certains nanomatériaux autorisent des approches très novatrices ouvrant la possibilité de détecter plus tôt certaines maladies, d'améliorer de façon drastique le diagnostic (*in vivo* et *in vitro*), les thérapies et les approches de médecine régénératrice. On parle alors de nanomédecine aux potentialités multiples :

- Comprendre les mécanismes biologiques à l'origine de pathologies.
- Détecter et diagnostiquer de manière précoce certaines maladies (imagerie, biopuces...).
- Améliorer l'efficacité des traitements (ciblage des traitements pour limiter les effets secondaires) comme par exemple l'utilisation de l'hyperthermie, de la thérapie photodynamique ou encore de la vectorisation de molécules médicament.
- Assurer un suivi régulier du patient de manière délocalisée ("point of care analysis").
- Réaliser de l'ingénierie tissulaire (médecine régénératrice)
- Limiter les rejets et réactions inflammatoires après introduction d'implants nanostructurés ou recouverts de nanostructures.

Un des exemples récents est le séquençage d'ADN de patients pour le diagnostic médical à partir d'un système utilisant 512 nanopores en parallèle (MinION d'Oxford Nanopores Technologies, <https://nanoporetech.com/>), couplé à un système microfluidique dédié et pouvant se brancher sur un port USB d'un ordinateur portable. Ce système, de la taille d'un "smartphone", est actuellement en cours de validation/test dans de nombreuses plateformes de diagnostic médical et propose déjà un taux de confiance assez bon, même si encore perfectible.

À l'heure de l'avènement de la médecine personnalisée, ces nouvelles technologies permettront par exemple de déterminer de façon de plus en plus précise les caractéristiques d'un type de tumeur afin de préciser le diagnostic, de la traiter, lorsque cela est possible, avec une thérapie ciblée. Elles permettront également d'obtenir des marqueurs d'efficacité des traitements et de connaître l'évolution probable de la maladie, comme l'apparition de métastases, pour adapter le suivi. Un exemple récent est l'utilisation de sphéroïdes issus de biopsie de patient servant à tester l'efficacité d'un traitement médical (réponse au médicament, dose efficace...).

Bien entendu, on ne peut pas occulter l'impact potentiel des nanomatériaux sur l'environnement et la santé. À titre d'exemple, le débat sur l'innocuité supposée des nanotubes de carbone, qui est toujours d'actualité, faute de protocole standardisé et de modèle animal bien établi utilisés dans les études de toxicité menées. De nombreux questionnements se posent alors sur ces aspects éthiques et sanitaires qui sont aujourd'hui pris en compte dans les appels à projet scientifique dédiés (H2020, ANR...). La réglementation des produits issus de la nanomédecine sont d'ailleurs strictement soumis à la même réglementation que les dispositifs médicaux et médicaments classiques. Ils doivent faire l'objet d'une caractérisation, d'une évaluation de leur potentielle toxicité et de plusieurs phases d'essais cliniques avant de pouvoir obtenir l'Autorisation de Mise sur le Marché délivrées par les autorités compétentes.

Mon grand intérêt pour la biochimie, les biotechnologies et la santé et mon appétence pour les nanotechnologies ont toujours guidé mes choix de carrière et mon parcours professionnel. Cela m'a permis de travailler depuis une quinzaine d'années maintenant dans ce cadre scientifique interdisciplinaire.

## **Mon parcours universitaire et professionnel**

De part mon parcours universitaire dans les domaines de la biochimie et de la biologie moléculaire et mon grand intérêt pour les innovations technologiques, j'ai fait le choix d'un troisième cycle au sein de l'Université de Technologies de Compiègne (UTC). Mon stage de recherche de DEA en Génie Enzymatique, Bioconversion et Microbiologie a été réalisé au sein de l'UMR 6022 dirigée par D. Thomas. Le projet de recherche portait sur l'étude de la liaison à la membrane cellulaire de la Neurocalcine delta-acylée par la technique de la résonance plasmonique de surface. Mon travail doctoral réalisé dans le Laboratoire d'Interactions Moléculaires et des Technologies de Séparation (LIMTechS) sous la co-direction du Prof. M. A. Vijayalakshmi et du Dr. C. Legallais portait sur le développement de nouveaux supports chromatographiques d'affinité à visée intégrative dans un système d'élimination extracorporelle de biomolécules pathogènes du sang. Cette technologie a été validée dans le cadre de maladies auto-immunes (Lupus Erythémateux en particulier). Cette thèse a été menée en collaboration avec la

société BIAseparation (Slovénie), le service de transfusion de l'hôpital de Compiègne, le service d'Hémodialyse de l'hôpital Nord d'Amiens et l'Institut supérieur d'agronomie de Beauvais (ISAB). Il s'agissait alors de fabriquer des modules de filtration en membranes fibres creuses faites en PEVA puis de les modifier chimiquement pour le greffage de ligands pseudobiospécifiques (petits ligands mimant la bioaffinité) afin de retirer les immunoglobulines G autoimmunes du sang. Cet environnement a été propice à des échanges internationaux permettant de mêler à la fois l'approche scientifique et expérimentale sur le développement de nouvelles technologies pour le domaine médical.

Mon expérience de recherche post-doctorale a été menée dans le laboratoire du Prof. S. Oscarsson à l'Angström Institute en lien avec le "BioMedical center" (BMC), tous deux situés à Uppsala en Suède. Dans ce cadre, j'ai optimisé des techniques d'immobilisation de sondes biologiques sur surfaces fonctionnalisées (Si/SiOx) afin d'étudier les interactions protéine-ligand par microscopie à force atomique (AFM), ellipsométrie et spectroscopie des photoélectrons à rayon X (XPS). J'ai ainsi pu faire mes premières armes en chimie de surface et en méthodes de caractérisation de surface (AFM, XPS, ellipsométrie). J'ai pu également avoir un avant-goût du travail en salle blanche.

Enrichi de cette expérience très formatrice dans le domaine des nanotechnologies, j'ai eu l'opportunité d'intégrer l'Institut d'Electronique, de Microélectronique et de Nanotechnologie (IEMN) lors d'un premier contrat post-doctoral dans l'équipe Physique de l'IEMN (Villeneuve d'Ascq) sous la direction de Bruno Grandidier suivi d'un second à l'Institut de Biologie de Lille sous la direction d'O. Melnyk dans le cadre d'un projet Réseau des micro et nanotechnologies (RMNT) et d'un projet région Nord-Pas de Calais "Puce nano3D", respectivement. Le projet RMNT consistait en la mise au point de biopuces à peptides sur différents types de surfaces (silicium, verre, nitrure de silicium...) pour le diagnostic médical de maladies infectieuses (Hépatite C et herpès). Le projet Puce Nano3D, quant à lui, visait à étudier l'influence de la rugosité de surface sur la réponse optique (fluorescence) dans le cadre de biopuce à ADN. Par la suite, j'ai rejoint, en tant que post-doctorant, l'équipe NanoBioInterfaces dirigée par R. Boukherroub dans le cadre du plan de renforcement de la recherche dans la région Hauts de France au sein de l'Institut de Recherche Interdisciplinaire (IRI) qui est dirigé alors par B. Vandenbunder. En 2008, mon recrutement au CNRS est effectif en tant que chargé de recherche 2<sup>ième</sup> classe dans la section 14 - Chimie de coordination, catalyse, interfaces et procédés. Depuis 2015, notre groupe NanoBioInterfaces rejoint l'IEMN en intégrant le département MNMB (Micro-nanotechnologies pour la microfluidique et la biologie).

Dans ce mémoire est présentée une synthèse de mon activité de recherche que je ferai débiter au moment de mon arrivée en tant que chercheur post-doctorant dans l'équipe NanobioInterfaces dirigée par R. Boukherroub, équipe qui, à l'époque, était localisée au sein de l'Institut de Recherche Interdisciplinaire (IRI-USR-3078). J'espère que ce mémoire contribuera à éclairer au mieux mon parcours professionnel et les éléments marquants de mes réalisations même si résumer 15 ans de recherche demeure toujours un exercice délicat!

### Curriculum vitae

---

#### **Yannick Coffinier**

44 ans

#### **Situation Actuelle :**

- **Chargé de Recherche 1<sup>ière</sup> classe (Section 14)** à l'Institut d'électronique, de microélectronique et de nanotechnologie (IEMN-UMR-8520 Villeneuve d'Ascq) dans l'équipe NanoBioInterfaces dirigée par R. Boukherroub (DR-CNRS) depuis 2008 et titularisé en 2009.
- **ACMO** (correspondant d'hygiène et sécurité) chimie de l'IRI de Novembre 2008 à Juin 2014.
- Membre du bureau de SCOPE (Semi-conducteurs et oxyde poreux) : créée en 2013, cette société savante a pour principal objectif de réunir au niveau national les acteurs français et francophones impliqués dans la recherche sur le silicium et les semi-conducteurs poreux et sur leurs applications.
- Membre du bureau "Atelier des nanofils"
- Expert à l'OMNT pour les micro et nanotechnologies pour la biologie.

#### **Spécialités :**

- Chimie de Surface
- Micro et nanofabrication
- Synthèse nanomatériaux (Silicium, diamant, graphène, ZnO...)
- Biochimie, biologie, biotechnologies
- Capteurs biologique et chimique (neurotoxiques, gaz (NOx)).
- Interactions liquide-surface, surfaces non mouillantes, microfluidique
- Spectrométrie de masse, SPR, SERS, Electrochimie
- Caractérisation de surface : AFM, MEB, XPS, FT-IR, Raman...

#### **Formation :**

1998-2002 : Doctorat de Biochimie, Label Européen, Université de Technologie de Compiègne.

1997-1998 : DEA en Génie Enzymatique, Bioconversion et Microbiologie, Université de Technologie de Compiègne.

#### **Intitulés des Postes occupés :**

2005 - 2008 : Post-doctorat à l'Institut de Recherche Interdisciplinaire (IRI-USR 3078).

2003 - 2005 : Post-doctorat à l'Institut d'Electronique, de Microélectronique et de Nanotechnologies (IEMN-CNRS, UMR8520).

2002 - 2003 : Post-doctorat à l'Ångström Institute et Biomedical Research Center (BMC), Uppsala, Suède.

### Co-encadrements de thèse

---

- 1 - Nicolas Verplanck (2004-2007, Université de Lille1) : Développement de microsystèmes EWOD sur surfaces hydrophobes et superhydrophobes. Directeur de thèse : J. C. Camart (Pr. Univ. Lille 1). Actuellement : Project Manager au CEA-LETI.
- 2 - Tao Xu (2006-2009, Université de Lille1) - Localized growth and characterization of silicon nanowires. Directeur de thèse : B. Grandier (DR CNRS). Actuellement : Prof. à Shangaï University.
- 3 - Gaëlle Piret (2007-2010, Université de Lille1-DGA) : Nanofils de silicium pour une analyse sensible de biomolécules par spectrométrie de masse et pour l'adressage fluide de cellules, en vue des applications laboratoires sur puces et biopuces. Directeur de thèse : R. Boukherroub (DR CNRS). Actuellement : Chargée de recherche à l'INSERM (Grenoble).
- 4 - Florian Lapierre (2007-2011, Université de Lille1) : Electromouillage sur diélectrique (EWOD) : conception et réalisation de dispositifs microfluidiques originaux sur surfaces superhydrophobes. Directeur de thèse : R. Boukherroub (DR CNRS IEMN). Actuellement : Chercheur à Trajan Scientific and Medical (Trajan) et l'Université de Tasmanie (UTAS). <https://www.gazettelabo.fr/breves/breves.php?id=4390>
- 5 - Phuong Nhung Nguyen (2007-2011, Université de Lille1) : Fabrication of nanostructured silicon substrates for the development of superomniphobic surfaces and surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry analysis of biomolecules. Directeur de thèse : R. Boukherroub (DR CNRS IEMN). Actuellement : Enseignant-chercheur au Petrovietnam University (Vung Tau City, Vietnam).
- 6 - Guillaume Perry (2009-2012, Université de Lille1) : Intégration d'un dispositif microfluidique digitale et d'un capteur SPR. Directeur de thèse : R. Boukherroub (DR CNRS IEMN). Actuellement Enseignant/Chercheur à l'UPMC.
- 7 - Ioana Silvia Hosu (Université de Lille1-DGA). Développement d'interfaces Au/graphène pour la détection couplée SPR-spectrométrie de masse de toxines biologiques. Soutenance prévue en 2018. Directeur de thèse : R. Boukherroub (DR CNRS).
- 8 - Abderrahmane Hamdi (Université de Bizerte, Tunisie). Fabrication de matériaux hybride à base de MoS<sub>2</sub> et de nanofils de silicium pour la photocatalyse et la la détection de petits composés par spectrométrie de masse. Directeur de thèse : H. Ezzaouia Prof. Univ. Bizerte (Tunisie). Soutenance prévue en 2018.
- 9 - Florent Fouché (Université de Lille1). Récupération d'énergie ("Streaming current") *via* des canaux microfluidique nanostructurés. Soutenu en 2017. Directeur de thèse : V. Senez (DR CNRS).
- 10 - Ievgen Kurylo (Université de Lille1). Electrical release of autocatalytic DNA system based on PEN DNA toolbox in microfluidic environment. Creation of concentration gradient for information processing in reaction-diffusion computing field. Directeur de thèse : L. Buchaillet (DR CNRS).
- 11 - Delphine Nonnon (Université de Lille2). Développement d'une plateforme microfluidique pour le développement de réseaux de neurones et de cellules gliales pour l'étude de maladie neurodégénérative (Alzheimer) et l'impact des traumatismes cérébraux. Etude de la transmission d'agrégats de protéines Tau. Directeur de thèse : L. Buée (DR CNRS).

## Co-encadrements de Post-doc

---

- 1 - Nabil Dendane (2008-2009) - Fonctionnalisation de nanofils de silicium pour la mesure d'activité enzymatique de l'héparanase par des dispositifs électrique (transistor à effet de champ). Projet ANR : Nanobiodétecteur. Actuellement : Chercheur chez NanoBio (Lyon).
- 2 - Martin Jönsson-Niedziółka - (2009-2012) - Utilisation de surfaces superhydrophobes pour la collecte de particules par un système microfluidique digital (EWOD).
- 3 - Alban Ferrier (2009-2010) - Nouveau capteur photovoltaïque à haut rendement et à bas coût à base de nanofils et de nanoparticules. Projet Réseaux électriques intelligents (REI). Actuellement : McF à l'UPMC.
- 4 - Palan Subramanian (2012-2014)- Fabrication de nanofils de diamant pour l'électrochimie. Actuellement : Chercheur contractuel à Polymer Nanohybrid Materials Laboratory (Séoul, Corée du Sud).
- 5 - Anna Susloparova (2016-2018). Fabrication de réseaux d'électrodes (MEA) pour l'étude de la transmission d'agrégats de protéines Tau. Projet financé dans le cadre du LABEX DISTALZ en collaboration avec le centre de recherche J. P. Aubert (Inserm-Lille2).

## Encadrement de Stage d'étudiant en école d'ingénieur et Masters

---

- 1 - Matinko Halasa (5<sup>ième</sup> année de Chimie, 2003) de la Faculté Polytechnique de Mons. Mise au point de biopuces à peptides sur Silicium pour la détection sérologique d'infections virales.
- 2 - Tao Xu (Master 2<sup>ième</sup> année MNT (Micro et NanoTechnologies), 2005) à l'Université des Sciences et technologies de Lille 1). Fabrication de nanocapteur à base de nanofils de silicium pour la détection électrique d'interactions biomoléculaires.
- 3 - 2 étudiants en projet N4 (4<sup>ième</sup> année de l'ISEN, Lille) 2006). Auto-assemblage de nanofils de silicium par diélectrophorèse et interactions biomoléculaires.
- 4 - Boubekour Redjal (Master 2<sup>ième</sup> année MNT (Micro et NanoTechnologies), 2005). Peignage de brins d'ADN sur silicium hydrophobe pour l'imagerie en nano-SIMS.

## Enseignement, formation et diffusion de la culture scientifique

---

### Enseignement

---

Depuis octobre 2008, je suis responsable d'un module Micro-Nanotechnologie à l'école d'ingénieur SupBiotech' (groupe Ionis). Ce module comprend : une partie micro-nanofabrication (10H), une partie microfluidique (15H) et une partie Nanotechnologies appliquées à la biologie/Médecine/biochimie (20H). J'ai eu depuis 2008 135 H d'enseignement/an (3 groupes, 5<sup>ième</sup> année) (cours magistraux) auxquels s'ajoutent quelques heures de soutenance de stages professionnels (~10H). Depuis 2012, j'ai souhaité réduire mon volume d'enseignement qui est passé à 90H/an.

### Vulgarisation de la recherche

---

- "Les rois de la nanoglisse" par J. F. Haït, Journal du CNRS, n°122 p.10, septembre 2007.  
<http://www2.cnrs.fr/presse/journal/3520.htm>

- "Tangled nanowires morph water droplet" by T. Simonite, NewScientist.com, Feb. 21 (2007).  
<http://www.newscientisttech.com/article/dn11229>.

- "Graphene? From any lab." ScienceDaily. ScienceDaily, 20 June 2012.  
<http://www.sciencedaily.com/releases/2012/06/120620133351.htm>.

- "Walking microdroplets collect viruses and bacteria", in ScienceDaily.com, June 8, 2011.  
<http://www.sciencedaily.com/release/2011/06/110608081704.htm>

## Travaux d'expertise

---

### Participation à des jurys de thèse

---

- Examineur lors de la soutenance de thèse de Mr. Mathieu Dupré : "Développements Méthodologiques en Spectrométrie de Masse LDI pour l'Analyse de Peptides" soutenue en novembre 2012, Université de Montpellier. Directeur de thèse : C. Enjalbal (Prof. Univ. Montpellier).

- Examineur lors de la soutenance de thèse de Mr. Brioux Durand : "Conception et réalisation d'une nouvelle génération de nano-capteurs de gaz à base de nanofils semi-conducteurs" soutenue en novembre 2016, Université Toulouse 3 Paul Sabatier. Directeur de thèse : G. Larrieu (CR CNRS).

## Travaux d'expertise

---

- Expertise de projets : ANR (AAP générique), Momentum (CNRS), projets régionaux.
- Expert à l'OMNT pour les micro et nanotechnologies pour la biologie.
- Relecture d'articles scientifiques pour les revues suivantes :

Analytical chemistry (ACS)

Applied materials & interface (ACS)

Analytical, Bioanalytical, Chemistry (Springer)

Surface science (Elsevier)

Applied surface science (Elsevier)

ChemComm (RSC)

Diamond related materials (Elsevier)

J. of Colloid & Interface science (Elsevier)

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (Elsevier)

Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects (Elsevier)

## Participations à des contrats de recherche

---

### Projets Région

---

- Nanotrami (2012) : Nanotransducteur à base de nanofils de Si. Porteur : A. Vlandas (CR CNRS).

-Singlemole (2012) : Développement d'un dispositif électrique pour la détection de la molécule unique. Porteur : N. Clément (CR CNRS).

- Puce Nano3D (2006-2007) : Conception de biopuces à ADN nanostructurées. Coll. Institut Pasteur de Lille (Prof. Y. Lemoine). Porteur : O. Melnyk (DR CNRS).

## Projets universitaires

---

- BQR (2013) : Mise au point de capteur ultrasensible à base de nanofils d'InAs. Porteur : R. Leturcq (CR CNRS).
- BQR singlemole (2013) : Développement d'un dispositif électrique pour la détection de la molécule unique. Porteur : N. Clément (CR CNRS).
- PEPS CNRS-Université de Lille (collaboration avec l'INSERM, laboratoire JPARC (éq. Luc Buée)) (2015). Développement d'une plateforme multiphysique pour étudier l'impact des traumatismes cérébraux (TBI) sur les neurones et leurs fonctions. Coll. Université de Mons (S. Gabriele). Porteur : F. Alibart (CR CNRS).

## Projets nationaux

---

- ANR PNANO Nanobiodétecteur (2005-2009) : Développement d'un biocapteur électrique à base de nanofils de silicium pour mesurer l'activité hépatoparasitaire. Porteur : D. Stiévenard (DR CNRS).
- RMNT (2003-2005) : Développement de biopuces à peptides pour la détection de l'hépatite C. Porteur : O. Melnyk (DR CNRS).
- ANR ECONOMICS (2018-2021) : Design de surfaces anti-encrassantes pour les industries agroalimentaires. Porteur : M. Jimenez (Prof. Univ. Lille1).
- ANR MidVOCS (2018-2021) : Circuit optique intégré à base de silicium poreux pour la détection de composés organiques volatiles dans le moyen infrarouge. Porteur : J. Charrier (McF Univ. Rennes).
- Financement par la MI-CNRS « Aux limites de l'instrumentation 2017 » : Détection ultra-sensible de composés organiques volatiles de gaz respiratoires. Porteur : J. Charrier (McF Univ. Rennes).

## Projets internationaux

---

- Defense Science and Technology Laboratory (DSTL - British Ministry of Defense) (2008-2009). Collecte de particules sur surface superhydrophobe par EWOD. Porteur : V. Thomy (McF Univ. Lille).
- Transfert technologique vers l'Université du Hertfordshire. (2012-2013) : Transfert de la technologie EWOD sur surfaces superhydrophobes. Porteur : V. Thomy (McF Univ. Lille).
- ANR PRCI (2018-2021) : Programmation Moléculaire pour la détection ultra sensible de marqueurs impliqués dans les maladies Neurodégénératives. Porteur : A. Vlandas (CR CNRS).

## Projets avec sociétés privées

---

- Société Axenis (spin-off de l'Institut Pasteur de Paris) pour la fabrication de membrane en PDMS pour la réalisation de l'Ellisport et la sélection de lymphocyte T d'intérêt thérapeutique (2012). Porteur : Y. Coffinier.
- Société Imabiotech (Imagerie par spectrométrie de masse) : mise au point d'un capteur immunologique sur surface nanostructurée pour une détection en spectrométrie de masse (2014). Porteur : Y. Coffinier.
- Société Nanolane : Développement d'un nouveau capteur basé sur la technique du contraste ellipsométrique de surface amplifié (SEEC) sur des surfaces graphène : Application à la détection d'ADN circulant (2016). Porteur : Y. Coffinier.
- Société Hybrigenics : Utilisation de nano-anticorps pour la biodétection (2016). Porteur : Y. Coffinier.

Publications dans des revues avec comité de lecture

---

**2002**

1) **Y. Coffinier**, C. Legallais and M. A. Vijayalakshmi. Separation of IgG from human plasma using thiophilic hollow fiber membranes. *Journal of Membrane Science*, 2002, 208, 13-22.

**2004**

2) **Y. Coffinier** and M. A. Vijayalakshmi. Mercaptoheterocyclic ligands grafted on PEVA membrane for the purification of IgG in a salt independent thiophilic chromatography. *Journal of chromatography B*, 2004, 808, 51-56.

3) Elkak, M. Bourhim, **Y. Coffinier** and M. A. Vijayalakshmi. Catalytic and DNA-Hydrolyzing Activities of Purified Immunoglobulins IgG from Patients sera with Autoimmune Disease by Pseudobiospecific Chromatography Using Histidyl-Aminohexyl-Sepharose. *Chromatographia*, 2004, 60.

**2005**

4) **Y. Coffinier**, C. Olivier, A. Perzyna, B. Grandidier, X. Wallart, J. O. Durand, O. Melnyk, and D. Stiévenard. Semicarbazide-Functionalized Si(111) surfaces for the site-specific immobilization of peptides. *Langmuir*, 2005, 21, 1489-1496.

5) N. Ardès-Guisot, J. O. Durand, M. Granier, F. Martin, A. Perzyna, **Y. Coffinier**, B. Grandidier, D. Stiévenard and X. Wallart. Trichlorosilane isocyanates as coupling agents for mild conditions functionalization of silica-coated surfaces. *Langmuir*, 2005, 21, 9406-9408.

6) C. Olivier, A. Perzyna, **Y. Coffinier**, B. Grandidier, D. Stiévenard, O. Melnyk, and J.O. Durand. Detecting the chemoselective ligation of peptides to silicon with the use of Cobalt-carbonyl labels. *Langmuir*, 2005, 22, 7059-7065.

**2006**

7) S. Szunerits, C. Jama, **Y. Coffinier**, B. Marcus, D. Delabouglise, and R. Boukherroub. Direct amination of hydrogen-terminated boron doped diamond surfaces. *Electrochem. Commun.*, 2006, 8, 1185-1190.

8) S. Szunerits, **Y. Coffinier**, S. Janel and R. Boukherroub. Stability of the Gold/Silica Thin Film Interface: Electrochemical and Surface Plasmon Resonance Studies. *Langmuir*, 2006, 22, 10716-10722.

9) P. Actis, M. Manesse, C. Nunes-Kirchner, G. Wittstock, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub and S. Szunerits. Localized electropolymerization on oxidized boron-doped diamond electrodes modified with pyrrolyl units. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2006, 8, 4924.

**2007**

10) **Y. Coffinier**, S. Szunerits, B. Marcus, R. Desmet, O. Melnyk, L. Gengembre, E. Payen, D. Delabouglise and R. Boukherroub. Covalent linking of peptides onto oxygen-terminated boron-doped diamond surfaces. *Diamond and related materials*, 2007, 16, 892-898.

11) **Y. Coffinier**, S. Szunerits, C. Jama, R. Desmet, O. Melnyk, B. Marcus, L. Gengembre, E. Payen, D. Delabouglise and R. Boukherroub. Peptide immobilization on amine-terminated boron-doped diamond surfaces. *Langmuir*, 2007, 23, , 4494-4497.

12) N. Verplanck, E. Galopin, J.-C. Camart, V. Thomy, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. Reversible Electrowetting on Superhydrophobic Silicon Nanowires. *NanoLetters*, 2007, 7, 813.

- 13) **Y. Coffinier**, S. Janel, A. Addad, R. Blossey, L. Gengembre, E. Payen and R. Boukherroub. Preparation of Superhydrophobic Silicon Oxide Nanowire Surfaces. *Langmuir*, 2007, 23, 1608-1611.
- 14) B. Gelloz, **Y. Coffinier**, B. Salhi, N. Koshida, G. Patriache and R. Boukherroub. Synthesis and Optical properties of silicon oxide nanowires. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 2007, 958.
- 15) **Y. Coffinier**, R. Boukherroub, X. Wallart, J. P. Nys, J. O. Durand, D. Stievenard and B. Grandidier. Covalent functionalization of silicon nitride surfaces by semicarbazide group. *Surface Science*, 2007, 601, 5492-5498.
- 16) N. Verplanck, **Y. Coffinier**, V. Thomy and R. Boukherroub. Wettability Switching Techniques on Superhydrophobic Surfaces (review invitée). *Nanoscale Res. Lett.*, 2007, 2, 577-596.

## **2008**

- 17) P. Brunet, F. Lapierre, V. Thomy, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. Extreme Resistance of Superhydrophobic Surfaces to Impalement: Reversible Electrowetting Related to the Impacting/Bouncing Drop Test. *Langmuir*, 2008, 24 (19), 11202-11208.
- 18) G. Piret, **Y. Coffinier**, C. Roux, O. Melnyk, and R. Boukherroub. Biomolecule and Nanoparticle Transfer on Patterned and Heterogeneously Wetted Superhydrophobic Silicon Nanowire Surfaces. *Langmuir*, 2008, 24 (5), 1670-1672.
- 19) T. Xu, J. P. Nys, B. Grandidier, D. Stievenard, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub, R. Larde, E. Cadel, and P. Pareige. Growth of Si nanowires on micropillars for the study of their dopant distribution by atom probe tomography. *Journal of Vacuum Science and Technology B - Microelectronics and Nanometer Structures*, 2008, 26 (6), 1960-1963.
- 20) S. Szunerits, S. A. Rich, **Y. Coffinier**, M.-A. Languille, P. Supiot and R. Boukherroub. Preparation and characterization of thin organosilicon films deposited on SPR chip. *Electrochimica Acta*, 2008, 53, 3910-3915.
- 21) G. Allan, S. Barbet, **Y. Coffinier**, C. Delerue, D. Deresmes, M. Diarra, H. Diesinger, B. Grandidier, L. Marcon, T. Melin, O. Melnyk, D. Stievenard, L. Wirtz, M. Zdrojek. Fundamental studies in nanosciences at the Institute of Electronics, Microelectronics, and Nanotechnology (IEMN). *Int. J. Nanotechnology*, 2008, 5, 631.

## **2009**

- 22) F. Lapierre, V. Thomy, **Y. Coffinier**, R. Blossey and R. Boukherroub. Reversible Electrowetting on Superhydrophobic Double-Nanotextured Surfaces. *Langmuir*, 2009, 25 (11), 6551-6558.
- 23) B. Salhi, F. Vaurette, B. Grandidier, D. Stievenard, O. Melnyk, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. The collagen assisted self-assembly of silicon nanowires. *Nanotechnology*, 2009, 20, 235601-235607.
- 24) E. Galopin, J. Barbillat, **Y. Coffinier**, S. Szunerits, G. Patriarche and R. Boukherroub. Silicon Nanowires Coated with Silver Nanostructures as Ultrasensitive Interfaces for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2009, 1 (7), 1396-1403

## **2010**

- 25) G. Piret, H. Drobecq, **Y. Coffinier**, O. Melnyk and R. Boukherroub. Matrix-Free Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry on Silicon Nanowire Arrays Prepared by Chemical Etching of Crystalline Silicon. *Langmuir*, 2010, 26 (2), 1354-1361
- 26) L. Marcon, C. Spriet, **Y. Coffinier**, E. Galopin, C. Rosnoblet, S. Szunerits, L. Heliot, P.-O. Angrand and R. Boukherroub. Cell Adhesion Properties on Chemically Micropatterned Boron-Doped Diamond Surfaces. *Langmuir*, 2010, 26 (19), 15065-15069.

- 27) L. Marcon, M. Wang, **Y. Coffinier**, F. Le Normand, O. Melnyk, R. Boukherroub and S. Szunerits. Photochemical Immobilization of Proteins and Peptides on Benzophenone-Terminated Boron-Doped Diamond Surfaces. *Langmuir*, 2010, 26 (2), 1075 -1080.
- 28) F. Lapierre, P. Brunet, **Y. Coffinier**, V. Thomy, R. Blossey and R. Boukherroub. Electrowetting and droplet impalement experiments on superhydrophobic multiscale structures. *Faraday Discuss. (RSC)*, 2010.
- 29) Y. Battie, O. Ducloux, P. Thobois, **Y. Coffinier** and A. Loiseau. Evaluation of sorted Semi-conducting Carbon nanotube films for gas sensing applications. *Comptes rendus Physique*. 2010, Volume 11, issues (5-6), pages 397-404.
- 30) A. Delimi, **Y. Coffinier**, B. Talhi, R. Boukherroub and S. Szunerits. Investigation of the corrosion protection of SiO<sub>x</sub>-like oxide films deposited by plasma-enhanced chemical vapor deposition onto carbon steel. *Electrochimica Acta*, 2010, 55, 8921-8927.
- 31) S. Ghodbane, T. Haensel, **Y. Coffinier**, S. Szunerits, D. Steinmüller-Nethl, R. Boukherroub, S. I.-U. Ahmed and J. A Schaefer. HREELS Investigation of the Surfaces of Nanocrystalline Diamond Films Oxidized by Different Processes. *Langmuir*, 2010, 26 (24), 18798-18805.
- 32) S. Szunerits, **Y. Coffinier**, E. Galopin, J. Brenner and R. Boukherroub. Preparation of boron-doped diamond nanowires and their application for sensitive electrochemical detection of tryptophan. *Electrochem. Commun.* 2010, 12, 438–441.
- 33) **Y. Coffinier**, E. Galopin, S. Szunerits and R. Boukherroub. Preparation of superhydrophobic and oleophobic diamond nanograss array. *J. Mater. Chem.*, 2010, 20, 10671-10675.
- 34) T. P. N. Nguyen, P. Brunet, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. Quantitative Testing of Robustness on Superomniphobic Surfaces by Drop Impact. *Langmuir*, 2010, 26 (23), 18369-73.
- 35) R. Dufour, M. Harnois, **Y. Coffinier**, V. Thomy, R. Boukherroub and V. Senez. Engineering Sticky Superomniphobic Surfaces on Transparent and Flexible PDMS Substrate. *Langmuir*, 2010, 26 (22), 17242-17247.

## **2011**

- 36) N. Megouda, **Y. Coffinier**, S. Szunerits, T. Hadjersi, O. ElKechaib and R. Boukherroub. Photocatalytic activity of silicon nanowires under UV and visible light irradiation. *Chem. Commun.*, 2011, 47, 991–993.
- 37) M. Jönsson-Niedziółka, F. Lapierre, **Y. Coffinier**, S. J. Parry, F. Zoueshtiagh, T. Foat, V. Thomy and R. Boukherroub. EWOD driven cleaning of bioparticles on hydrophobic and superhydrophobic surfaces. *Lab Chip*, 2011, 11, 490-496.
- 38) F. Lapierre, G. Piret, H. Drobecq, O. Melnyk, **Y. Coffinier**, V. Thomy and R. Boukherroub. High sensitive mass spectrometry analysis of peptides using EWOD/Matrix-free LDI-MS device. *Lab Chip*, 2011, 11, 1620–1628.
- 39) A. Delimi, E. Galopin, **Y. Coffinier**, M. Pisarek, R. Boukherroub, B. Talhi and S. Szunerits. Investigation of the corrosion behaviour of carbon steel coated with fluoropolymer thin films. *Surface and Coatings Technology*, 2011, 205, 4011-4017.
- 40) G. Piret, E. Galopin, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub, D. Legrand and C. Slomianny. Culture of mammalian cells on patterned superhydrophilic/superhydrophobic silicon nanowire arrays. *Soft Matter*, 2011, 7, 8642
- 41) A. Cabin-Flaman, A.-F. Monnier, **Y. Coffinier**, J.-N. Audinot, D. Gibouin, T. Wirtz, R. Boukherroub, H.-N. Migeon, A. Bensimon, L. Janniere, C. Ripoll and V. Norris. Combed Single DNA Molecules Imaged by Secondary Ion Mass Spectrometry. *Anal. Chem.*, 2011, 83, 6940-6947

42) O. Fellahi, M. R. Das, **Y. Coffinier**, S. Szunerits, T. Hadjersi, M. Maamache and R. Boukherroub. Silicon Nanowire Arrays-Induced Graphene Oxide Reduction Under UV Irradiation. *Nanoscale*, 2011, 3, 4662-4669.

## **2012**

43) I. Kaminska, M. R. Das, **Y. Coffinier**, J. Niedziolka-Jonsson, P. Woisel, M. Opallo, S. Szunerits and R. Boukherroub. Preparation of graphene/tetrathiafulvalene nanocomposite switchable surfaces. *Chem. Commun.*, 2012, 48, 1221-1223.

44) G. Perry, **Y. Coffinier**, V. Thomy and R. Boukherroub. Sliding droplets on superomniphobic zinc oxide nanostructures. *Langmuir*, 2012, 28, 389-395.

45) **Y. Coffinier**, S. Szunerits, H. Drobecq, O. Melnyk and R. Boukherroub. Diamond nanowires for highly sensitive matrix-free mass spectrometry analysis of small molecules. *Nanoscale*, 2012, 4, 231-238.

46) M. Dupré, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub, S. Cantel, J. Martinez and C. Enjalbal. Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry of Protein Tryptic Digests On Nanostructured Silicon Plates. *J. Proteomics*, 2012, 75, 1973-1990.

47) G. Piret, D. Kim, H. Drobecq, **Y. Coffinier**, O. Melnyk, P. Schmuki and R. Boukherroub. Surface-assisted laser desorption-ionization mass spectrometry on titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanotube layers. *Analyst*, 2012, 137, 3058-3063.

48) N. Megouda, G. Piret, E. Galopin, **Y. Coffinier**, T. Hadjersi, O. Elkechai and R. Boukherroub. Lithographically patterned silicon nanostructures on silicon substrates. *Applied Surface Science*, 2012, 258, 6007-6012.

49) C. Saadi, F. Ozanam, **Y. Coffinier**, C. Gabler, J. Brenner, R. Boukherroub, M. S. Medjram and S. Szunerits. Investigation of the corrosion behaviour of steel coated with amorphous silicon carbon alloys. *Surface & Coatings Technology*, 2012, 206, 3626-3631.

50) G. Perry, V. Thomy, M. R. Das, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. Inhibiting protein biofouling using graphene oxide in droplet-based microfluidic microsystems. *Lab Chip*, 2012, 12, 1601.

51) L. Marcon, A. Addad, **Y. Coffinier**, and R. Boukherroub. Cell micropatterning on superhydrophobic diamond nanowires. *Acta Biomaterialia*, 2012, 9, 4585-4591.

52) R. Dufour, G. Perry, M. Harnois, **Y. Coffinier**, V. Thomy, V. Senez and R. Boukherroub. From micro to nano re-entrant structures: Hysteresis on superomniphobic surfaces. *Colloid Polym. Sci.*, 2013, 291, 409-415.

53) N. Dendane, O. Melnyk, T. Xu, B. Grandidier, R. Boukherroub, D. Stiévenard and **Y. Coffinier**. Direct characterization of native chemical ligation of peptides on silicon nanowires. *Langmuir*, 2012, 28 (37), pp 13336-13344.

54) **Y. Coffinier**, N. Nguyen, H. Drobecq, O. Melnyk, V. Thomy and R. Boukherroub. Affinity surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for peptide enrichment. *Analyst*, 2012, 137, 5527-5532.

55) P. Subramanian, **Y. Coffinier**, D. Steinmüller-Nethl, J. Foord, R. Boukherroub and S. Szunerits. Diamond Nanowires decorated with metallic nanoparticles: a novel electrical interface for the immobilization of histidinylated biomolecules. *Electrochimica Acta*, 2012, 110, 4-8.

56) I. Kaminska, A. Barras, **Y. Coffinier**, W. Lisowski, S. Roy, J. Niedziolka-Jonsson, P. Woisel, J. Lyskawa, M. Opallo, A. Siriwardena, R. Boukherroub and S. Szunerits. Preparation of a Responsive Carbohydrate-Coated Biointerface Based on Graphene/Azido-Terminated Tetrathiafulvalene Nanohybrid Material. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2012, 4, 5386-5393.

57) I. Kaminska, M. R. Das, **Y. Coffinier**, J. Niedziolka-Jonsson, J. Sobczak, P. Woisel, J. Lyskawa, M. Opallo, R. Boukherroub and S. Szunerits. Reduction and functionalization of graphene oxide sheets using biomimetic dopamine derivatives in one step. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2012, 4, 1016-1020.

58) M. Dupré, C. Enjalbal, S. Cantel, J. Martinez, N. Megouda, T., Hadjersi, R. Boukherroub and **Y. Coffinier**. Comparative study of different silicon-based nanostructures for laser desorption ionization mass spectrometry detection of peptides mixtures. *Anal. Chem.*, 2012, 84, 10637-44.

### **2013**

59) **Y. Coffinier**, G. Piret, M. R. Das and R. Boukherroub. Effect of surface roughness and chemical composition on the wetting properties of silicon-based substrates. *Comptes rendus chimie*, 2013, 16, 65-72.

60) F. Lapierre, M. Jonsson-Niedziolka, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub and V. Thomy. Droplet transport by ElectroWetting: Lets get rough!. *Microfluidics and Nanofluidics*, 2013, 15, 327-336.

61) T. P. N. Nguyen, **Y. Coffinier**, V. Thomy and R. Boukherroub. Fabrication of silicon nanostructures using metal-assisted etching in NaBF<sub>4</sub>. *Physica status solidi A*, 2013, 210, 2178-2182.

62) Q. Wang, A. Vasilescu, P. Subramanian, A. Vezeanu, V. Andrei, **Y. Coffinier**, M. Li, R. Boukherroub and S. Szunerits. Simultaneous electrochemical detection of tryptophan and tyrosine using boron-doped diamond and diamond nanowire electrodes. *Electrochemistry Communications.*, 2013, 35, 84-87.

63) Q. Wang, P. Subramanian, M. Li, W. S. Yeap, K. Haenen, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub and S. Szunerits. Non-enzymatic glucose sensing on long and short diamond nanowire electrodes. *Electrochemistry Communications*, 2013, 34, 286-290.

64) G. Perry, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub and V. Thomy. Investigation of anti-biofouling properties of graphene oxide aqueous solutions by electrowetting characterization. *J. Mater. Chem. A.*, 2013, 1, 12355-12360.

65) F. Lapierre, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub and V. Thomy. Electro-(de)wetting on superhydrophobic surfaces. 2013, *Langmuir*, 29, 13346-13351.

66) O. Fellahi, R. K. Sarma, M. R. Das, R. Saikia, L. Marcon, **Y. Coffinier**, T. Hadjersi, M. Maamache and R. Boukherroub. The antimicrobial effect of silicon nanowires decorated with silver and copper nanoparticles. *Nanotechnology*, 2013, 24, 495101-495108.

67) I. Kaminska, W. Qi, A. Barras, **Y. Coffinier**, J. Sobczak, J. Niedziolka-Jonsson, P. Woisel, J. Lyskawa, M. Opallo, M. Li, R. Boukherroub and S. Szunerits. Thiol-yne click reaction on alkynyl-dopamine modified reduced graphene oxide (rGO). *Chemistry - A European Journal*, 2013, 19, 8673-8678.

### **2014**

68) T. P. N. Nguyen, R. Boukherroub, V. Thomy and **Y. Coffinier**. Micro-Nanostructured silicon based superomniphobic surfaces. *Journal of Colloids and Interfaces Science*, 2014, 416, 280-288.

69) S. Najjar, D. Talaga, L. Schué, **Y. Coffinier**, S. Szunerits, R. Boukherroub, L. Servant, V. Rodriguez and S. Bonhommeau. Tip-Enhanced Raman Spectroscopy of Combed Double-Stranded DNA Bundles. *J. Phys. Chem. C*, 2014, 118, 1174-1181.

70) T. P. N. Nguyen, R. Dufour, V. Thomy, V. Senez, R. Boukherroub and **Y. Coffinier**. Fabrication of superhydrophobic and highly oleophobic silicon-based surfaces *via* electroless etching method. *Applied Surface Science.*, 2014, 295, 38-43.

71) P. Subramanian, A. Motorina, W. S. Yeap, K. Haenen, **Y. Coffinier**, V. Zaitsev, J. Niedziolka-Jonsson, R. Boukherroub and S. Szunerits. Impedimetric immunosensor based on diamond nanowires modified with nickel nanoparticles. *Analyst*, 2014, 139, 1726.

72) **Y. Coffinier**, I. Kurylo, H. Drobecq, S. Szunerits, O. Melnyk, V. N. Zaitsev, and R. Boukherroub. Decoration of silicon nanostructures with copper particles for simultaneous selective capture and mass spectrometry detection of His-tagged model peptide. *Analyst*, 2014, 139, 5155-5163.

73) F. Lapiere, M. Harnois, **Y. Coffinier**, R. Boukherroub and V. Thomy. Split and flow: reconfigurable capillary connection for digital microfluidic devices. *Lab Chip*, 2014, 14, 3589-3593.

## **2015**

74) I. Alves, I. Kurylo, **Y. Coffinier**, A. Siriwardena, V. Zaitsev, E. Harté, R. Boukherroub and S. Szunerits. Plasmon waveguide resonance for sensing glycan–lectin interactions. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 873, 71-79.

75) S. Szunerits, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. Diamond nanowires: A novel platform for electrochemistry and matrix-free mass spectrometry. *Sensors*, 15, 2015, 12573-12593.

## **2016**

76) S. Amdouni, **Y. Coffinier**, S. Szunerits, M. A. Zaïbi, M. Oueslati and R. Boukherroub. Catalytic activity of silicon nanowires decorated with silver and copper nanoparticles. *Semicond. Sci. Technol.*, 2016, 31, 014011-014019.

77) Q. Wang, Y. Ma, X. Jiang, N. Yang, **Y. Coffinier**, H. Belkhalifa, N. Dokhane, M. Li, R. Boukherroub and S. Szunerits. Electrophoretic Deposition of carbon nanofibers/Co(OH)<sub>2</sub> nanocomposites: Application for non-enzymatic glucose sensing. *Electroanalysis*, 2016, 28, 119-125.

78) O. Fellahi, A. Barras, G. H. Pan, **Y. Coffinier**, T. Hadjersi, M. Maamache, S. Szunerits, R. Boukherroub. Reduction of Cr(VI) to Cr(III) using silicon nanowire arrays under visible light irradiation. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 304, 441–447.

79) R. R. Devarapalli, S. Szunerits, **Y. Coffinier**, M. V. Shelke, R. Boukherroub. Glucose Derived Porous Carbon Coated Silicon Nanowires as Efficient Electrodes for Aqueous Micro-Supercapacitors. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8, 4298-4302.

80) A. Hamdi, L. Boussekey, P. Roussel, A. Addad, R. Boukherroub, H. Ezzaouia and **Y. Coffinier**. Hydrothermal preparation of MoS<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/Si nanowires composite with enhanced photocatalytic performance under visible light. *Materials & Design*, 2016, 109, 634-643.

81) Q. Wang, **Y. Coffinier**, M. Li, R. Boukherroub and S. Szunerits. Light-triggered release of biomolecules from diamond nanowire electrodes. *Langmuir*, 2016, 32, 6515-6523.

82) N. Megouda, T. Hadjersi, **Y. Coffinier**, S. Szunerits and R. Boukherroub. Investigation of morphology, reflectance and photocatalytic activity of nanostructured silicon surfaces. *Microelectronic Engineering*, 2016, 159, 94-101.

83) F. Chekin, F. Teodorescu, **Y. Coffinier**, A. Barras, R. Boukherroub and S. Szunerits. Nanosheets of MoS<sub>2</sub> and reduced graphene oxide as active hybrid material for the electrochemical detection of folic acid in human serum. *Biosensors and Biol.*, 2016, 85, 807-813.

84) H. Belkhalifa, F. Teodorescu, G. Quéniat, A. Abderrahmani, **Y. Coffinier**, N. Dokhan, S. Sabrina, R. Boukherroub and S. Szunerits. Insulin impregnated reduced graphene oxide /Ni(OH)<sub>2</sub> thin films for electrochemical insulin release and glucose sensing. *Sensors and actuators B : chemical*, 2016, 237, 693-701.

- 85) M. Ben Ali, H. Elhouichet, B. Sieber, A. Addad, **Y. Coffinier**, M. Férid, S. Szunerits and R. Boukherroub. High photocatalytic activity of plasmonic Ag@AgCl/Zn<sub>2</sub>SnO<sub>4</sub> nanocomposites synthesized using hydrothermal method. RSC Advances, 2016, 6, 80310-80319.
- 86) T. P. N. Nguyen, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. Synthesis and functional coating of nanostructured silicon as an effective substrate for laser desorption/ionization mass spectrometry. J. Nanosci. Nanotechnol., 2016, 16, 7994-7998.
- 87) S. Akir, A. Barras, **Y. Coffinier**, M. Bououdina, R. Boukherroub and A. D. Omrani. Eco-friendly synthesis of ZnO nanoparticles with different morphologies and their visible light photocatalytic performance for the degradation of Rhodamine B. Ceramics International, 2016, 42, 10259-10265.
- 88) F. Fouché, T. Dargent, **Y. Coffinier**, A. Treizebré, A. Vlandas and V. Senez. Superhydrophobic surfaces' influence on streaming current based energy harvester. Journal of Physics: Conference Series, 2016, 773, 012022.

## **2017**

- 89) H. Maaoui, S. K. Singh, F. Teodoresu, **Y. Coffinier**, A. Barras, R. Chtourou, S. Kurungot, S. Szunerits and R. Boukherroub. Copper oxide supported on three-dimensional ammonia-doped porous reduced graphene oxide prepared through electrophoretic deposition for non-enzymatic glucose sensing. Electrochimica Acta. 2017, 224, 346-354.
- 90) F. Khili, A. Barras, A. Addad, **Y. Coffinier**, S. Szunerits, A. D. Omrani and R. Boukherroub. Synthesis of nanocellulose/reduced graphene oxide matrix loaded with copper oxide nanoparticles for efficient catalytic reduction of 4-nitrophenol. Submitted, 2017
- 91) S. Akir, A. Hamdi, A. Addad, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. Facile synthesis of carbon-ZnO nanocomposite with enhanced visible light photocatalytic performance. Applied Surface Science, 2017, 400, 461-470.
- 92) P. Subramanian, S. Kolagatla, S. Szunerits, **Y. Coffinier**, K. Haenen, R. Boukherroub and A. Schechter. AFM and Raman investigation of Boron-doped diamond nanowires electrodes and single diamond nanowires of different doping levels. J. Phys. Chem. C, 2017, 121, 3397-3403.
- 93) I. Kurylo, M. Dupré, S. Cantel, C. Enjalbal, H. Drobecq, S. Szunerits, O. Melnyk, R. Boukherroub and **Y. Coffinier**. Characterization of peptide attachment on silicon nanowires by X-Ray photoelectron spectroscopy and mass spectrometry. Analyst, 2017, 142, 969-978.
- 94) A. Hamdi, I. S. Hosu, A. Addad, R. Hartkoorn, H. Drobecq, O. Melnyk, H. Ezzaouia, R. Boukherroub and **Y. Coffinier**. MoS<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/SiNW surface as an effective substrate for LDI-MS detection of glucose and glutathione in real sample. Talanta, 2017, 171, 101-107.
- 95) I. S. Hosu, M. Sobaszek, M. Ficek, R. Bogdanowicz, H. Drobecq, O. Melnyk, A. Barras, R. Boukherroub and **Y. Coffinier**. Carbon nanowalls, a new versatile carbon based interfaces for laser desorption/ionization-mass spectrometry detection of small compounds in real samples. Nanoscale, 2017, 9, 9701 - 9715.
- 96) S. Amdouni, **Y. Coffinier**, A. Addad, S. Szunerits, M. A. Zaïbi, M. Abdelaziz, M. Oueslati and R. Boukherroub. Gold modified silicon nanowires for catalytic and photocatalytic activities. Submitted to Superlattices and Microstructures, 2017.
- 97) S. Zouaghi, T. Six, S. Bellayer, S. Moradi, S. Hatzikiriakos, T. Dargent, V. Thomy, **Y. Coffinier**, C. André, G. Delaplace and M. Jimenez. Antifouling biomimetic stainless steel for heat-exchangers in dairy industry. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9, 26565-26573.
- 98) I. Kurylo, A. Hamdi, A. Addad, R. Boukherroub and **Y. Coffinier**. Comparison of Ti based coatings on silicon nanowires for phosphopeptides' enrichment and their laser assisted desorption/ionization mass spectrometry detection. Nanomaterials, 2017, 7, 272-291 (*invited paper*).

99) S. Jain, A. Kumar, A. Hamdi, **Y. Coffinier**, A. Addad, P. Roussel and R. Boukherroub. Solar driven coupling of benzylamines using Cu<sub>2</sub>O/ carbon quantum dots heterostructured composite as visible active photocatalyst. Soumis pour publication à ACS Sustainable Chemistry & Engineering.

## **2018**

100) Y. Chenga, G. He, A. Barras, **Y. Coffinier**, S. Lu, W. Xu, S. Szunerits and R. Boukherroub. One-step immersion for fabrication of superhydrophobic/superoleophilic carbon felts with fire resistance: Fast separation and removal of oil from water. Chemical Engineering journal, 2018, 331, 372-382.

101) I. Kurylo, Y. Rondelez, **Y. Coffinier** and A. Vlandas. Electrochemical triggering of DNA-based reaction-diffusion system. Soumis à J. Phys. Chem. B.

102) A. Hamdi, I. S. Hosu, L. Boussekey, R. Hartkoorn, H. Drobecq, O. Melnyk, H. Ezzaouia, R. Boukherroub and **Y. Coffinier**. Nanostructured silicon membrane for LDI-MS detection of antibiotics and peptides. En préparation.

103) S. Jain, A. Kumar, A. Hamdi, **Y. Coffinier**, A. Addad, P. Roussel and R. Boukherroub. Light assisted coupling of benzylamines using Cu<sub>2</sub>O/carbon quantum dots heterostructured composite as visible active photocatalyst. Soumis à Chemistry : A european journal.

## Chapitres de livres

---

1) **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. "Surface modification of semiconducting silicon nanowires for biosensing applications" published in Semiconducting silicon nanowires for biomedical applications by Jefferey L. Coffey, Woodhead publishing, 2014.

2) **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. "Mass spectrometry" published in Springer Handbook on Porous Silicon Handbook by Leigh Canham, 2014.

3) **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. "Surface chemistry of porous silicon" published in Porous silicon: From formation to application by Ghenadii Korotcenkov, Taylor & Francis group, 2016.

4) S. Szunerits, **Y. Coffinier** and R. Boukherroub. "Diamond nanowires: A recent success story for biosensing." published in Nanosensor Technology. Springer series on chemical sensors and biosensors, Springer, Heidelberg 2015.

5) **Y. Coffinier**, R. Boukherroub and S. Szunerits. "Carbon-Based Nanostructures for Matrix-Free Mass Spectrometry" published in Carbon Nanoparticles and Nanostructures, Springer international publishing Switzerland, 2016.

## Congrès avec comité de lecture avec actes

---

### **1998-2005**

- Y. Coffinier, C. Legallais, O. Pitiot, A. Tellier, G. Lechapelier and M.A. Vijayalakshmi. Thiophilic Hollow fiber membranes for the purification of IgG from Human plasma. 13<sup>th</sup> International Symposium on Affinity Technologies and Bio-Recognition (ATBR) (1999), Compiègne, France. Oral
- Y. Coffinier, C. Legallais, O. Pitiot and M.A. Vijayalakshmi. Affinity membranes for IgG recovery. Engineering with membranes, Grenade, Espagne (2001). Oral
- Y. Coffinier, O. Pitiot and M. A. Vijayalakshmi. Affinity membranes for IgG recovery. 10<sup>th</sup> Conference of Recovery of Biological Products, Cancun, Mexique (2001). Oral

## 2005-2010

- Y. Coffinier, C. Olivier, A. Perzyna, B. Grandidier, X. Wallart, J. O. Durand, O. Melnyk, & D. Stiévenard. Semicarbazide-Functionalized Si(111) surfaces for the site-specific immobilization of peptides. American Chemical Society 229th (ACS), San Diego, California, USA (2005). Poster
- Y. Coffinier, C. Olivier, A. Perzyna, B. Grandidier, X. Wallart, J. O. Durand, O. Melnyk, & D. Stiévenard. Physical characterization at the nanometer scale of semicarbazide-functionalized Si (111) surfaces for the site-specific immobilisation of peptides. NanoBiotechnology III, Nice (2005). Oral
- R. Boukherroub, N. Verplanck, Y. Coffinier, G. Piret, V. Thomy, I. Fournier, M. Salzet, J.-C. Camart. Silicon nanowires : A novel platform for EWOD actuation and matrix-free mass spectrometry analysis. ECS Meeting, 2006, Cancun, Mexique. Oral
- N. Verplanck, Y. Coffinier, M. Wisztorski, G. Piret, C. Delhaye, V. Thomy, I. Fournier, J.-C. Camart, P. Tabourier, R. Boukherroub. Nanostructured surface as EWOD counter electrode for matrix-free mass spectrometry analysis. MicroTAS 2006, 5-9 novembre, Tokyo, Japon. Poster
- R. Boukherroub, Y. Coffinier, C. Jama, S. Szunerits, B. Marcus and O. Melnyk. Site-specific immobilization of peptides on boron-doped hydrogen-terminated diamond surfaces. 17<sup>th</sup> European Conference on Diamond, Diamond- Like Materials, Carbon Nanotubes, and Nitrides. 3-8 September 2006, Estoril, Portugal. Oral
- B. Gelloz, Y. Coffinier, B. Slahi, N. Kohsida, G. Patriarche and R. Boukherroub. Synthesis and optical properties of silicon oxide nanowires. MRS proceedings, USA, 2006. Oral
- R. Boukherroub, N. Verplanck, Y. Coffinier, G. Piret and V. Thomy. Superhydrophobic surface enabling reversible electrowetting and mass spectrometry analysis. Proceedings of the First Shenyang International Colloquium on Microfluidics, SICOM I 2007, Shenyang, Chine, october 21-24, 2007, 107-110. Oral
- N. Verplanck, Y. Coffinier, K. Madjour, J. C. Camart, R. Blossey, R. Boukherroub and V. Thomy. Superhydrophobic surfaces : from irreversible to reversible electrowetting. Proceedings of the 11th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2007, Paris, France, october 7-11, 2007, 1043-1045. Poster
- F. Lapierre, V. Thomy, P. Brunet, Y. Coffinier and R. Boukherroub. Relation between reversible electrowetting and impacting/bouncing drop test on superhydrophobic surfaces. Proceedings of the 1st European Conference on Microfluidics, Bologne (2008). Poster
- D. Stiévenard, B. Salhi, Y. Coffinier, R. Boukherroub and O. Melnyk. Self assembled silicon nanowire Schottky junction assisted by collagen. 2008 APS March Meeting, New Orleans, USA. Oral
- F. Lapierre, B. Verbeke, N. Verplanck, V. Thomy, G. Piret, Y. Coffinier and R. Boukherroub. EWOD displacement on patterned superhydrophobic silicon nanowires surface : lab-on-chip for direct mass spectrometry analysis. Proceedings of the 1st European Conference on Microfluidics, MicroFlu'08, Bologna, Italy, 10-12 décembre 2008, CDRom,  $\mu$ Flu'08-135, 6 pages, ISBN 2-906831-76-X. Poster
- E. Galopin, J. Barbillat, Y. Coffinier, G. Piret, S. Szunerits and R. Boukherroub. Silicon nanowire based interfaces as ultrasensitive interface for surface-enhanced Raman scattering. E-MRS Spring meeting, Strasbourg, 2009.
- T. P. N. Nguyen, F. Lapierre, Y. Coffinier, V. Thomy and R. Boukherroub. Fabrication of omniphobic nanostructured silicon surfaces. BioSensors 2010, 20<sup>th</sup> Anniversary World Congress on Biosensors, Glasgow, May 26-28 2010. Poster

- M. De Ville, P. Coquet, P. Brunet, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Topographical Patterning For Microfluidic Round Channels Fabrication. 36<sup>th</sup> Conference on Micro and NanoEngineering, Gêne Italie 19-22 septembre 2010. Poster
- R. Dufour, M. Harnois, V.Thomy, Y. Coffinier, R. Boukherroub and V. Senez. Superomniphobicity on a Flexible Substrate.  $\mu$ Flu'10, 2<sup>nd</sup> European Conference on Microfluidics, Toulouse 8-10 Décembre 2010. Poster
- Y. Coffinier, H. Drobrecq, O. Melnyk and R. Boukherroub. Fabrication of Diamond nanowires for matrix-free Laser desorption/ionization mass-spectrometry analysis of small biomolecules. E-MRS Spring Meeting, Strasbourg Mai-Juin 2010. Oral
- Y. Coffinier and R. Boukherroub. Sub-bandgap absorption of Boron-doped-Diamond for matrix-free Laser Desorption/ionisation Mass spectrometry analysis of small biomolecules. MRS Fall Meeting Boston November-December 2010. Oral
- R. Dufour, M. Harnois, V. Thomy, Y. Coffinier, R. Boukherroub and V. Senez. Engineering "slippy" superomniphobic surfaces on PDMS. 2<sup>nd</sup> European conference on Microfluidics,  $\mu$ Flu'10, France. Oral
- M. De Ville, P. Coquet, P. Brunet, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Fast and simple fabrication of PDMS/alginate based microfluidic based microfluidic round channels. 2<sup>nd</sup> European conference on microfluidics,  $\mu$ Flu'10, France. Poster
- T. P. N. Nguyen, R. Dufour, Y. Coffinier, M. Harnois, F. Lapierre, V. Thomy, R. Boukherroub and V. Senez. Engineering artificial omniphobic surfaces at different scales : from nanostructures on silicon to microstructures on PDMS. Faraday Discussion 146 : Wetting dynamics of hydrophobic and structured surfaces, Richmond, VA, USA 2010. Oral
- N. Megouda, S. Szunerits, Y. Coffinier, T. Hadjersi and R. Boukherroub. Photocatalytic performance of silicon nanowire arrays. ECS Meeting, 2010. Oral
- A. Merlen, P. Brunet, F. Zoueshtiagh, V. Thomy, F. Lapierre and Y. Coffinier. Forced impalement of liquids by drop impacts on non wetting surfaces. 5<sup>th</sup> Conference of the international Marangoni association, interfacial fluid dynamics and processes, IMAS, Florence, Italie 2010. Oral
- A. Merlen, P. Brunet, F. Zoueshtiagh, V. Thomy, F. Lapierre and Y. Coffinier. Forced impalement of liquids by drop impacts on non wetting surfaces. 3<sup>rd</sup> International conference of Bionic Engineering (ICBE'10), Chine. Oral
- F. Lapierre, G. Piret, H. Drobrecq, O. Melnyk, Y. Coffinier, V. Thomy and R. Boukherroub. EWOD Lab-on-Chip for mass spectrometry and fluorescence analysis. Proceeding of the 14<sup>th</sup> International conference on microsystem for chemistry and life science, microTAS, Hollande, 2010. Poster

### **2011-2017**

- F. Lapierre, G. Piret, G. Perry, V. Thomy, Y. Coffinier and R. Boukherroub. Droplet based lab-on-chip microsystems for high sensitive mass spectrometry analysis. 5<sup>th</sup> International Workshop on surface modification for chemical and biochemical sensing, SMCBS'2011, Lochow, Pologne. Oral
- G. Perry, F. Lapierre, Y. Coffinier, V. Thomy and R. Boukherroub. Superhydrophobicity and Graphene Oxide Nanosheets to Prevent Biofouling in EWOD based Lab-on-chip Devices. ECS Meeting, Honolulu, 2012. Oral
- G. Perry, F. Lapierre, Y. Coffinier, V. Thomy, R. Boukherroub, C. X. Lu, S. H. Tsang, B. K. Tay and P. Coquet. Droplet based lab-on-chip microfluidic microsystems integrated nanostructured surfaces for high sensitive mass spectrometry analysis. 2013 IEEE 5th International Nanoelectronics Conference (INEC), Singapour. Oral

- Y. Coffinier, Silicon nanostructures made by metal assisted etching for detection of peptides by mass-spectrometry. Porous semiconductors science and technology (PSST) 2014, Benidorm, Espagne. Oral
- F. Fouché, T. Dargent, Y. Coffinier, A. Treizebré, A. Vlandas and V. Senez. Superhydrophobic surfaces' influence on streaming current based energy harvester. Power MEMS 2016, Paris. Poster
- F. Fouché, T. Dargent, Y. Coffinier, A. Treizebré, A. Vlandas, and V. Senez. Superhydrophobic nanostructured microchannel for improved streaming current energy harvesting. MicroTas 2016, Dublin. Oral
- A. Hamdi, H. Ezzaouia, R. Boukherroub and Y. Coffinier. MoS<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/Si nanowires as an effective substrate for the photocatalytic degradation of organic pollutants under visible light irradiation. E-MRS Strasbourg, 2017. Poster
- A. Hamdi, I. S. Hosu, H. Ezzaouia, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Hydrothermal preparation of MoS<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/SiNW surface as an effective substrate for LDI-MS detection of small molecules. E-MRS Strasbourg, 2017. Oral
- S. Zouaghi, T. Six, S. Bellayer, S. Moradi, S. Hatzikiriakos, T. Dargent, V. Thomy, Y. Coffinier, C. André G. Delaplace, M. Jimenez. Biomimetic nanostructured surfaces for antifouling in dairy processing. Congrès française de mécanique (CFM), 2017, Lille. Oral

## Congrès, GdR, Workshop à comité de lecture sans actes

---

### **2004-2009**

- Y. Coffinier, C. Olivier, B. Grandidier, X. Wallart, O. Melnyk and D. Stiévenard. Reconnaissance de peptides par AFM pour la réalisation de biopuces sur silicium. Forum CNRS des microscopies à sondes locales (2004), Ax les Thermes, France. Oral
- T. Xu, Y. Coffinier, J. P. Nys, G. Patriarche, B. Grandidier, D. Stiévenard. Synthesis of Si-based nanowires by solid-liquid-solid phase growth. GdR nanofils semiconducteurs (Lille, Juillet 2006). Oral
- D. Luxembourg, T. Heim, Y. Coffinier, H. Diesinger, R. Boukherroub, R. Blossey et D. Stiévenard. Organisation et assemblage de nanofils de Silicium. GdR nanofils semiconducteurs (Lille, Juillet 2006). Oral
- Y. Coffinier, N. Verplanck, M. Wisztorski, G. Piret, V. Thomy, I. Fournier, J. C. Camart, P. Tabourier and R. Boukherroub. Nanostructured surfaces as EWOD counter electrode for matrix-free mass spectrometry analysis. GdR nanofils semiconducteurs (Lille, Juillet 2006). Oral
- Heinrich Diesinger, Marcin Marczak, David Luxembourg, Yannick Coffinier, Djamilla Hourlier, Thierry Mélin, Pascal Tilmant, Didier Stiévenard. Assemblage de nano-objets par diélectrophorèse. GdR nanofils semiconducteurs (Lille, Juillet 2006). Oral
- Y. Coffinier (invited paper). Silicon nanowires for mass spectrometry and biomolecule analysis. French-Swedish research association (AFSR), Nanobiotechnology, November 2006, Stockholm, Sweden. Oral
- Y. Coffinier. Fonctionnalisation chimique de nanofils de silicium pour la réalisation d'une plateforme chromatographique et d'analyse en spectrométrie de masse de biomolécules. GdR (research group) semiconductors nanowires (Lyon, 9-11 Mai 2007). Oral
- Y. Coffinier, G. Piret, N. Verplanck, J. C. Camart, R. Boukherroub, R. Blossey and V. Thomy. Cost Meeting, Twente (Hollande), 2007. Poster

- Journée Nationale des Technologies Emergeantes (JNTE) Novembre 2008, LAAS, Toulouse :
  - G. Piret, H. Drobecq Hervé, Y. Coffinier Yannick, O. Melnyk and R. Boukherroub. Matrix-free laser desorption/ionization mass spectrometry on silicon nanowires. Poster
  - E. Galopin, G. Piret, Y. Coffinier, S. Szunerits and R. Boukherroub, Metal-assisted chemical etching of silicon: preparation of silicon nanowire arrays. Poster
  - Y. Coffinier, F. Lapierre, P. Brunet, V. Thomy and R. Boukherroub, Correlation between a total reversible Electrowetting and drop impact resistance on superhydrophobic silicon nanowires. Oral
- Y. Coffinier, R. Boukherroub, N. Dendane, O. Melnyk, T. Xu, B. Grandidier and D. Stievenard. Chemoselective native chemical ligation on silicon nanowires. GDR nanofils semiconducteurs, Autrans, 30 juin-3 juillet 2009. Oral
- D. Stievenard, B. Grandidier, J. P. Nys, T. Xu, O. Melnyk, N. Olivier, R. Desmet, N. Dendane, R. Boukherroub and Y. Coffinier. 4<sup>èmes</sup> Journées nationales en nanoscience et nanotechnologies, J3N 2009, Toulouse. Oral

### **2010-2017**

- T. P. N. Nguyen, Y. Coffinier, V. Thomy, P. Brunet and R. Boukherroub. Fabrication of silicon based omniphobic surfaces. JNTE10, Ecole Polytechnique, Novembre 2010. Poster
- Y. Coffinier (Invited paper). Lab-on-chip based on silicon nanowires: Application to mass spectrometry analysis of small molecules. GdR semiconductors nanowires (Porquerolles, Octobre 2011). Oral
- T. P. N. Nguyen, P. Brunet, Y. Coffinier, V. Thomy, and R. Boukherroub. Preparation of superomniphobic silicon nanowire surfaces with high robustness. Thematic days on Nanowires and Applications, GdR Nanofils semiconducteur, Villeneuve d'Ascq, 2011. Poster
- Y. Coffinier, R. Boukherroub and V. Thomy. Microfluidique digitale et surfaces superhydrophobes pour laboratoire sur puce : application à l'analyse par spectrométrie de masse. 1<sup>ier</sup> Colloque Ingénierie et STIC pour la santé de l'Institut Mines-Télécom, Paris, 2012. Oral
- Y. Coffinier. Silicon nanowires and nanostructures for proteomic analysis. GdR semiconductors nanowires : Semiconductors based sensors (Rennes, 2012). Oral
- Y. Coffinier. Nanostructured silicon based superomniphobic surfaces. GdR Nanofils semiconducteur, Saint Martin de Londres, 2013. Oral
- Y. Coffinier. Graphene oxide nanosheets for preventing biofouling in lab-on-chip devices. Annual meeting of GdR-I Graphene and Nanotubes: Science and Applications, GNT 2013. Guidel Plages 2013. Oral
- I. Kurylo, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Decoration of silicon nanowires by copper particles : Application to specific enrichment of labeled peptide and its detection by mass spectrometry. GdR Nanofils semiconducteurs. Toulouse, 2014. Oral
- A. Hamdi, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Fabrication of porous silicon layer on silicon-on-insulator surface and its use for laser desorption/ionization of peptides and their detection by mass spectrometry. JNTE 2015, Ecole centrale de Lyon. Poster
- Y. Coffinier. Peptide photorelease from silicon nanowires followed by X-Ray photoelectron spectroscopy and mass spectrometry. Atelier nanofils semiconducteurs, Meudon, 2016. Oral

- A. Hamdi, R. Boukherroub, H. Ezzaouia and Y. Coffinier. Catalytic activity of molybdenum disulfide (MoS<sub>2</sub>) nanosheets deposited on nanostructured silicon. Traitements des Effluents Liquides et Préservation de l'Environnement : TELPE 2016, Tunisie. Oral
- A. Hamdi, R. Boukherroub, H. Ezzaouia and Y. Coffinier. Synthesis and characterization of 3D hierarchical MoS<sub>2</sub> nano-sheets deposited on silicon nanowires using hydrothermal method. 5th TUNISIAN CRYSTALLOGRAPHIC MEETING –TCM5–2015/ Tunisie. Oral
- I. S. Hosu, M. Sobaszek, M. Ficek, R. Bogdanowicz' R. Boukherroub and Y. Coffinier. Carbon nanowalls interfaces for the detection of glucose by mass spectrometry (MS) and electrochemistry (EC), ElecNano 7, Lille, mai 2016. Poster
- I. S. Hosu, M. Sobaszek, M. Ficek, R. Bogdanowicz' R. Boukherroub and Y. Coffinier. Glucose sensing using electrochemistry and mass spectrometry on carbon nanowall interfaces. GdR Bioingénierie des interfaces, Ecole normale de Lyon, Juin 2016. Poster
- A. Hamdi, T. Dargent, Y. Coffinier and V. Thomy. Surfaces nanostructurées imprégnées et applications. Journées SCOPE 2017, Lille. Oral
- A. Hamdi, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Fabrication of porous silicon layer on silicon-on-insulator surface and its use for laser desorption/ionization of peptides and antibiotics and their detection by mass spectrometry. Journées SCOPE 2017, Lille. Oral
- Y. Coffinier, invited paper, Atelier des nanofils (J2N), Grenoble, Novembre 2017. Oral

## Journées thématiques

---

- Y. Coffinier, invited paper. Utilisation de nanofils de silicium pour la réalisation de la désorption / ionisation assistée par laser : Application à l'analyse de biomolécules par spectrométrie de masse. 1<sup>ière</sup> journée CLIPP (FemtoLab, Besançon), 2009. Oral
- Y. Coffinier. Si nanowire: growth and functionalization. Indo-French Workshop Multifunctional Molecular and Hybrid Devices. 2009, CEA Saclay, Iramis. Oral
- Y. Coffinier. Symposium matériaux 2D : Propriétés, Elaboration, Applications. Lille 2017. Oral

## Séminaires

---

- Y. Coffinier, Invited paper. Inorganic nanowires for biosensing. Séminaire de l'école doctorale (ED459) des sciences chimiques de l'université de Montpellier 2. November 2012. Oral
- Y. Coffinier, Invited paper, demi-journée spectrométrie de masse MALDI-MS organisée par l'équipe CBC (UMR 8161) 2013 à l'Institut de Biologie de Lille. Utilisation de nanostructures inorganiques (Silicium) pour la réalisation de la désorption/ionisation assistée par laser de petites molécules pour leur détection par spectrométrie de masse. Oral
- Y. Coffinier, invited paper. Inorganic nanowires for biological and chemical applications. Tokyo university of marine science and technology. Tokyo, 2016. Oral

- Y. Coffinier, invited paper. The 3<sup>rd</sup> Researcher's Day of the Materials Research Institute, University of Mons. Silicon nanowires for the detection of small compounds by mass spectrometry. 5th of July 2016, Mons. Oral
- Y. Coffinier, invited paper. Graphène pour la détection de l'hybridation ADN-ADN. Centre de Biologie Pathologie Génétique de Lille, 2017. Oral

### Récapitulatif des publications et productions scientifiques

Intitulé	Nombre
<b>Articles dans des revues internationales ou nationales avec comité de lecture répertoriées par les bases de données internationales :</b>	<b>103</b>
<b>Conférences « invité(e) » :</b>	<b>9</b>
<b>Communications avec actes dans congrès international :</b>	<b>36</b>
<b>Communications orales sans actes dans un congrès international ou national :</b>	<b>38</b>
<b>Communications par affiche dans un congrès international ou national :</b>	<b>20</b>
<b>Ouvrages scientifiques :</b>	<b>5</b>
<b>Chapitres d'ouvrages scientifiques :</b>	<b>3</b>
<b>Publications de vulgarisation – articles :</b>	<b>3</b>
<b>Autres productions (bases de données, logiciels enregistrés...) à préciser :</b>	<b>3</b>
<b>Revue annuelle de l'OMNT</b>	
<b>Co-encadrements de thèse :</b>	<b>11</b>
<b>Encadrements de post-doc :</b>	<b>5</b>
<b>Encadrements de masters (M2):</b>	<b>5</b>

Les systèmes considérés dans les nanotechnologies peuvent avoir une ou plusieurs de leurs dimensions nanométriques. La longueur caractéristique à laquelle des propriétés spécifiques aux nanomatériaux apparaissent est généralement de l'ordre de la dizaine de nanomètres. On peut ainsi créer une structure mésoscopique (intermédiaire entre macroscopique et quantique) pour laquelle une, deux ou trois dimensions sont comparables ou inférieures à cette longueur caractéristique. On obtient alors des systèmes dits de dimension  $d = 2, 1$  ou  $0$ .

Dans le cas où une seule dimension est inférieure à la longueur caractéristique, on obtient une structure dite à deux dimensions (2D). Nous trouvons par exemple les feuillets de Graphène ou encore des dichalcogénures de métaux de transition (TMD) comme le  $\text{MoS}_2$  ou le  $\text{WS}_2$ ... Lorsque deux dimensions sont inférieures à la longueur caractéristique, la structure résultante est dite unidimensionnelle (1D) comme dans le cas des nanotubes ou des nanofils. Enfin, lorsque les trois dimensions sont inférieures à la longueur caractéristique, le système est dit à zéro dimension (0D). C'est le cas des nanocristaux de semiconducteurs (ou Qdots).

Deux voies de fabrication sont alors possibles :

- La voie descendante ("top-down") : A partir d'un matériau et grâce à des procédés de micro et nanofabrication, on le « découpe » et on le « sculpte » afin de réduire le plus possible les dimensions de l'objet ou du composant que l'on veut fabriquer. Cette technique permet notamment de fabriquer plusieurs milliers ou millions d'objets en parallèle. Ces techniques de fabrication sont majoritairement issues de la course, lancée dans les années 50, à la miniaturisation des éléments constitutifs des puces électroniques, comme le transistor. L'effort de miniaturisation a d'abord conduit à des composants de dimensions micrométriques pour descendre maintenant en dessous des 100 nanomètres. Il s'agit de la voie suivie par l'électronique depuis 30 ans. A l'heure actuelle, un transistor peut atteindre la taille d'une vingtaine de nanomètres. Toujours activement exploitée, cette voie descendante se heurte de plus en plus à des limites techniques en descendant vers l'échelle nanométrique (limitation de la loi de Moore). Cependant, de nouvelles architectures commencent à émerger (transistor verticaux, empilement de couche de composants....)

- La voie ascendante ("bottom-up") : Cette voie est en fait la voie la plus ancienne existante. En effet, la nature l'utilise depuis que la vie existe sur terre, puisqu'il s'agit d'assembler des molécules ou atomes en des objets ou des systèmes plus grands possédant des propriétés ou des fonctions spécifiques.

Dans cette première partie, j'ai choisi de présenter quelques voies de fabrication développées au cours de ces années qui appartiennent aux 2 approches. Il est à noter que, souvent, les techniques appartenant soit au concept "top-down" ou à celui du "bottom-up" sont combinées pour réaliser le dispositif ou l'objet désiré.

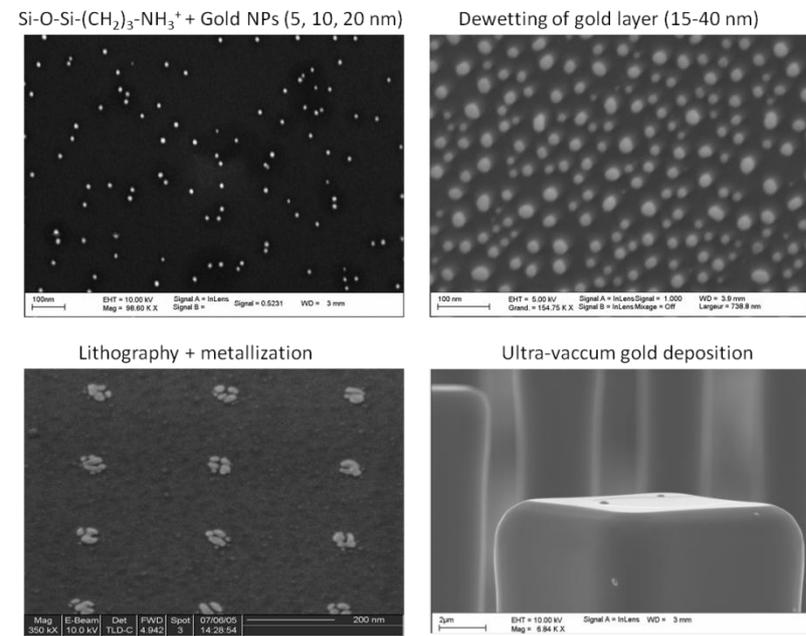
Les résultats présentés sont issus en partie des thèses de G. Piret, T. P. N. Nguyen et de T. Xu sur l'obtention de nanofils de silicium.

## 1.1. Croissance de nanofils - "Chemical vapor deposition (CVD)" - "Bottom-up"

La première description d'une croissance de nanofils de Si ("silicon whiskers") a été réalisée par Treuting et Arnold en 1957, où ils ont synthétisé des nanofils de Si d'orientation [111].<sup>1</sup> Un peu plus tard, Wagner et Ellis décrivaient le mécanisme Vapeur-Liquide-Solide (VLS) pour la croissance de nanofils monocristallins.<sup>2</sup> Le terme VLS est alors associé aux différentes phases dans lesquelles vont se retrouver les atomes de Si, c'est à dire au début le précurseur de Si ( $\text{SiH}_4$ ,  $\text{SiH}_2\text{Cl}_2$ ...) avant sa décomposition est gazeux, puis le Si devient liquide dans l'eutectique (composé de métal et de Si) et enfin solide (sous forme de nanofil) à la fin de la croissance.

La méthode VLS utilise des nanoparticules métalliques qui jouent le rôle de catalyseurs pour la croissance de nanofils semi-conducteurs. Des nanoparticules d'or sont généralement employées car la température de fusion de l'alliage or-silicium est faible (point eutectique à  $363^\circ\text{C}$ ). Elles sont déposées sur la surface avant croissance soit par **(Figure 1)**:

- Evaporation thermique d'une fine couche métallique (10 à 40 Å). Dans ce cas, la couche métallique est trop fine pour être continue et forme alors des nanoparticules ou îlots métalliques en surface. Cependant, une étape de recuit à  $500^\circ\text{C}$  pendant 1 min est souvent nécessaire afin d'homogénéiser la taille des particules.
- Soit par adsorption de colloïdes métalliques (de 10 à 50 nm) grâce à des interactions électrostatiques.
- Par lithographie électronique suivie d'une métallisation.
- Par dépôt d'or sous ultravide - contrôle précis de la quantité d'or déposé en contrôlant la température et la vitesse de dépôt.



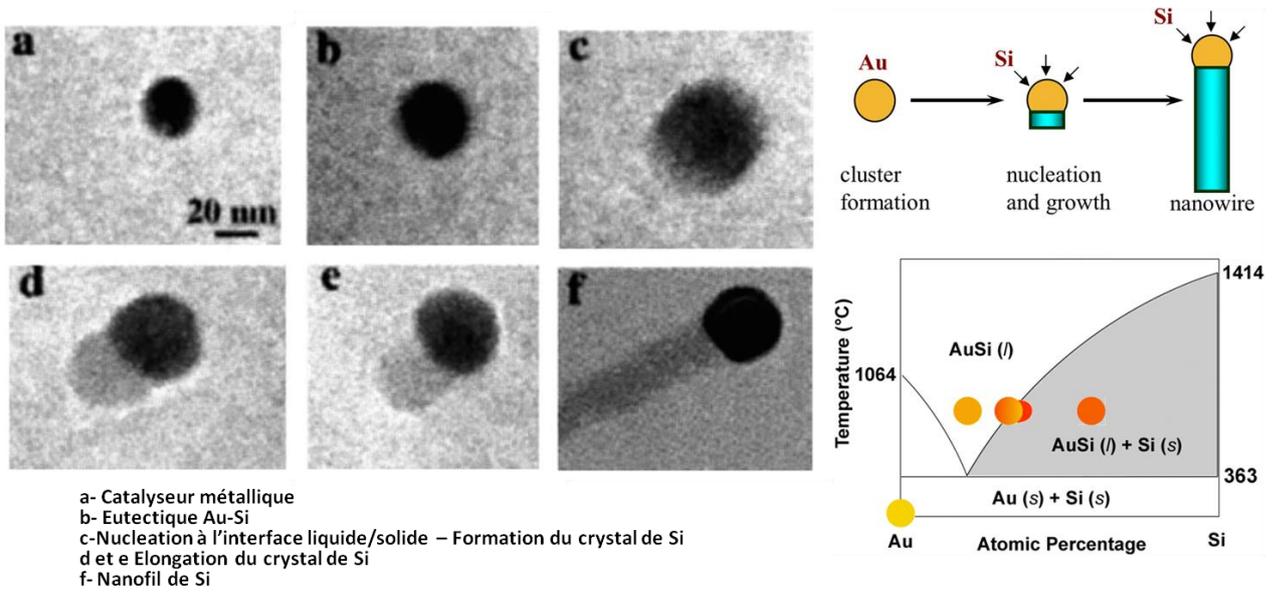
**Figure 1 :** Différentes méthodes de dépôts de catalyseurs métalliques (ici l'or).

Concernant la croissance elle-même, elle se divise en plusieurs étapes **(Figure 2)** :

- Catalyseurs Au
- Formation de l'eutectique Au-Si liquide à 19 at.% de Si ( $T=363^\circ\text{C}$ )
- Injection du précurseur de Si et décomposition préférentielle sur le catalyseur (Au-Si)

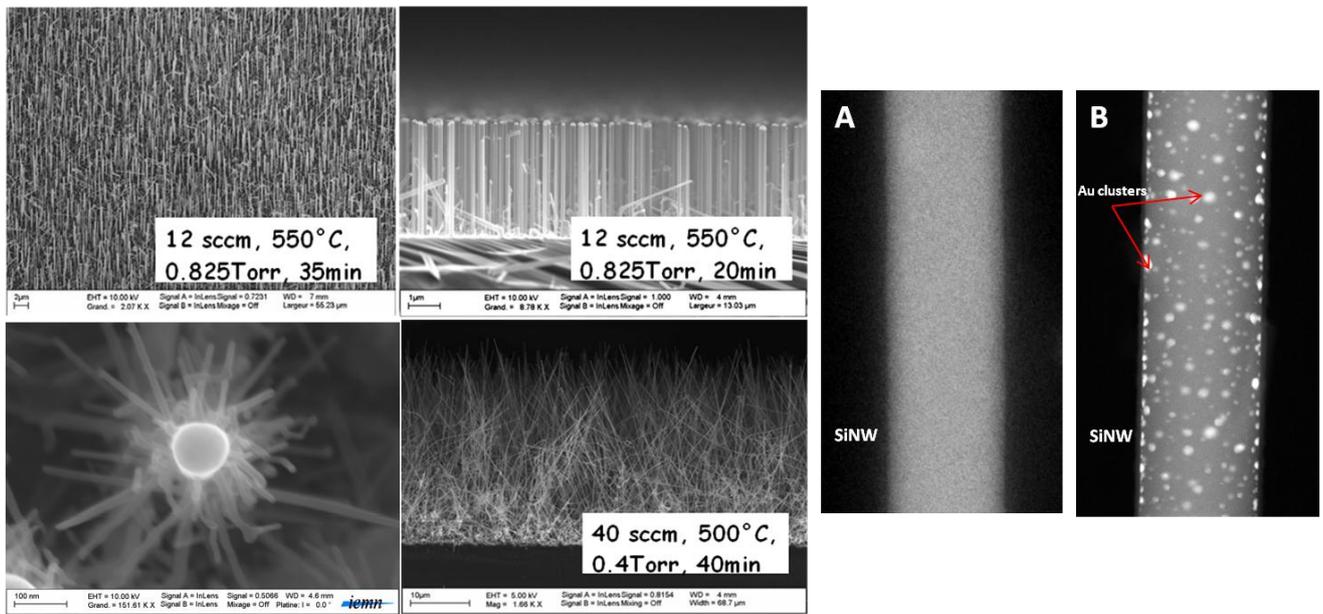
- Nucléation à l'interface Au-Si/surface Si - Formation d'un crystal de Si à environ 65% de Si dans l'eutectique.
- Elongation du crystal - Formation du nanofil

Sur la **figure 2**, on peut voir, grâce à un TEM *in situ* les différentes étapes d'une croissance VLS.<sup>3</sup>



**Figure 2:** Observation en TEM *in situ* de la croissance d'un nanofil, principe de la croissance CVD et le diagramme de phase biphasique Au-Si.<sup>3</sup>

Le diamètre des nanofils peut varier d'une dizaine à une centaine de nanomètres et leur longueur d'une centaine de nanomètres à plusieurs micromètres. La **figure 3** illustre quelques surfaces de nanofils de silicium que l'on peut obtenir en variant les conditions de synthèse (pression, pression partielle de silane, présence d'autres gaz, température, temps, orientation cristalline du substrat de départ, densité des catalyseurs), caractérisées ici par microscopie à balayage électronique (MEB).

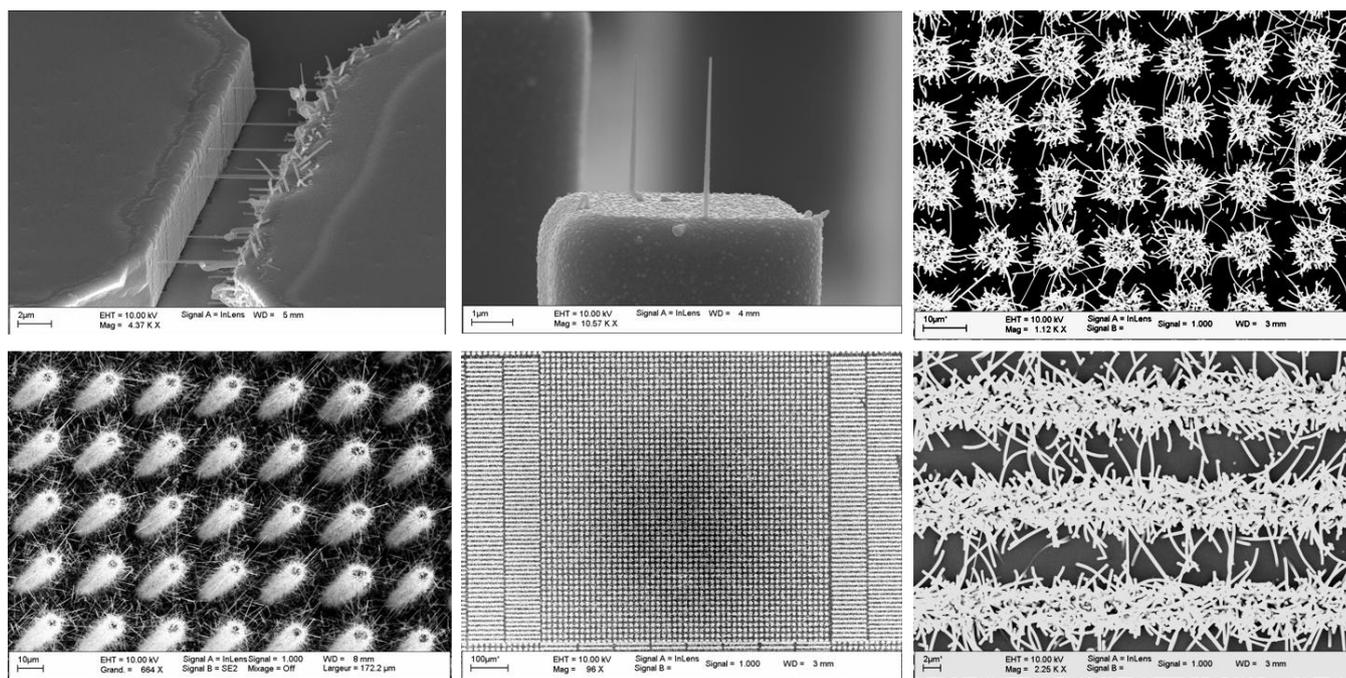


**Figure 3:** Images de microscopie à balayage électronique (MEB) de nanofils de silicium synthétisés par VLS et images HAADF (STEM) de nanofils recouverts ou non d'agrégats d'or (diam. ~70 nm).<sup>6</sup>

Le diamètre des nanofils est sensiblement le même que le diamètre des gouttes d'alliage or/silicium. Cependant si des températures trop élevées sont utilisées ( $>>363^{\circ}\text{C}$ ), les gouttelettes d'eutectique Au-Si vont migrer sur la surface et fusionner pour former de plus grosses gouttes. Ce phénomène est connu sous le nom de murissement d'Ostwald.<sup>4</sup> La direction de croissance étant également dépendante du diamètre des gouttes, les principales conséquences sont l'obtention de nanofils de taille inhomogène et d'orientation différentes.

Lors de la croissance et en fonction des conditions expérimentales, le volume de la goutte d'or située à la pointe du nanofil peut diminuer, conduisant soit à des fils de forme conique "tapering" ou à des atomes d'or qui peuvent migrer le long des parois du nanofil (**Figures 3 A&B**).<sup>5,6</sup> Selon les applications visées, cela peut alors avoir de graves conséquences comme par exemple lors d'applications en électronique (ex. fuite de jonction p-n et baisse des constantes diélectriques).<sup>7</sup> Des méthodes de croissance CVD (Vapeur-solide-solide) sans catalyseur ont été développées notamment afin d'éviter ces phénomènes.<sup>8</sup> Cependant, si une croissance est reprise à partir de ces agrégats d'or, cela peut aboutir à la formation de nanofils en forme d'arbre (**Figure 3**) ou à des pyramides.<sup>9</sup>

En jouant sur la pression partielle de silane et la température, on peut néanmoins limiter voire annihiler ce démouillage d'or sur les flancs des nanofils. En effet, pour une pression partielle de silane de 1 mbar et une température de croissance de  $430^{\circ}\text{C}$ , des nanofils exempt d'agrégats d'or ont pu être obtenus (**Figure 3A**).<sup>6</sup> En contrôlant le dépôt des catalyseurs, des croissances localisées peuvent être également réalisées (**Figure 4**).



**Figure 4:** Images MEB montrant des croissances localisées de nanofils de silicium.

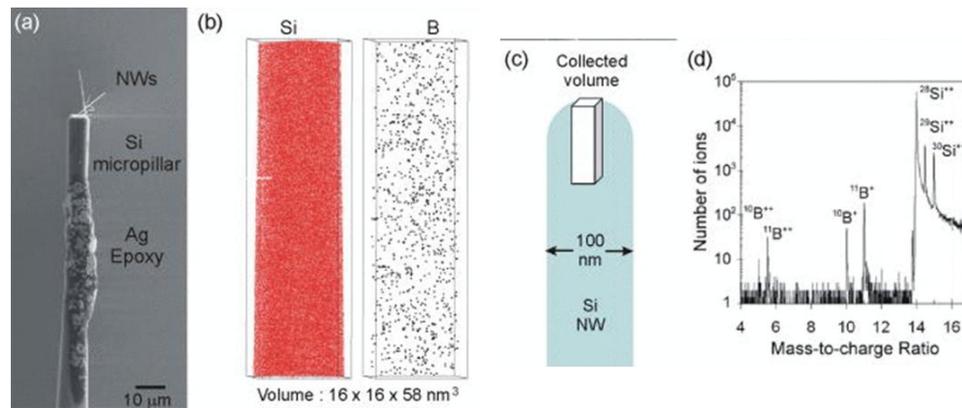
Nous avons également mener des études sur le dopage de ces nanofils de Si afin d'obtenir des nanofils dopés au bore ou au phosphore. Afin de déterminer la concentration de ces dopants la tomographie à sonde atomique a été utilisée. Celle-ci avait déjà montré qu'elle était capable de déterminer la composition de nanofils semiconducteurs à l'échelle atomique.<sup>10</sup> Dans une étude menée en collaboration avec l'équipe Physique de l'IEMN, et une équipe de recherche de l'Université de Rouen (P. Pareige) la composition 3D d'un nanofil de silicium dopé au bore a pu être obtenue (**Figure 5**).<sup>11</sup> Pour ce faire il a fallu :

- Des nanofils de silicium avec des diamètres compris entre 50 et 100 nm afin de produire un champ électrique local intense.

- Des nanofils en nombre limité et verticaux afin d'éviter les effets d'écrantage par les autres nanofils.

- Les nanofils doivent être collés sur un micropilier afin de faciliter la manipulation.

Ensuite, des impulsions électriques sont appliquées afin d'évaporer les ions du nanofil. Ces ions sont séparés par un analyseur de type tube à temps de vol et détectés. Un détecteur de position est également utilisé pour connaître la trajectoire de l'ion éjecté de sa position initiale. De plus, en général, un faisceau laser est utilisé pour faciliter l'éjection et limiter les tensions appliquées afin d'obtenir une meilleure résolution spectrale.



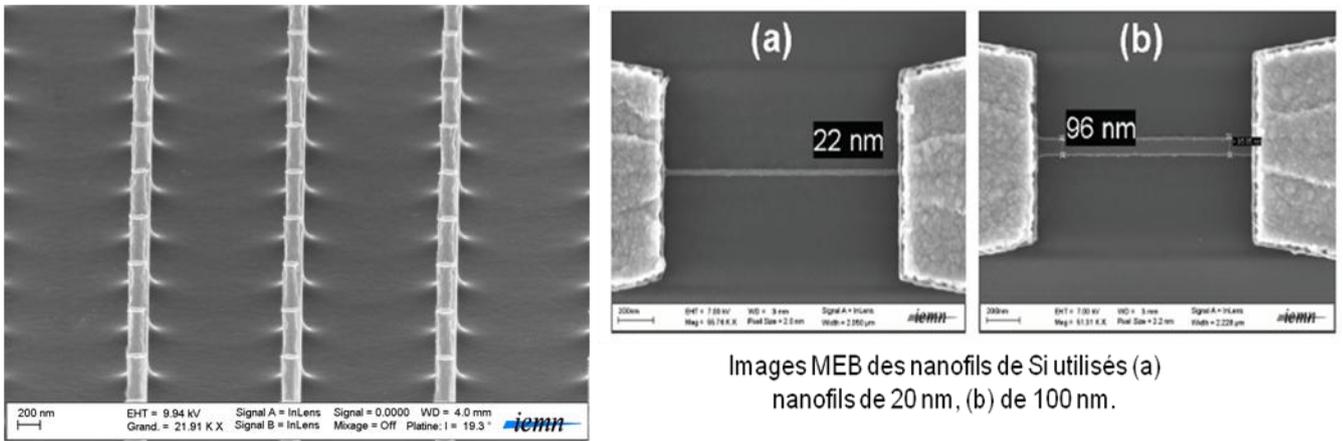
**Figure 5:** Image du micropilier portant quelques nanofils, la représentation 3D des atomes de Si et de Bore, la représentation schématique du volume de nanofil étudié et un spectre de masse de nanofil de Si dopé au bore.<sup>11</sup>

La distribution des dopants semble alors uniforme dans le volume sondé avec une concentration de  $1.3 \pm 0.3 \cdot 10^{20}$  B.cm<sup>-3</sup>.<sup>11</sup> D'autres structures peuvent être également obtenues comme par exemple des hétérostructures radiales (structure coeur-coquille) ou axiales (ex. Si-Ge), ou encore des nanofils en zigzag.<sup>12,13,14</sup> Cette méthode de synthèse CVD (VLS) a comme principal avantage de pouvoir produire des nanofils d'une grande diversité avec des propriétés mécanique, optique, thermique et électronique modulables en fonction des applications visées.

Dans ce manuscrit, nous verrons que ces nanofils ont été utilisés dans de nombreuses applications comme la mise au point de surface pour le SERS (partie 2), de surfaces superhydrophobes et omniphobes (partie 3) et la LDI-MS (partie 4).

## 1.2. Gravure sèche - Reactive ion etching (RIE)

La gravure d'un matériau est le procédé qui permet d'enlever de la matière. Cette étape fait souvent suite à une étape de lithographie afin de transférer les motifs désirés sur une résine (optique ou électronique), dans ce cas on obtient une image latente. Ensuite, cette image latente peut être transférée par dépôt de matériaux (ex. métallisation) ou par gravure sèche ou humide. Ce type de gravure sèche possède une plus faible sélectivité de gravure par rapport à la gravure humide mais possède une plus grande anisotropie ce qui permet de réaliser des objets de rapport d'aspect important (nanofils par ex.). Des structures bien définies peuvent alors être obtenues. Dans la **figure 6** sont représentés des réseaux de micropiliers verticaux pour la fabrication de surfaces superhydrophobe et omniphobe et des capteurs de gaz ainsi que des nanofils de silicium pour le développement de transistors à effet de champ pour la biodétection.



Images MEB des nanofils de Si utilisés (a) nanofils de 20 nm, (b) de 100 nm.

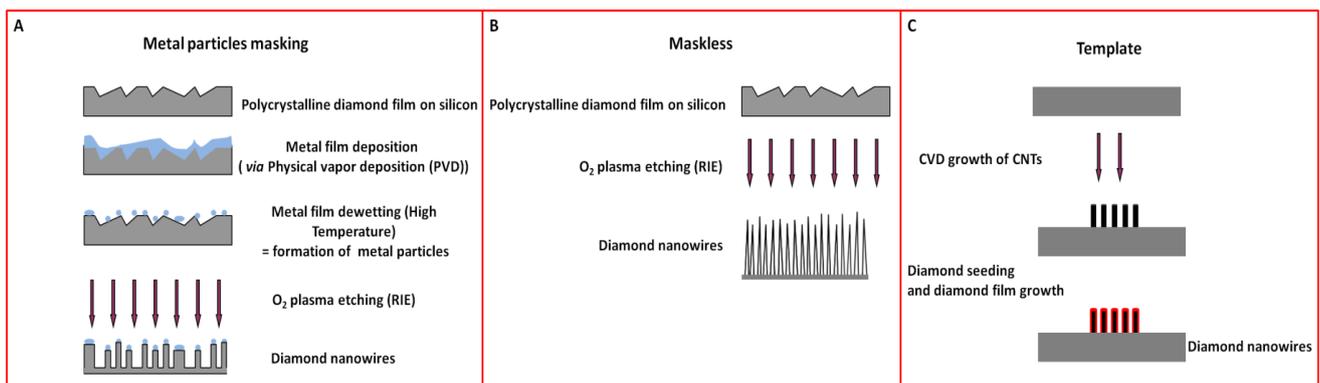
**Figure 6:** Images MEB d'un réseau de micropiliers verticaux en Si (gauche) et de nanofils horizontaux pour le développement de biocapteur électrique (droite).

Cependant dans cette partie nous présenterons uniquement la gravure sèche avec une approche différente, c'est à dire sans l'utilisation d'étape de lithographie pour la fabrication de nanofils de diamant et de "black silicon".

### 1.2.1. Nanofils de diamant

Le diamant dopé au bore (BDD) est un des matériaux les plus prometteurs et performants en tant qu'électrode électrochimique. En effet, ses caractéristiques uniques comme sa grande stabilité chimique, un faible bruit de courant, une large fenêtre de potentiel d'oxydo-réduction (-0.3V à 0.5V), et une bonne biocompatibilité en font un matériau de choix pour les capteurs électrochimiques. Ici, dans le but d'améliorer la sensibilité de détection de ces électrodes de diamant, nous avons fabriqué des nanofils de diamant.

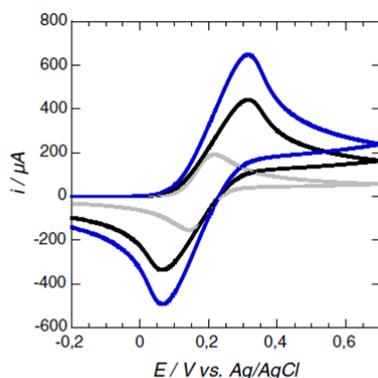
Il existe 3 principales voies pour obtenir des nanofils de diamant. Elles sont présentées dans la **figure 7**.



**Figure 7:** Méthodes d'obtention de nanofils de diamant. A) Gravure au travers d'un masque de particules métalliques ou de nanodiamant, B) sans masque (notre méthode) et C) croissance de diamant par CVD sur des nanotubes de carbone.<sup>15</sup>

A l'aide d'une gravure plasma sèche RIE réalisée sur un substrat polycrystallin de diamant fortement dopé au bore (BDD), des fils ont été obtenus. Cela a permis d'augmenter l'aire spécifique de surface. La méthode de fabrication ne nécessite aucune étape de lithographie ni de masque métallique, ce qui est avantageux au niveau du coût de fabrication (**Figure 7B**). Des nanofils de forme triangulaire sont formés avec les dimensions suivantes :

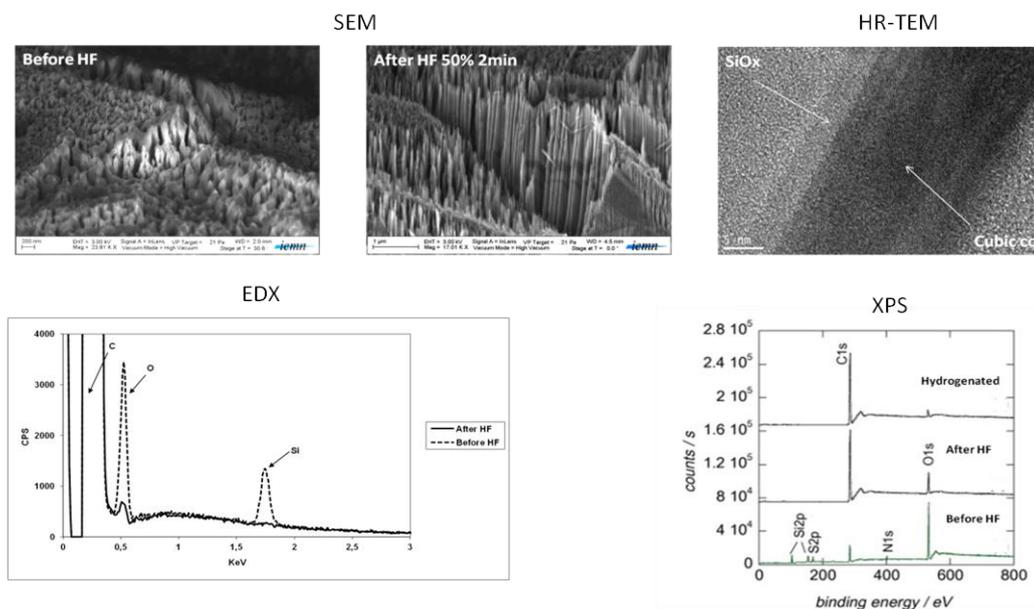
1 $\mu\text{m}$  $\pm$ 0.3 $\mu\text{m}$  de hauteur, 50 nm  $\pm$  10 nm d'apex et 200 nm $\pm$  50 nm de largeur de base. La densité, quant à elle, a été estimée à 5 $\pm$ 3.10<sup>8</sup> nanofils/cm<sup>2</sup>.<sup>16,17</sup> A partir de film de diamant dopé au bore plus épais (15 $\mu\text{m}$ ), des fils plus longs en forme d'aiguille sont obtenus avec 3 $\mu\text{m}$  $\pm$ 0.2 $\mu\text{m}$  de hauteur, un apex de 10 à 50 nm et une densité de 15 $\pm$ 3.10<sup>8</sup> nanofils/cm<sup>2</sup>.<sup>18</sup> De meilleures performances électrochimiques ont été obtenues comparativement à une surface de diamant dopé au bore plane, avec une plus grande sensibilité de détection notamment (**Figure 8**).<sup>18</sup>



10 mM Fe(CN)<sub>6</sub><sup>4-</sup>/KCl (0.1M), scan rate 50 mV/s aire = 0.1 cm<sup>2</sup>

**Figure 8:** Voltammétrie cyclique d'électrodes de diamant dopé au bore (courbe grise), petits nanofils de diamant dopé au bore (courbe noire) et long nanofils dopés au bore (courbe bleue).<sup>18</sup>

Dans la **figure 9** sont représentés des clichés MEB de nanofils de diamant obtenus. Après gravure, les fils sont recouverts d'une gangue de SiO<sub>x</sub> (5-10 nm) leur donnant un aspect arrondi. Cet oxyde de Si, peut être facilement enlever par le HF. Le HR-TEM a confirmé le caractère cristallin de ces nanofils présentant une structure cubique et une maille atomique typique du diamant.<sup>19</sup>

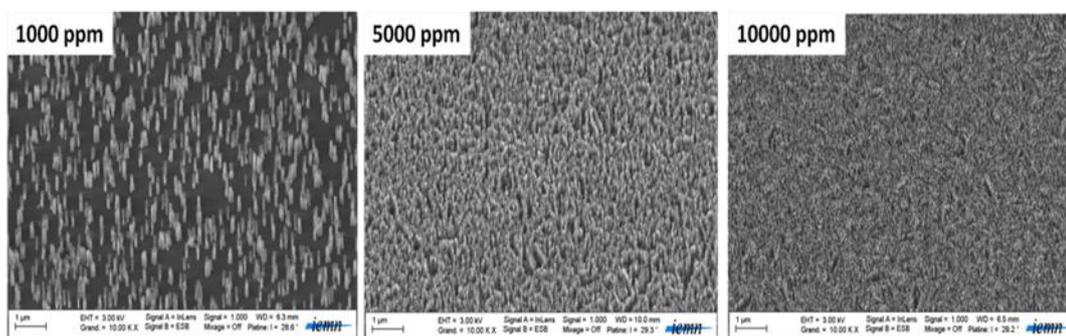


**Figure 9:** Images MEB montrant les nanofils après gravure et après traitement HF, ainsi qu'une image HR-TEM montrant le coeur cubique d'un nanofil unique. Caractérisations EDX et XPS des nanofils juste après la gravure (présence de SiO<sub>x</sub>) et après traitement HF.

L'influence du niveau de dopage du film de diamant de départ a une grande influence sur la densité des nanofils comme on peut le constater dans la **figure 10**. En effet, une concentration de Bore importante (10000 ppm) pendant

la croissance, donne une surface de nanofils de diamant très dense. Dans ce cas, les atomes de bore peuvent migrer et jouer le rôle de masque pendant la gravure RIE.<sup>20, 21</sup>

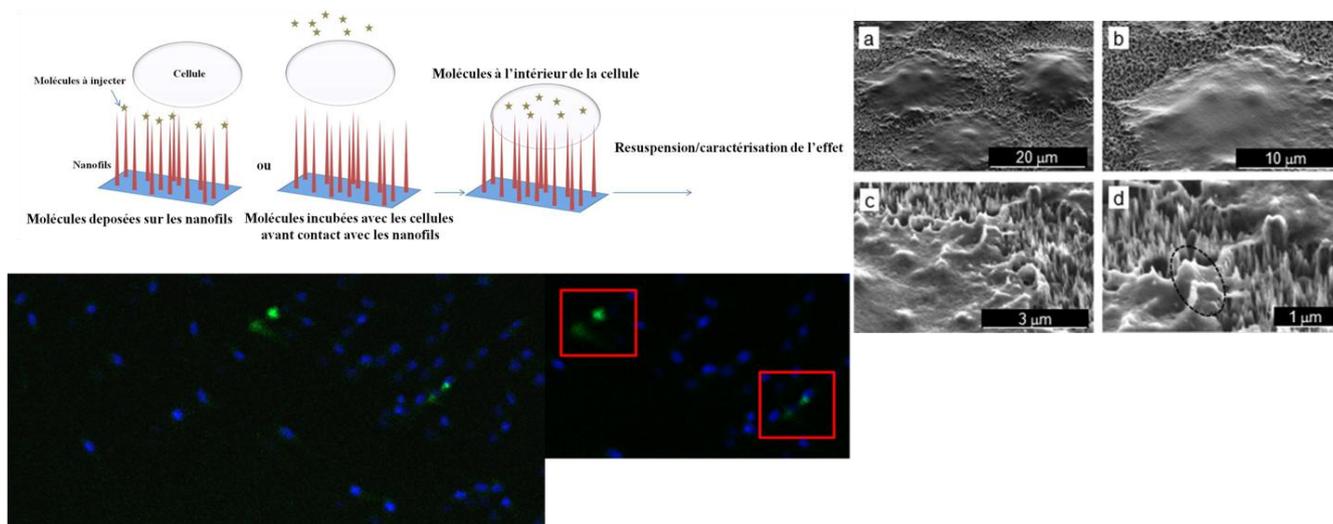
Ratio B/C pendant la croissance



**Figure 10:** Images MEB de nanofils de diamant obtenus à partir de films de diamant différemment dopés au bore.<sup>22</sup>

Récemment, nous avons montré que grâce à une imagerie Raman réalisée sur un nanofil unique de diamant dopé au bore, un effet de dédopage de la pointe et une transformation partielle de carbon  $sp^3$  (diamant) en carbon  $sp^2$ . Cependant, la gravure n'altère pas le reste du nanofil et le dédopage de la pointe n'a pas de réelle influence sur les performances électrochimiques de ces électrodes.<sup>20</sup>

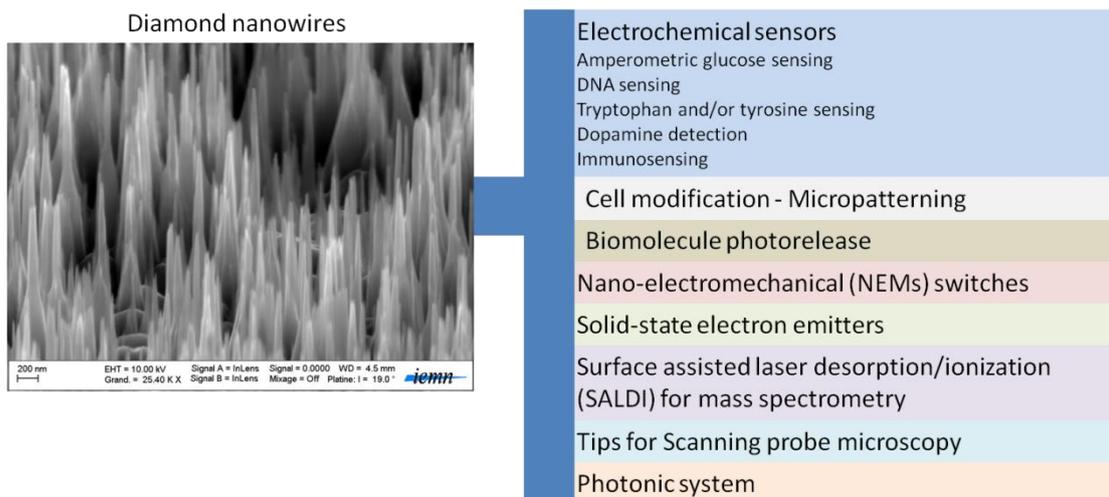
Parmi les applications que nous développons, nous trouvons le développement de capteurs électrochimiques (immunosensing, détection de glucose sans enzyme...), le micropatterning de cellules et l'étude de l'interaction cellule-nanostructure notamment pour l'entrée de composés exogènes (**Figure 11**) au niveau du cytoplasme, et enfin les interfaces pour la LDI-MS (voir partie 4).<sup>15,16,17,23,18,24,25,26,27,28,29</sup>



**Figure 11:** Différentes approches pour l'entrée de molécules exogène au sein de cellule. Soit le composé est sur le nanofil (physisorption ou chimisorption), soit le composé est en solution avec les cellules à modifier. Images MEB de cellule HeLA en contact avec des nanofils de diamant et image en fluorescence de la présence de la GFP (green fluorescent protein) au sein de cellule HeLA après contact avec les nanofils.

Cette capacité des nanofils à pouvoir accéder au cytoplasme cellulaire tout en respectant son intégrité sera exploitée dans un des projets présentés dans la partie 5. En effet, ici, les nanofils de diamant (ou autre) faciliteront la livraison cytosolique de molécules d'intérêt sans l'aide de vecteurs (particules, nanocapsules, virus...), d'électro- ou

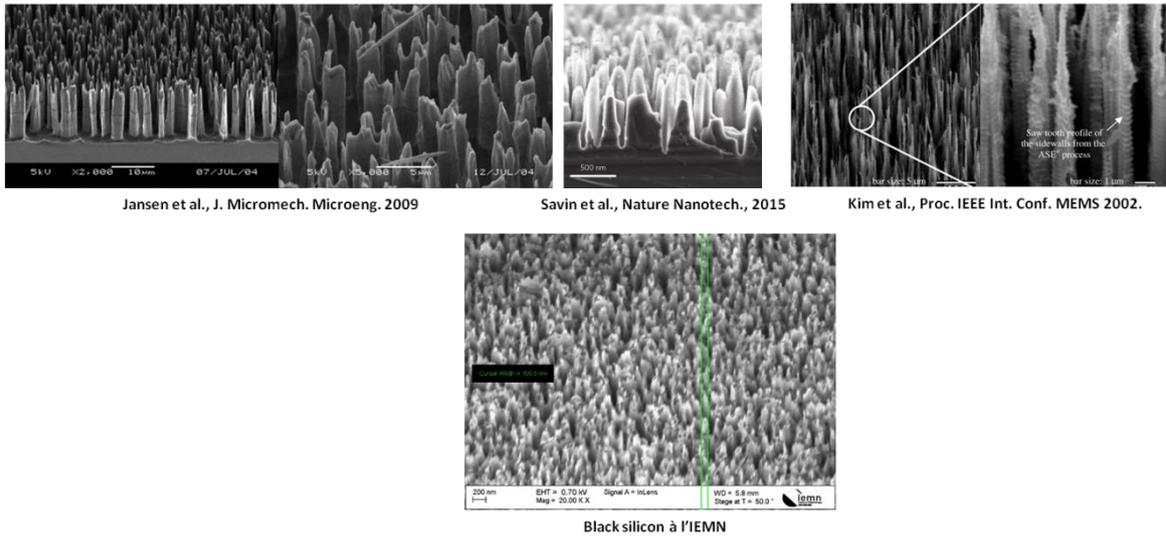
photoporation ou d'agent de transfection (lipofectamine). En effet, grâce à notre technique, la membrane cellulaire sera déformée et pénétrée par les nanofils, permettant le relargage de la molécule d'intérêt au sein même de la cellule. Le potentiel de ces nano-outils est très vaste et ils trouveront un intérêt fort dans l'étude de l'effet de certains composés agissant sur la prolifération cellulaire, la mort cellulaire programmée (apoptose), le changement de morphologie...Il permettront également une meilleure compréhension des voies métaboliques, de la transduction des signaux et des mécanismes de réparation au sein d'une cellule. Tout ceci dans le but de développer les traitements médicaux de demain. D'autres applications des nanofils de diamant sont listées dans la **figure 12**.



**Figure 12** : Applications des nanofils de diamant.

### 1.2.2. Nanofils de silicium - "black silicon" (gravure SF<sub>6</sub>/O<sub>2</sub>)

Récemment, nous nous sommes intéressés à la fabrication de nanostructures de silicium par gravure sèche dans la but de pouvoir les utiliser pour des applications en LDI-MS (partie 4). L'intérêt ici est que : la gravure est rapide <5 min et donc de nombreuses surfaces peuvent être produite en un minimum de temps. Les surfaces fabriquées semblent être homogènes. La gravure est également indépendante de l'orientation cristalline. En variant les paramètres de gravure (température, temps, gaz, débit...) des morphologies différentes peuvent être réalisées (**Figure 13**).



**Figure 13 :** "Black silicon" présentant différentes morphologies obtenues par gravure  $SF_6/O_2$ .<sup>30, 31, 32</sup>

### 1.3. Gravure humide -Metal assisted chemical etching "MACE"-

La première démonstration de gravure chimique assistée par métal a été faite en 1997 par Dimova et al.<sup>33</sup> Il s'agissait alors de silicium poreux obtenu par la gravure d'un substrat de silicium recouvert d'un film d'Al dans une solution de HF,  $HNO_3$  et d'eau. Dans ce cas, le temps de réaction a été fortement réduit grâce à la présence du métal.<sup>33</sup> Ensuite, la méthode de gravure chimique assistée par métal (méthode MACE) fut étudiée par Li et Bohn qui ont trouvé qu'un film fin de métaux nobles (Ag, Pt, Au) pulvérisé sur du Si catalysait la gravure du Si en présence de HF,  $H_2O_2$  et d'éthanol. Ils ont ainsi pu obtenir des pores à flancs droits ou des structures colonnaires.<sup>34</sup>

Depuis, de nombreuses méthodes de gravure basées sur la MACE ont été développées afin de fabriquer des nanostructures de silicium. Parmi elles, Peng et al. ont montré en 2003 que le mélange HF/AgNO<sub>3</sub> permettait à la fois le dépôt d'argent sur la surface de silicium sans électrode (galvanisation) et la gravure de silicium (dissolution du SiO<sub>x</sub> formé) aboutissant à la formation de nanofils de silicium par la méthode MACE.<sup>35</sup> C'est cette méthode que nous avons particulièrement étudiée/utilisée.

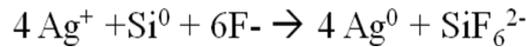
Ici, les deux phénomènes se déroulent simultanément : une réduction des ions argent  $Ag^+$  (réaction cathodique) et une oxydation du silicium (réaction anodique). Le mécanisme consiste, dans un premier temps, à la capture d'électrons de la bande de valence du silicium par les cations  $Ag^+$  et l'injection de trous dans le silicium (appauvrissement en électrons). La réduction des ions argent en nanoparticules d'argent a alors lieu et ces nanoparticules vont alors jouer le rôle de cathode :



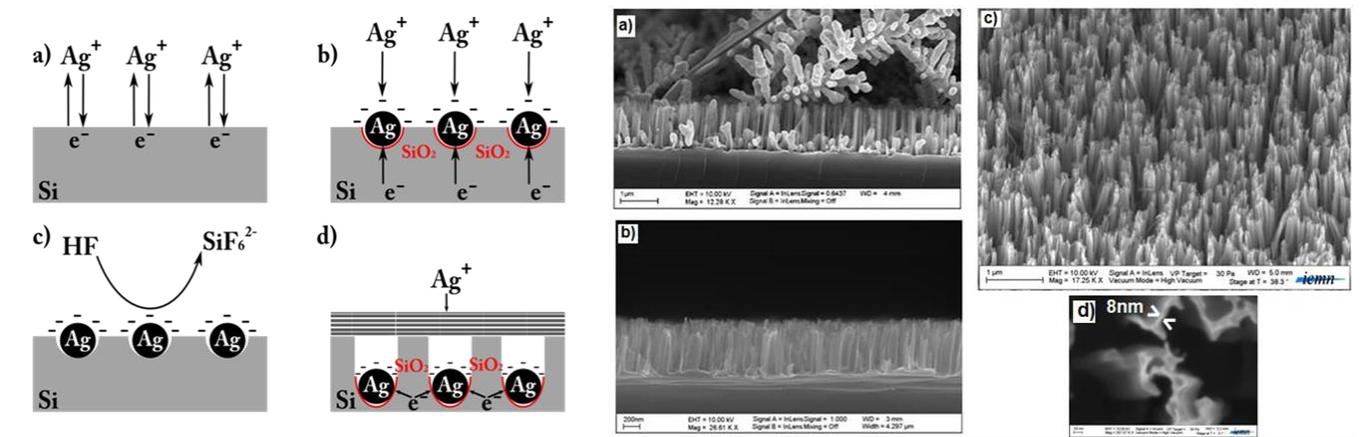
Quant au substrat de silicium, il joue le rôle d'anode. La formation de l'oxyde de silicium à l'interface Ag/Si est suivie de sa dissolution par le HF:



La réaction globale est alors la suivante :



Un schéma de principe est présenté dans la **figure 14**. Une fois formées, les nanoparticules d'argent deviennent très électronégatives, attirant les électrons du Si et favorisant la réduction à leur surface. De plus, les ions  $\text{Ag}^+$  vont préférentiellement être attirés par les particules d'argent déposées à la surface plutôt que par le silicium, conduisant ainsi à la croissance de ces particules. Dans ce cas, des dendrites d'argent peuvent se former (**Figure 14a**). Ici, les particules d'argent assurent donc le transfert localisé des électrons et des trous. Finalement, cela conduit à l'oxydation du silicium (appauvrissement en électron/enrichissement en trous) à l'interface particule/Si et le  $\text{SiO}_2$  formé est immédiatement gravé par le HF présent dans la solution. La gravure se faisant sous la particule d'argent, celle-ci descend dans l'ouverture ainsi formée (**Figure 14a**).

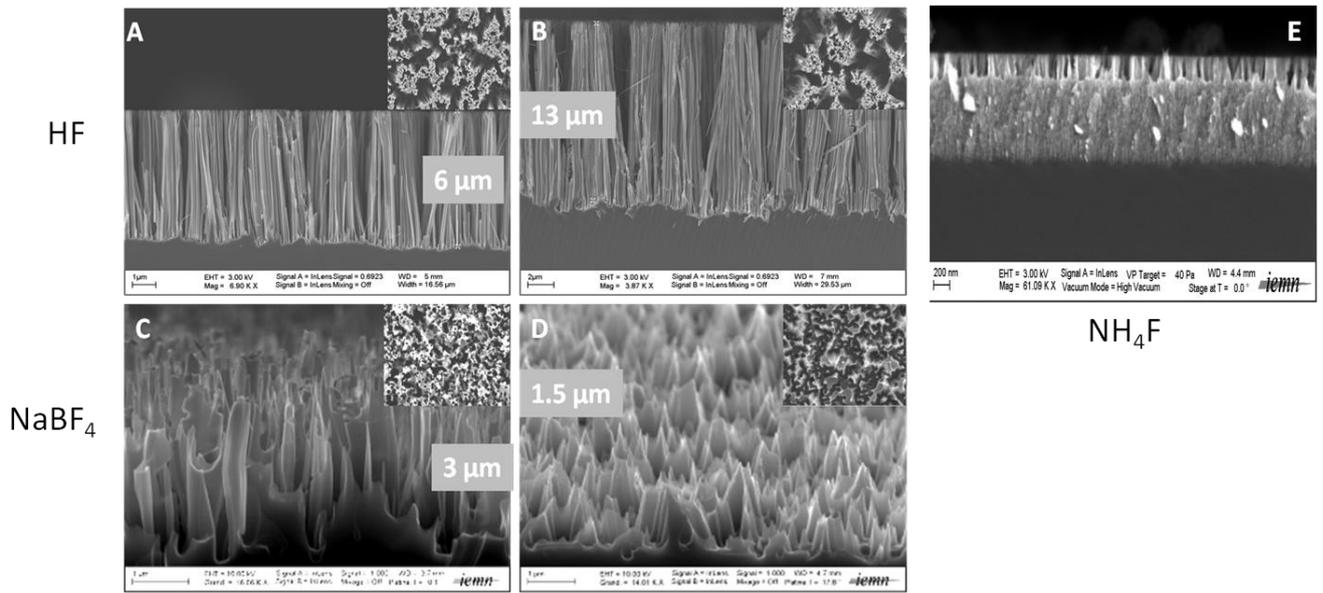


**Figure 14:** Mécanisme de la méthode MACE pour la gravure du silicium dans l' $\text{AgNO}_3/\text{HF}$  et images MEB de nanofils obtenus par la méthode MACE.<sup>35</sup>

Parmi les paramètres influençant la gravure MACE, nous avons :

- Le type de métal (Au, Ag, Pt, Cu...), la forme des particules, la distance entre particules, leur épaisseur
- Types d'oxydants et leurs concentrations :  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{HAuCl}_4$ ...
- Types de composés d'attaque et leurs concentrations : HF,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ,  $\text{NH}_4\text{F}$ ,  $\text{NaBF}_4$
- Température, temps, illumination (éventuellement)
- Paramètres du silicium : orientation, type de dopage, niveau de dopage

L'influence de quelques uns de ces différents paramètres ont été étudiés dans le cadre des thèses de G. Piret et de T. P. N. Nguyen. Dans la **figure 15**, sont représentées quelques surfaces obtenues par la méthode MACE à partir de différents composés d'attaque et de temps de gravure.



**Figure 15:** Différentes morphologies obtenues par MACE à partir de différents composés d'attaque. A)  $\text{AgNO}_3/\text{HF}$  (0.02M/5.25M), 55°C, 30 min., B) idem, 120 min., C)  $\text{AgNO}_3/\text{NaBF}_4$  (0.02M/2M), 80°C, 120 min., D)  $\text{AgNO}_3/\text{NaBF}_4$  (0.04M/3M), 80°C, 120 min., E)  $\text{AgNO}_3/\text{NH}_4\text{F}/\text{HNO}_3$  (0.02M/6M/5.73M), RT, 10 min.<sup>36, 37, 38, 39</sup>

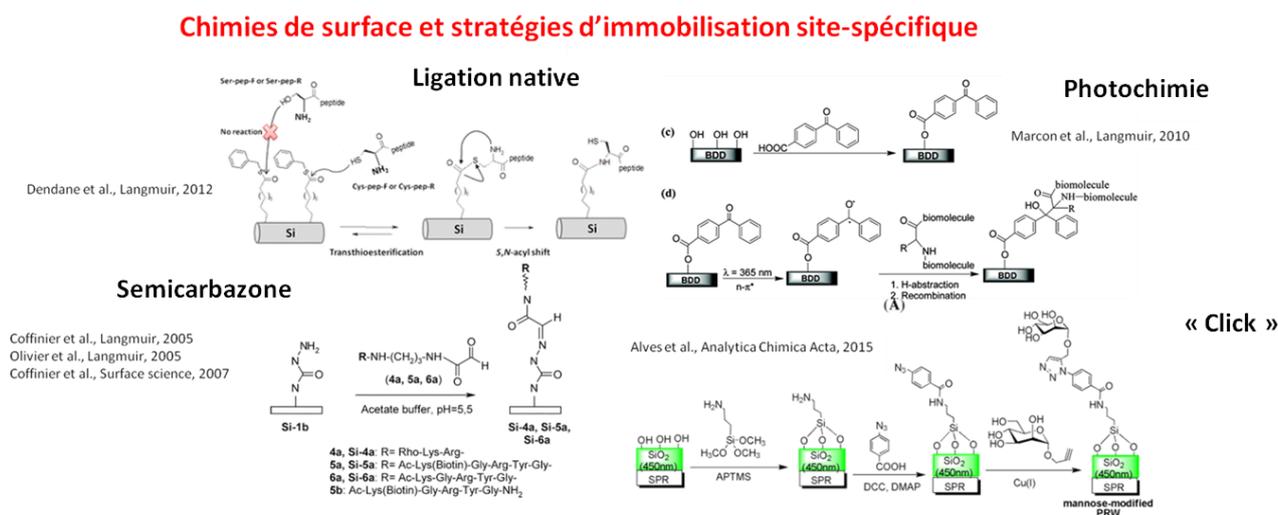
Dans la plupart des cas, la gravure est anisotrope et se fait dans la direction  $\langle 100 \rangle$  quelque soit l'orientation cristalline de départ. Cependant, en jouant sur la forme, l'espacement inter-particule et l'épaisseur des catalyseurs métalliques, des nanostructures verticales peuvent être obtenues sur des substrats de Si d'orientation [110] ou [111].<sup>40</sup> Ce type de nanostructuration est relativement simple de mise en oeuvre (pas besoin de gros équipement par ex.), est de faible coût et permet de fabriquer des nanostructures en Si (ou à partir d'autres semiconducteurs (Ge ou GaAs par ex.) très variées.<sup>41,42,43</sup> Ces structures présentent alors des diamètres, des dimensions, des morphologies, des orientations, et des types et niveaux de dopage différents.

L'obtention de ces nombreuses nanostructures de silicium et de carbone a permis d'envisager leur utilisation dans de nombreuses applications. Cependant, il est souvent nécessaire de les fonctionnaliser au préalable. Dans la partie suivante, nous décrivons quelques types de fonctionnalisations (organique ou inorganique) développées et réalisées ainsi que quelques applications associées.

Ces post-modifications peuvent servir soit à introduire de nouvelles fonctions réactives pour le greffage de sondes biologiques/biochimiques, soit apporter de nouvelles propriétés (superhydrophobicité par ex.) ou encore de passiver/stabiliser les nanostructures vis-à-vis de leur environnement. Ces fonctionnalisations peuvent se faire, à l'instar des surfaces planes, par la voie organique (greffage/dépôt de couches organiques) ou par la voie inorganique avec un dépôt de film ou de particules. Tandis que pour la voie organique, le greffage chimique (chimisorption) est principalement utilisé, la physisorption peut dans certains cas être réalisée (dépôt par Langmuir blodgett ou par induction par ex.). Concernant la voie inorganique, nous avons accès à tout un panel de méthodes permettant la fonctionnalisation des nanostructures. Par exemple le dépôt de particules ou de films par la voie électrochimique, par voie "electroless", par ALD, PVD ou encore par synthèse hydrothermale... A ce propos, 2 chapitres de livres ont été consacrés à la fonctionnalisation du silicium poreux et des nanofils de silicium.<sup>44,45</sup>

### 2.1. La voie organique

Dans la plupart des cas, l'immobilisation de sondes (peptide, protéines) sur un capteur se fait par la stratégie NHS/EDC(DCC), très bien connue et documentée. Dans ce cas, une fonction amine ou acide carboxylique (transformée ensuite en ester NHS) est introduite sur la surface. Ces fonctions peuvent ensuite réagir avec soit une fonction ester (-NHS) ou une fonction amine primaire portée par la sonde à immobiliser. Cette stratégie ne permet pas un contrôle de l'orientation des sondes, sauf dans le cas d'oligonucléotides (ex. Aptamer) où la fonction amine est ajoutée de manière artificielle et localisée ou lorsque la fonction amine est présente en un seul exemplaire et accessible. Dans le but d'optimiser la reconnaissance de la cible, nous avons donc développé/utilisé des chimies de surface chimiosélectives et/ou site-spécifiques. Dans la section suivante, quelques unes de ces méthodes seront détaillées (**Figure 16**).



**Figure 16:** Chimies de surface et stratégies d'immobilisation de sondes.

### 2.1.1 Native chemical ligation (NCL)

Un des exemples de chimie de surface développées sur les nanostructures a été réalisé dans le cadre d'un projet ANR PNANO entre 2005 et 2009 (projet NanoBiodétecteur, encadrement Post-doc, N. Dendane). Il s'agissait de développer un dispositif de détection électrique pour l'étude d'une activité enzymatique (Héparanase). Cette enzyme est une enzyme clé dans l'angiogenèse tumorale et les mécanismes métastatiques. En effet, elle a la capacité de cliver les héparane-sulfates (HeS), des polysaccharides sulfatés constituant la matrice extracellulaire ou présents à la surface des cellules.

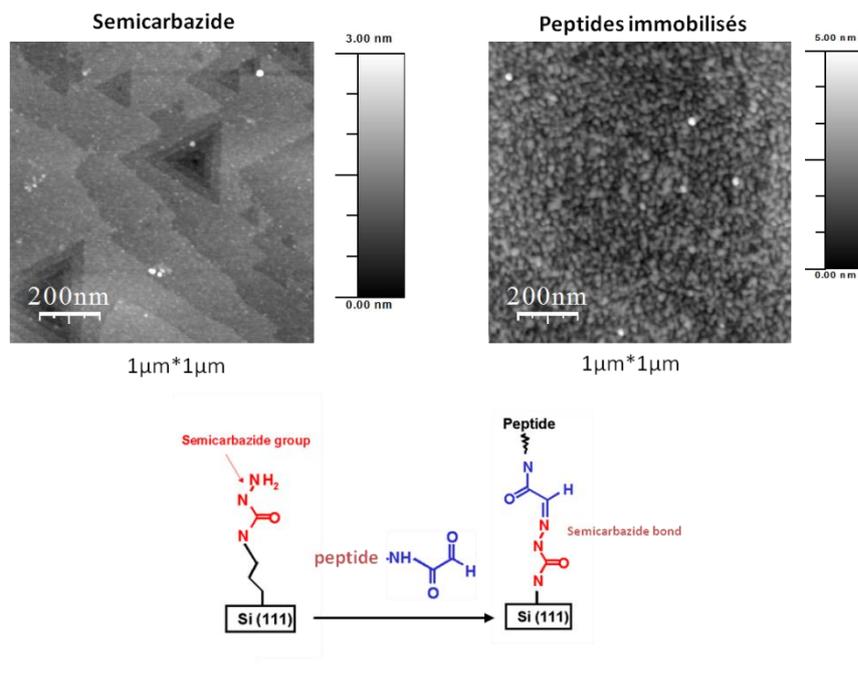
Pour ce faire, des dispositifs électriques originaux à base de nanofils de silicium ont été développés et utilisés (**voir partie 1, figure 6**). La stratégie originale envisagée pour l'immobilisation des sondes est la chimie de ligation native (Native chemical ligation (NCL)). Cette chimie a l'avantage d'être site-spécifique et chimiosélective. Ce type de chimie est particulièrement adapté lorsque l'on veut contrôler la bonne orientation de la sonde afin d'améliorer la reconnaissance de la cible. La NCL permet de former une liaison amide stable. Nous avons choisi l'hydrosilylation activée par voie thermique afin d'introduire l'acide undécylénique sur les nanofils de silicium hydrogénés. Un thio-ester a ensuite été formé (benzyl mercaptan). Les étapes d'immobilisation des peptides par NCL sont présentées dans la **figure 16**.

Afin de caractériser le greffage de biomolécules, nous avons opté pour l'utilisation de 4 peptides de synthèse portant soit un fluorophore (Tetramethyl Rhodamine) ou soit un groupement trifluorométhyl  $\text{CF}_3$  à l'extrémité d'une chaîne latérale de lysine. Chacun de ces peptides portait en N-terminal, soit une cystéine pour la ligation soit une sérine (contrôle négatif). Le fluorophore a permis de caractériser rigoureusement la liaison du peptide à la surface par fluorescence tandis que le groupement trifluorométhyl, a permis la caractérisation par XPS.<sup>6</sup>

### 2.1.2. Formation de liens semicarbazone

Un autre type de chimie chimiosélective est l'utilisation des fonctions semicarbazide afin d'immobiliser des peptides par un lien semicarbazone stable dans le cadre de développement de biopuces à peptide pour la détection du virus de l'hépatite C et de l'herpès (**voir figure 16**).<sup>46</sup>

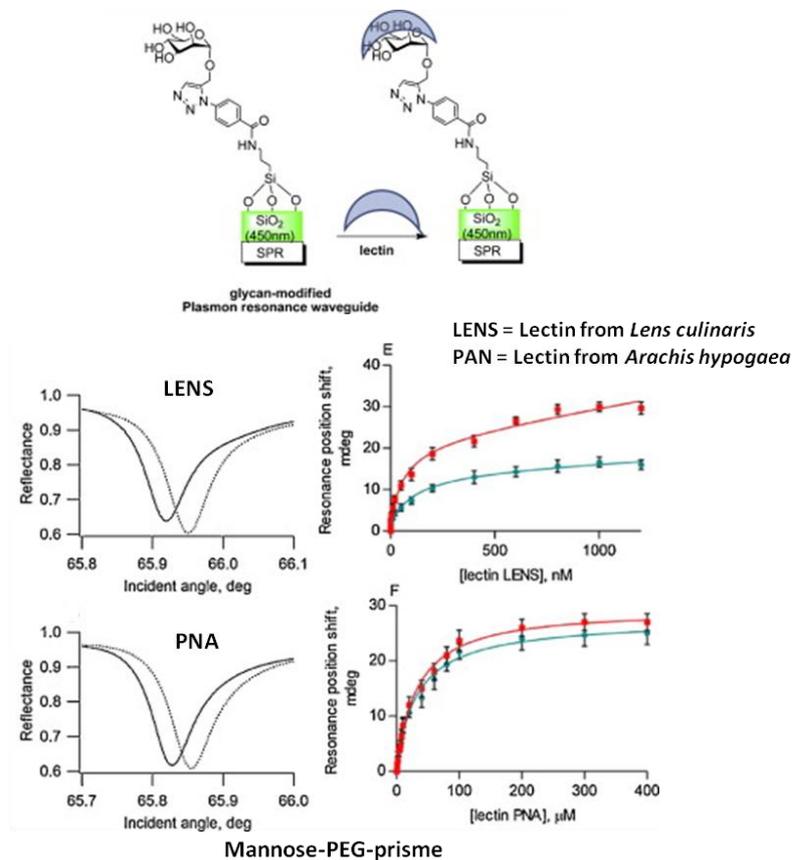
Grâce à l'AFM, nous avons pu suivre le greffage des peptides sur le silicium préalablement activé par des groupements semicarbazides déprotégés. Pour ce faire, du silicium orienté [111] a été utilisé de façon à obtenir des terrasses atomiquement planes permettant ainsi l'observation des peptides greffés sur la surface. Sur la **figure 17**, on distingue nettement les terrasses atomiques avant le greffage des peptides, alors que dès que les peptides sont immobilisés, on observe un changement drastique de la morphologie de surface avec l'apparition de grains correspondant aux peptides.<sup>46</sup> Le silicium n'étant pas le meilleur candidat pour des mesures en fluorescence (à cause d'interférences optiques conduisant au quenching de la fluorescence), cette chimie a été également adaptée à d'autres substrats comme le verre, le nitrure de silicium enrichi en Si ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) et le diamant dopé au bore.<sup>47,48, 49,50</sup>



**Figure 17:** Images AFM d'une surface de silicium [111] activée par des groupements semicarbazides avant et après greffage de peptides.<sup>46</sup>

### 2.1.3. La chimie "click" - Réaction de Huisgen - Cycloaddition 1,3-dipolaire

Plus récemment, la chimie "click" a été utilisée dans le cadre de développement de capteurs SPR pour l'étude des différentes interactions se déroulant entre les sucres et les récepteurs biologiques de type lectine. En effet, les interactions sucres-protéines jouent un rôle essentiel dans de nombreux processus cellulaires tels que l'adhésion cellulaire, les infections virales et bactériennes, mais également dans le fonctionnement du système immunitaire et la croissance des tissus. Il est nécessaire d'avoir un système d'étude robuste. Dans ce cadre, les techniques de détection sans marqueurs ("label-free") telle que la résonance plasmonique de surface (SPR) sont particulièrement attrayantes. Dans le même temps, un capteur efficace nécessite de développer une chimie stable, robuste et reproductible pour l'immobilisation de sucres (jouant ici le rôle de sonde) sur la surface du capteur. Cela permet d'avoir une très bonne reconnaissance vis-à-vis de la cible ainsi qu'une très grande sélectivité, notamment lorsque l'on travaille avec des échantillons complexes. Nous avons donc développé une nouvelle plateforme d'analyse pour la détection sensible et sélective des interactions entre glucides et lectine en utilisant la résonance plasmonique de guide d'ondes (Plasmon waveguide resonance). Ces guides d'ondes sont constitués de prismes en verre recouverts d'argent (50 nm) surmonté d'une couche de SiO<sub>2</sub> (460 nm) déposée par PECVD. Ces prismes ont été fonctionnalisés chimiquement de façon à introduire des fonctions azide de surface par silanisation. Puis, dans un second temps, soit le propargyl-mannose ou le propargyl-lactose, ont été immobilisés par la formation d'une liaison covalente (triazole) par chimie "click" en présence d'un catalyseur cuivré (Cu (I)) (**Figure 18**). L'introduction d'un oligo(éthylène glycol) intercalé entre la surface et les sucres a permis la détection d'interactions sucres-lectines (LEN et PNA) de manière hautement sélective. La limite de détection (LOD) de lectine (LEN) obtenue par cette méthode est de 0,5 nM.<sup>51</sup>



**Figure 18:** Greffage de sucres sur un guide d'onde pour la résonance plasmonique de surface et la détection spécifique de lectine.<sup>51</sup>

#### 2.1.4. La photochimie

Les réactions induites par la lumière entre une sonde photoréactive introduite sur une surface et des liaisons CH présentes sur des molécules biologiques telles que des protéines (enzymes, anticorps...), des oligonucléotides ont été intensivement étudiées au cours de la dernière décennie.<sup>52,53</sup> L'un des principaux avantages de l'utilisation de la photoimmobilisation est la possibilité de "micropatternner" la surface avec des biomolécules en utilisant des approches photolithographiques. Cela permet de s'affranchir dans certains cas de l'étape de "spotting" lors de la fabrication de "microarrays". Cette stratégie de fabrication possède donc un énorme potentiel dans la fabrication de capteurs pour le diagnostic médical et le criblage haut-débit (recherche de nouveaux médicaments par ex.). Une des photosondes les plus efficaces est la benzophénone.<sup>54</sup> Celle-ci est en effet stable sous la lumière ambiante et les solvants protiques. Elle peut être activée à des longueurs d'ondes qui ne causent que peu de dégâts aux biomolécules ( $\lambda > 340$  nm). Le mécanisme de photocouplage par la benzophénone comprend une excitation conduisant à la formation d'un diradicaloïde. L'oxygène, déficient en électrons, interagit avec des liaisons C-H faibles, arrachant un H suivi d'une recombinaison radicalaire. Cela crée alors une liaison covalente avec des oligonucléotides et des protéines possédant des liaisons C-H accessibles.<sup>55</sup> Cette approche a été utilisée pour l'immobilisation de la GFP (Green fluorescent protein) et la streptavidine sur des surfaces de diamant dopé au bore et préalablement activées par la benzophénone. Des motifs ont été créés grâce à l'utilisation de la photolithographie (masque optique). Autour de ces motifs, il a été montré que la présence de PEG limitait de manière significative les

interactions non spécifiques. Enfin, l'immobilisation de la streptavidine a été mise en évidence grâce à l'interaction avec la biotine conjuguée à un Qdot 605.<sup>56</sup>

La photochimie peut également être utilisée pour le relargage contrôlé de molécules ou de composés. Cet aspect sera évoqué plus en détail dans la partie 4 et dans la partie 5 dédiée aux projets.

## 2.2 . La voie inorganique

---

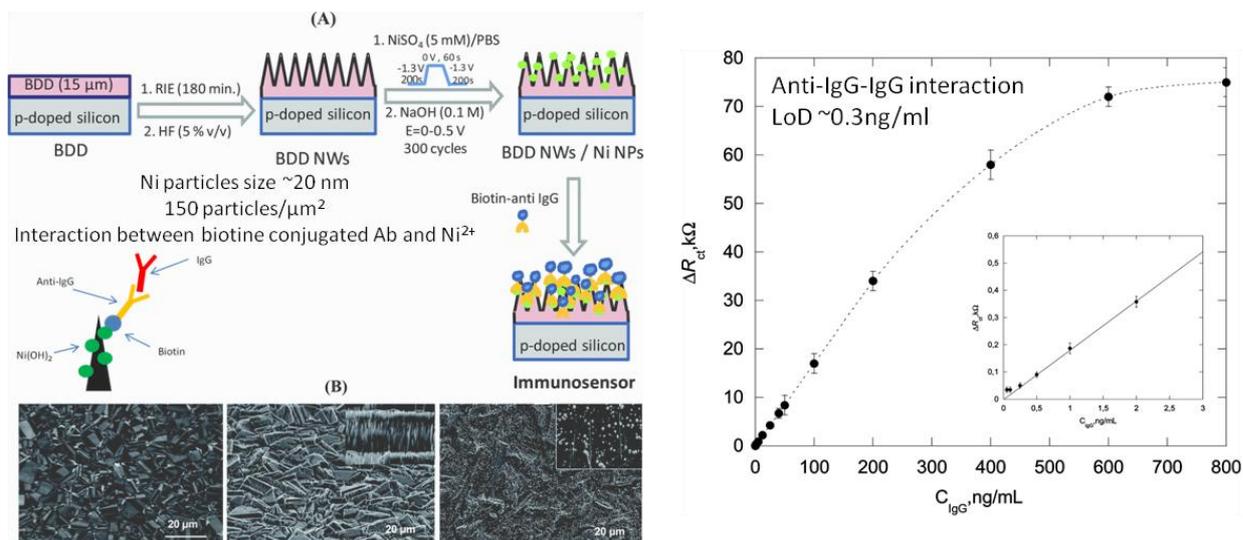
Plusieurs fonctionnalisations inorganiques de nanostructures ont été développées et utilisées pour différentes applications au cours de ces années. Nous en présentons quelques unes dans cette section.

### 2.2.1. L'immunodétection

---

L'immunodétection repose sur l'interaction entre l'anticorps (Ac-paratope) et l'antigène (Ag-épitope). C'est une technique de détection très sélective, permettant une capture spécifique dans des milieux complexes. La grande spécificité est obtenue grâce à la formation d'un complexe immun stable entre l'Ac et l'Ag. La plupart des méthodes d'immunodétection sont basées sur le principe de la méthode "sandwich" qui utilisent plusieurs types d'Ac conjugués à des enzymes (HRP, Horseradish peroxydase) ou fluorophores pour une détection colorimétrique ou fluorométrique. Cette technologie connue sous le nom d'ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) reste encore à l'heure actuelle la technique de référence utilisée en laboratoire d'analyse. Cependant, d'autres types de détecteurs basés sur cette immunodétection ont depuis été développés. Parmi eux, nous avons les techniques optiques (SPR) ou électriques (de type transistor à effet de champ "FET") dites "label free".<sup>57,58</sup> Elles ont montré des performances équivalentes voire meilleures que le test ELISA sans utilisation de marqueurs, diminuant ainsi le coût et améliorant le temps de réponse. Dans ce cadre, nous avons développé un nouveau type d'immunocapteur électrochimique (EIS) basé sur l'utilisation de nanofils de diamant.<sup>26</sup> Pour ce faire, ces nanofils de diamant ont été décorés avec des particules de Ni. Ces particules ont été déposées électrochimiquement par 10 cycles de réduction de sel de nickel ( $\text{NiSO}_4$  à -1.3V pendant 200s). Nous avons obtenu une densité de particules d'environ 150 particules de Ni/ $\mu\text{m}^2$ . Les particules ont une taille moyenne de 20 nm et sont uniformément réparties autour des nanofils de diamant. Ensuite, ces nanofils de diamant décorés ont été immergés dans une solution de NaOH (0.1M) et soumis à 300 cycles électrochimiques entre 0 et 0.5V de façon à enrichir la phase  $\beta\text{-Ni}(\text{OH})_2$ . La présence de particules de nickel sur les nanofils de diamant a été confirmée par microscopie électronique et XPS. Cette nouvelle interface a permis de développer un immunocapteur électrochimique. En effet, un anticorps conjugué à la biotine (sonde) a été immobilisé de manière non-covalente (interaction biotine-Ni<sup>2+</sup>) sur les nanofils décorés. Ensuite, la détection d'immunoglobuline par spectroscopie d'impédance (Electrochemical impedance spectroscopy (EIS)) a été réalisée. Nous avons ainsi pu observer une augmentation de la résistance au transfert de charge après la capture de l'immunoglobuline. Nous avons obtenu une détection limite (LOD) de 0.3 ng/ml ainsi qu'une gamme dynamique pouvant aller jusque 300 ng/ml (**Figure 19**). Les performances obtenues en terme de détection sont comparables, voire meilleures, que celles présentées dans la littérature (CNT, BDD-poly-o-ABB...)<sup>26</sup> Nous avons également démontré que les performances du capteur étaient stables au cours du temps et qu'il pouvait être réutilisé après

une étape de régénération effectuée en incubant soit l'interface dans une solution de NaOH (0.1M) ou dans une solution d'EDTA afin de rompre l'interaction Ac-biotine-Ni<sup>2+</sup>.



**Figure 19:** Nanofils de diamant décorés de particules de Ni pour l'immuno-détection.<sup>26</sup>

### 2.2.2. Développement d'interfaces nanostructurées pour la spectroscopie Raman exaltée (SERS)

Un des principaux avantages de la spectroscopie Raman sur les techniques classiques de spectroscopies vibrationnelles est la facilité avec laquelle des informations fiables peuvent être obtenues à partir d'environnement complexe comme par exemple des tissus vivants. Avec la découverte du SERS "surface enhanced Raman spectroscopy" (SERS), le problème de la faible sensibilité de détection du Raman a été réglé.<sup>59</sup> De nos jours, le SERS est utilisé comme un outil puissant pour obtenir des informations moléculaires à partir de molécules chimiques ou biologiques qui se trouvent soit en solution ou soit sur une surface. Les applications sont alors très variées.<sup>60</sup> Deux mécanismes sont proposés :

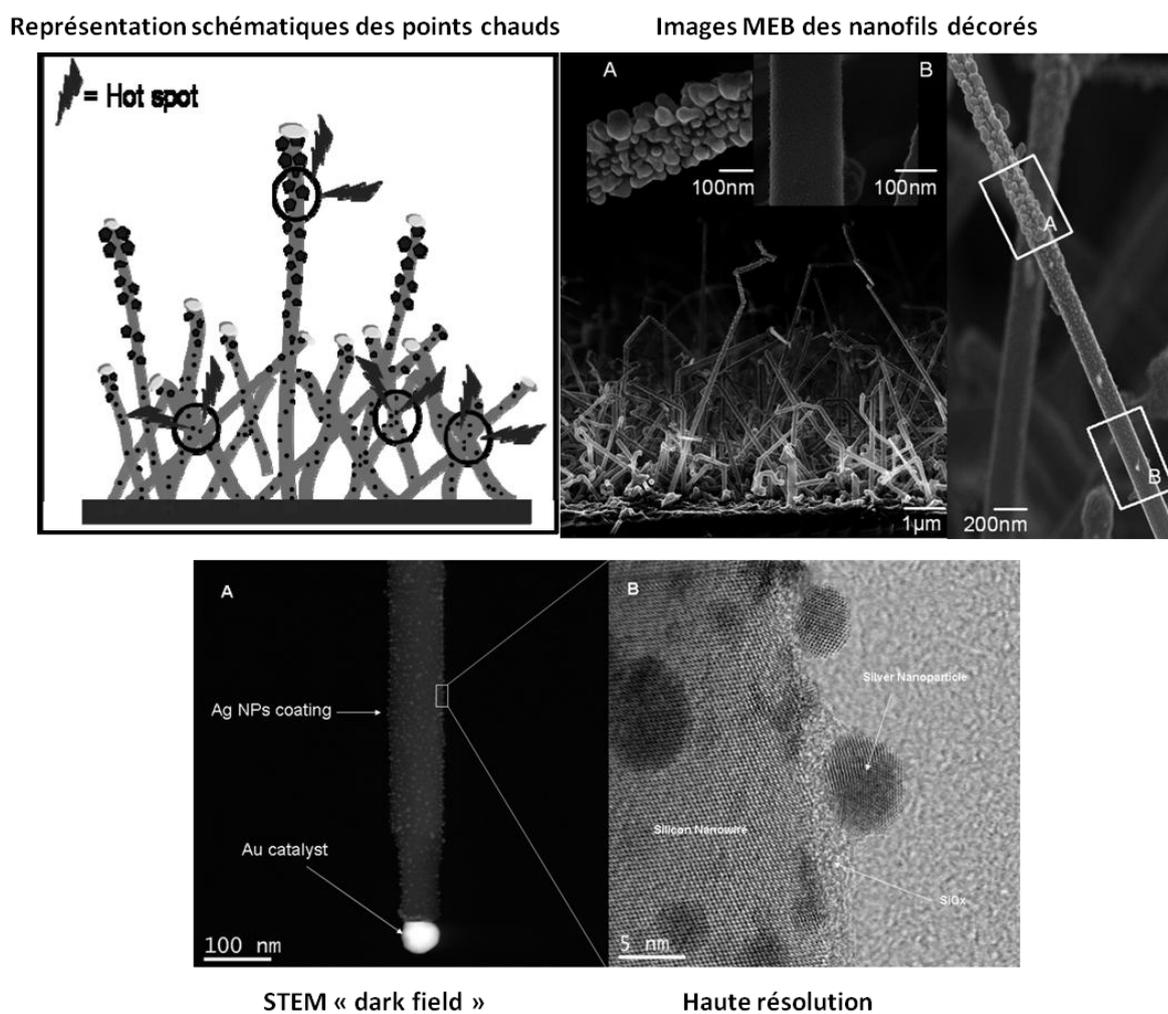
Le premier est basé sur l'effet électromagnétique et est l'effet dominant de l'amplification. En effet, le champ électromagnétique au niveau ou proche de la surface d'une particule de métal noble (Au, Ag...), après irradiation laser, est amplifié notamment grâce à la présence de plasmons de surface localisés (LSPR) conduisant à une diffraction Raman plus intense des molécules adsorbées ou proches de la surface de la particule.

En ce qui concerne la sensibilité du SERS, celle-ci est fortement dépendante de la taille, de la forme, de la composition, de l'organisation des particules et de la structure de la surface. Le second mécanisme est un effet purement chimique qui implique des interactions spécifiques entre les analytes et les particules de métal. De plus, l'orientation de la molécule par rapport à la surface est importante et peut être détectée.<sup>60</sup> En résumé il n'y a pas d'effet SERS sans molécules, mais également sans réseau de particules (sous irradiation lumineuse).

Des efforts considérables ont été conduits afin d'améliorer le facteur d'amplification et donc la sensibilité de détection du SERS. La majorité des interfaces disponibles dans le commerce montrent des facteurs d'amplification de 10<sup>4</sup> à 10<sup>5</sup> et quelques exemples ont montré des facteurs d'amplification allant de 10<sup>12</sup> et 10<sup>14</sup>. Parmi les interfaces SERS développées, les nanoparticules d'Ag, de cuivre ou bien de nanofils d'oxyde de silicium ou de silicium décorés

par des nanoparticules d'Ag ont prouvé leur efficacité en tant qu'interface utilisable pour le SERS, présentant un bon facteur d'amplification.

Dans notre étude, des nanoparticules d'Ag (Ag NPs) ont été déposées par voie "electroless" sur des nanofils de Si préparés par croissance CVD. Les résultats montrent que nos interfaces ont un facteur d'amplification de  $2.3 \cdot 10^8$ , ce qui a permis de détecter de la rhodamine 6G (R6G) jusqu'à une concentration de  $10^{-14}$  M. Ce facteur d'amplification important est attribué à la présence de points chauds au niveau du substrat nanofils Si + Ag NPs. En effet, la morphologie de nos surfaces se prête particulièrement bien au SERS puisque les nanofils décorés sont enchevêtrés, créant ainsi ces points chauds ("hot spots") (**Figure 20**).<sup>61</sup>



**Figure 20:** Représentation schématique des nanofils de silicium enchevêtrés synthétisés par CVD et décorés de particules d'Ag (méthode electroless). Images MEB des nanofils et caractérisation en STEM montrant la présence de particules d'Ag et du catalyseur Au.<sup>61</sup>

### 2.2.3. Nanofils de silicium pour l'environnement

#### 2.2.3.1 Nanofils de silicium pour la catalyse

La limitation de l'impact de la pollution par les hydrocarbures et autres polluants organiques est un enjeu majeur de société et notamment de santé publique. Afin d'améliorer la qualité de l'air et de l'eau, il est donc nécessaire de pouvoir décontaminer les milieux pollués. Dans ce cadre, la conception et le développement de

nouveaux matériaux performants, durables et peu chers sont cruciaux. Dans la **figure 21** sont résumés les différentes surfaces développées à base de nanofils de silicium pour la catalyse et la photocatalyse au cours de ces années au sein de l'équipe.

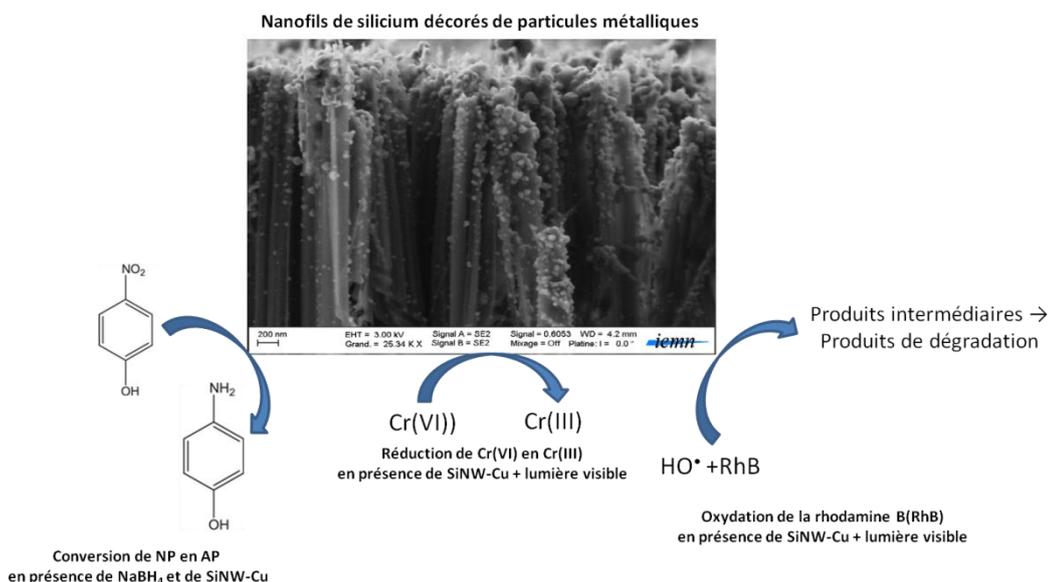
Les nitrophénols et leurs dérivés sont des contaminants de l'eau principalement issus des déchets de fabrication des pesticides, de colorants ou de certains produits pharmaceutiques. Ces déchets sont les principales sources de nitrophénols des effluents. La technique d'adsorption (charbon actif) est l'une des méthodes les plus efficaces pour supprimer ces nitrophénols de ces eaux usées. Cependant, ces techniques produisent des boues toxiques qui restent techniquement et/ou économiquement difficile à éliminer définitivement. Alternativement, ces composés nitrophénol pourraient être réduits en dérivés aminophénol. La valorisation de ces dérivés dans de nombreuses applications industrielles comme leurs utilisations dans les révélateurs photographiques, les inhibiteurs de corrosion, comme colorant ou encore dans la voie de synthèse de produits pharmaceutiques est, à l'heure actuelle, une voie très pertinente pour la gestion et la remédiation environnementale de ce type de déchets.

Dans une étude récente, nous avons démontré que des SiNWs, obtenus par la méthode MACE à partir de silicium cristallin et ensuite décorés de particules d'Ag ou de Cu déposées par voie "electroless", pouvaient être utilisés avec succès pour la réduction chimique du 4-nitrophénol en 4-aminophénol en présence du réducteur  $\text{NaBH}_4$ . La présence de particules d'Ag ou de Cu sur les SiNWs a été confirmée par MEB, XRD et analyse XPS. La réduction catalysée du 4-nitrophénol en 4-amino phénol soit par SiNWs-Ag ou SiNWs-Cu en présence de  $\text{NaBH}_4$  a été suivie par spectroscopie UV-visible. Par rapport au SiNWs-Ag, les SiNWs-Cu ont montré une meilleure activité catalytique à température ambiante. En outre, le SiNWs-Cu a montré une plus grande stabilité au cours du temps et a pu être ré-utilisé plusieurs fois sans perte notable de son activité catalytique. Cependant, les résultats d'analyse XPS ont montré une diminution de la teneur en Cu des SiNWs-Cu, expliquant qu'après 10 cycles de réduction, la légère diminution des performances.<sup>62</sup>

Dans la continuité de nos travaux sur l'utilisation de nanofils de silicium fabriqués par la méthode MACE pour la photocatalyse, nous avons voulu étudier plus précisément l'influence de paramètres de leur fabrication sur leurs propriétés anti-réfléctives et leur activité photocatalytique. Pour ce faire, nous avons fait varier le temps de réaction la concentration en réactifs ( $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{F}$ ,  $\text{HNO}_3$ ). Nous avons trouvé qu'un temps de gravure de 15 min avec une concentration en  $\text{AgNO}_3$  de 0.02M donnait la plus faible réflectivité (maximum d'absorption) entre 200 et 800 nm. Ces SiNWs hydrogénés ont ensuite donné d'excellentes performances pour la dégradation de la rhodamine B (colorant modèle) sous irradiation UV (365 nm) ou visible (>420 nm). Cependant, lorsque ces mêmes surfaces sont décorées par des particules de Cu ou d'Ag, les performances ont été nettement améliorées avec une forte influence de la densité des particules de Cu sur l'activité catalytique.<sup>39</sup> Ces résultats ont confirmé ceux obtenus sur des nanofils de silicium décorés avec des particules de Cu.<sup>63</sup>

Le chrome hexavalent Cr(VI), polluant présent dans de nombreux pays, responsable de la contamination des sols et des nappes phréatiques, est un problème important de santé publique. Ce polluant est déversé dans l'environnement par un large éventail d'industries telles que celles impliquées dans la production d'acier (inoxydables), de matériaux réfractaires, le tannage du cuir, synthèse de colorants, les industries chimiques et

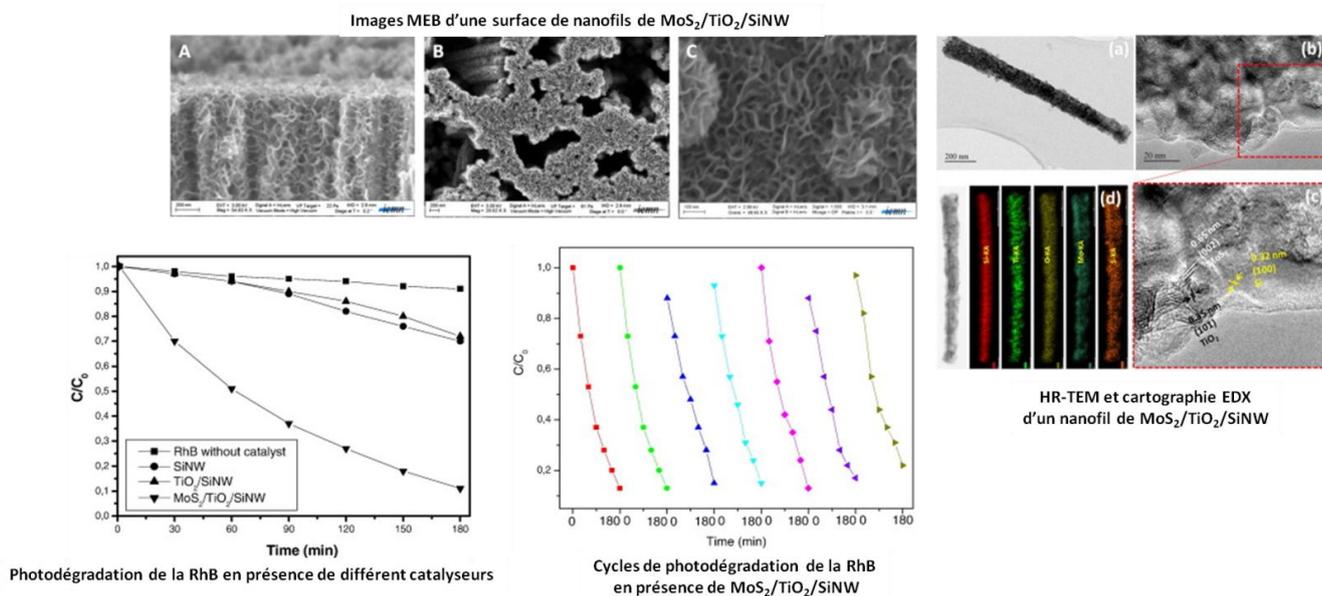
de traitement du bois... Le Cr(VI) est toxique pour les êtres vivants (hommes, animaux, plantes et micro-organismes) alors que le Cr(III) l'est beaucoup moins. De plus, ce dernier est un élément nutritif essentiel pour les humains et les animaux. La possibilité de réduire le Cr(VI) en Cr(III) est donc très important dans l'optique d'assainir des sites contaminés (remédiation). Dès lors plusieurs études se sont portées sur la réduction de Cr(VI) en Cr(III) en utilisant des catalyseurs à base de semi-conducteurs, tels que le  $\text{TiO}_2$ , les nanotubes de  $\text{TiO}_2$  dopés au  $\text{WO}_3$ , ainsi que des matériaux composites comme le  $\text{NaTaO}_3$ , le  $\text{NiO/TiO}_2$ , le  $\text{ZnO/TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2/\text{graphène}$  sous irradiation UV ou visible. Nous avons déjà montré que les SiNWs décorés de particules métalliques (Ag et Cu) possédaient une très bonne activité catalytique pour la dégradation de colorants (oxydation de la RhB).<sup>39,63</sup> Ici, les H-SiNWs et les SiNWs décorés avec des particules de Cu (SiNW-Cu) ont été étudiés pour leur capacité à pouvoir réduire le Cr(VI) en Cr(III) sous lumière visible. Il a été constaté que les nanofils hydrogénés (H-SiNWs) n'étaient pas assez efficaces pour la réduction du Cr(VI), tandis que les SiNW-Cu conduisaient à une réduction totale de Cr(VI) après 140 min d'irradiation. L'ajout d'acide citrique (5 mM) dans la solution a fortement accéléré le taux de réduction.<sup>64</sup>



**Figure 21:** SiNWs et particules métalliques pour la catalyse.<sup>39,62,63,64</sup>

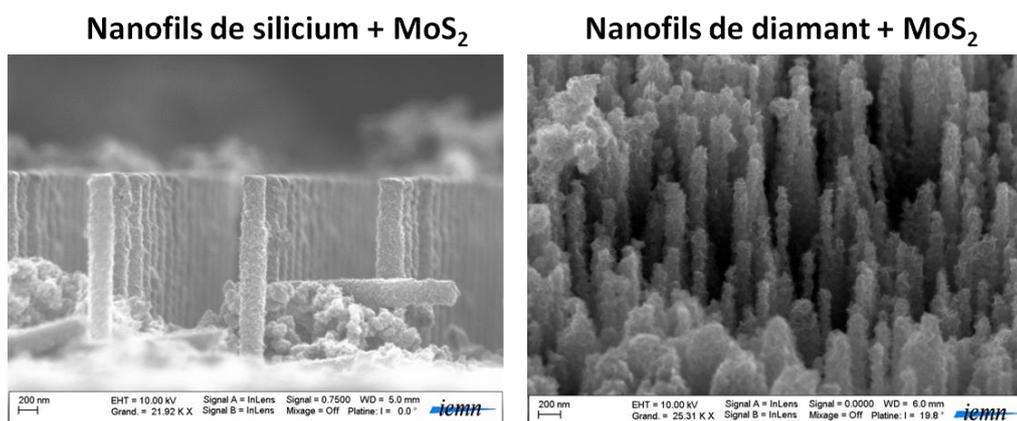
Très récemment, nous avons décrit une méthode simple, peu coûteuse et respectueuse de l'environnement pour la synthèse de nano-feuillets de disulfure de molybdène ( $\text{MoS}_2$ ) enroulés autour de nanofils de Si recouverts de  $\text{TiO}_2$ . Ces travaux ont été réalisés dans le cadre de la thèse d'A. Hamdi. Le procédé de synthèse hydrothermale présente plusieurs avantages tels qu'une faible température, un temps de réaction correct (12h) et ne nécessite pas l'utilisation d'additifs ou d'agents tensio-actifs. Les paramètres de synthèse ont été optimisés et les nano-objets obtenus caractérisés par microscopie électronique à balayage, spectroscopie Raman, spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX), spectroscopie de photoélectrons à rayons X (XPS), diffraction des rayons X (XRD) et par microscopie électronique à transmission à haute résolution (HR-TEM) (**Figure 22**). L'activité photocatalytique de ces nanofils de silicium recouverts de  $\text{TiO}_2$  et de nano-feuillelet de  $\text{MoS}_2$  a été étudiée pour la dégradation de rhodamine B (RhB) sous lumière visible ( $>420 \text{ nm}$ ). Il s'est avéré que l'interface  $\text{MoS}_2/\text{TiO}_2/\text{SiNW}$  a montré une très bonne activité catalytique ( $K_{\text{app}} 0.12 \text{ min}^{-1}$ ) par rapport à d'autres matériaux photocatalytiques à base de  $\text{MoS}_2$  ainsi qu'une très

bonne stabilité après plusieurs cycles d'utilisation, sans aucune baisse des performances (**Figure 22**). Le mécanisme de photodégradation de la RhB que nous proposons est basé sur 2 mécanismes, l'un photocatalytique et l'autre basé sur la photosensibilisation. Les nanofils sans MoS<sub>2</sub>, c'est à dire TiO<sub>2</sub>/SiNW et SiNW, ont quant à eux montré un faible taux de dégradation (**Figure 22**).<sup>65</sup>



**Figure 22:** MoS<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/SiNW caractérisés par MEB, HR-TEM et cartographie EDX. En bas, la dégradation de la RhB en fonction du temps et en présence de différents catalyseurs et après plusieurs cycles.<sup>65</sup>

Ce dépôt hydrothermale de feuillets de MoS<sub>2</sub> a également été réalisé sur d'autres nanostructures comme des structures périodiques de nanofils de silicium ou encore des nanofils de diamant (**Figure 23**). Dans ce dernier cas, le dépôt a été fait en l'absence de TiO<sub>2</sub>. On peut remarquer que chaque structure est entourée de feuillets de MoS<sub>2</sub>.



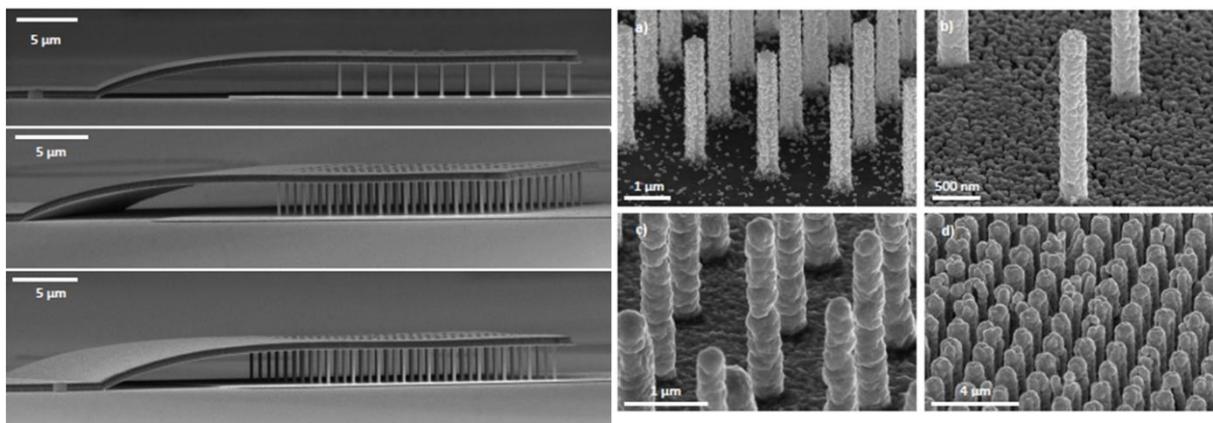
**Figure 23:** Images MEB de feuillets de MoS<sub>2</sub> autour de nanofils de Si en réseau périodique (gauche) et autour de nanofils de diamant (droite).

### 2.2.3.2. Capteurs de gaz

Lors d'une étude précédente, nous avons développé en collaboration avec l'Onéra (O. Ducloux & Annick Loiseau) des capteurs de gaz à base de films de nanotubes de carbone. En effet, des films de nanotubes de carbone monoparoi semi-conducteurs (SC-SWCNT) ont été élaborés et caractérisés pour le développement de micro-capteurs

de gaz (AFM, MEB...). Les CNTs semi-conducteurs ont été séparés des CNTs métalliques par la méthode de centrifugation dans un gradient de densité. Ensuite, des films de SC-SWCNT ont été obtenus par filtration au travers d'une membrane en nitrocellulose, puis transférés sur des électrodes de type TLM (*transmission line method*) pour évaluer séparément leur résistivité et leur résistance de contact.<sup>66</sup>

Un autre type de dispositif est actuellement en cours de validation en collaboration avec le LAAS (Thèse de Brieux Durand dirigée par G. Larrieu). Ce dispositif consiste en un réseau de nanofils de silicium verticaux fabriqué par lithographie et gravure sèche. Ce dispositif a montré de bonnes performances pour la détection de NOx notamment en milieu humide. La configuration utilisée est de type résistor et nous envisageons d'apporter la sélectivité vis-à-vis du gaz par dépôt de particules de cuivre fait par "electroless" (**Figure 24**).



**Figure 24:** Dispositif à nanofils verticaux et pont à air (gauche) et dépôt de particules de Cu par voie "electroless" pour différents temps d'immersion sur des nanofils verticaux.

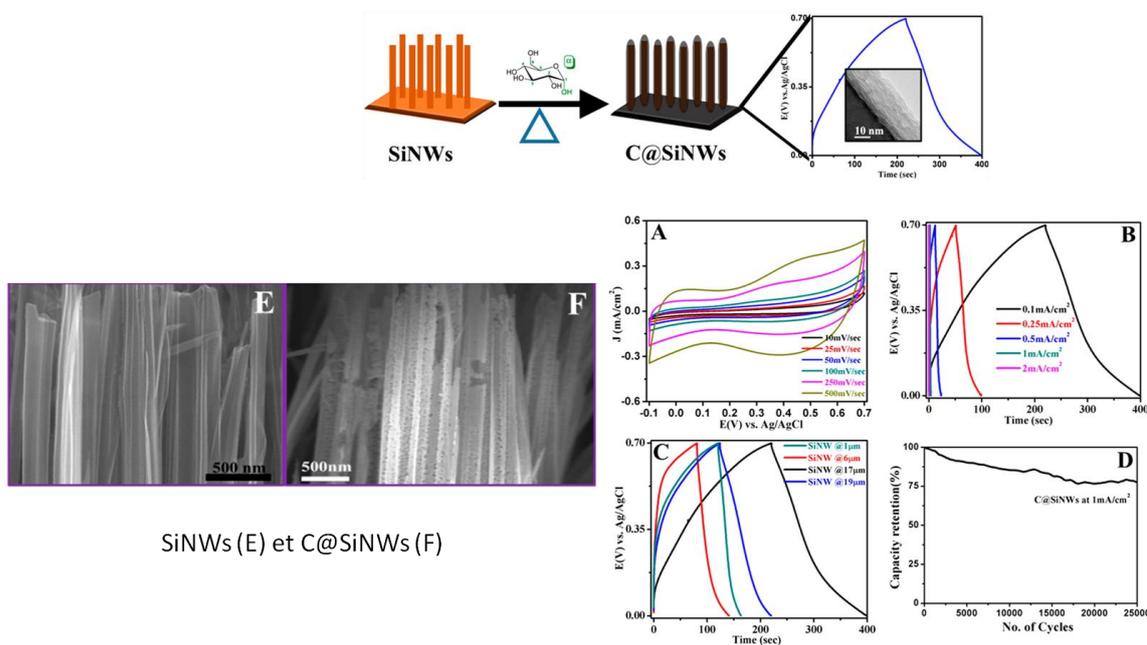
### 2.2.3.3. Nanofils de silicium pour une action anti-microbienne

Le développement de surfaces anti-bactériennes est devenu un champ de recherche intense et de nombreux efforts en recherche ont été consentis. En effet, le contrôle ou la limitation d'infections hospitalières (maladies nosocomiales) et le revêtement anti-bactérien d'implants sont deux des principaux domaines applicatifs de ces surfaces. Pour ce faire, des surfaces anti-microbiennes contenant des désinfectants (relargués par la surface elle-même), des surfaces relargant de l'argent ou du cuivre ou encore des bactéricides photosensibles (à base de TiO<sub>2</sub>) ont été développées et commercialisées.<sup>67</sup>

Dans cette étude, des nanofils de silicium alignés verticalement (SiNWs) ont été fabriqués par la méthode MACE (moins coûteuse). Ensuite, ces fils ont été décorés de particules d'Ag ou de Cu par dépôt "electroless". Puis, ces surfaces ont été testées contre *Escherichia coli* (*E. coli*). Nous avons observé que les SiNWs recouverts de particules d'Ag NP étaient non cytotoxiques sur une lignée de cellules épithéliales d'adénocarcinome pulmonaire humain A549 tandis qu'ils conservaient leurs propriétés anti-bactériennes contre *E. coli*. Cela a donc montré une bonne sélectivité d'action de nos surfaces décorées d'Ag. En revanche, les SiNWs décorés de particules de Cu, quant à eux, présentaient une cytotoxicité bien plus élevée et une activité anti-bactérienne bien moins efficace.<sup>68</sup>

### 2.2.3.4. Nanofils de silicium pour l'énergie - Développement d'un Micro-Supercapaciteur

Avec le développement de dispositifs miniaturisés pour l'électronique (mémoires, amplificateur, transistor...), l'optique intégré, les systèmes microélectromécaniques (MEMs), et les nombreux capteurs insérés dans les laboratoires sur puce, il y a une forte demande de systèmes permettant de les alimenter d'une manière autonome.<sup>69</sup> Une des solutions est le développement de microbatteries. Cependant, celles-ci souffrent d'une mauvaise stabilité thermique et d'une faible durée de vie. De plus, leurs performances sont diminuées quand elles sont confrontées à des températures extrêmes. Une alternative à ces micro-batteries est le développement de micro-supercapaciteurs permettant à la fois de stocker l'énergie et de la libérer rapidement en cas de besoin ponctuel. Pour ce faire nous avons utilisé des nanofils de silicium poreux fabriqués par la méthode MACE. Ces nanofils permettent d'augmenter l'aire de surface spécifique pour atteindre des valeurs de 342 m<sup>2</sup>/g. Afin d'éviter l'oxydation et la dissolution de ces électrodes, un revêtement est alors nécessaire (SiC, graphène, polymères, oxydes métalliques...).<sup>70</sup> Dans cette étude nous avons recouvert nos nanofils de Si par une couche carbonée (C@SiNWs) déposées par pyrolyse du glucose. Ces C@SiNWs ont montré une très bonne capacité de stockage électrochimique couplée à une très bonne stabilité en milieu aqueux (**Figure 25**). En effet, les C@SiNWs optimisés (17 µm de hauteur) ont montré une capacité spécifique de 25.6 mF/cm<sup>2</sup> pour une densité de courant appliquée de 0,1 mA/cm<sup>2</sup>, ce qui est nettement supérieur aux µ-supercapaciteurs en silicium. La technique de fabrication présente plusieurs avantages comme un faible coût, de très bonnes performances et offre de nombreuses possibilités de dopage de la couche de carbone avec divers éléments, afin encore d'améliorer les performances de ces électrodes.<sup>70</sup>



SiNWs (E) et C@SiNWs (F)

**Figure 25:** Méthode de dépôt d'une couche carbonée par pyrolyse du glucose, les caractéristiques électrochimiques : voltammétrie cyclique (A), charge-décharge (B, C), stabilité (D) et les clichés MEB de nanofils de Si avant et après dépôt de carbone (E, F).<sup>70</sup>

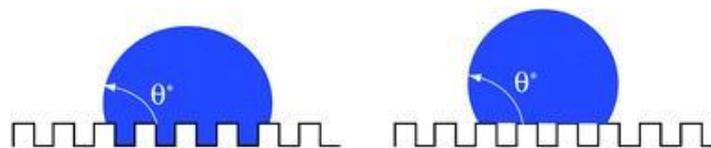
### Partie 3 - Développement de surfaces superhydrophobes (SH), omniphobes (SO) et SLIPS et leurs applications.

---

Une partie importante de mon travail de recherche a consisté à développer des surfaces micro et nanostructurées aux propriétés non-mouillantes pour les utiliser dans des systèmes microfluidiques de types laboratoires sur puce. Ces travaux ont donné lieu à ~22 publications et j'ai pu co-encadrer plusieurs thèses et post-doc. L'ensemble de ces travaux a été fait en étroite collaboration avec Vincent Thomy du groupe BioMEMS de l'IEMN.

Dans la nature, il y a de nombreux exemples de surfaces superhydrophobes (SH) telles que les feuilles de lotus, les plumes de canard, les écailles de poissons, les ailes des papillons, les pattes du Gecko (petite salamandre). Ces surfaces sont capables de repousser l'eau grâce à la présence de micro- ou de nanostructures et d'un revêtement hydrophobe. La fabrication de ces surfaces se fait en micro ou nanostructurant des matériaux comme le silicium par gravure sèche (plasma) ou humide ou bien en faisant croître les nanostructures par la voie CVD. On peut également réaliser ces surfaces avec deux, voire trois niveaux de structuration (multi-échelle). Finalement, les surfaces obtenues sont recouvertes d'un revêtement hydrophobe permettant de baisser fortement l'énergie de surface.

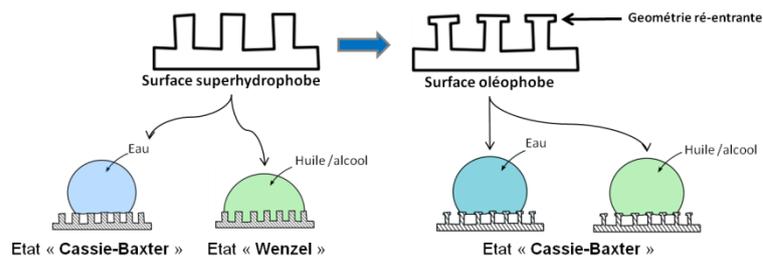
Les surfaces superhydrophobes présentent un angle de contact statique (WCA) pour l'eau  $>150^\circ$ . La rugosité de surface augmente la quantité d'air emprisonné dans les pores, tandis que la chimie baisse l'énergie de surface. On est alors ici dans le cas du modèle « Cassie-Baxter » qui est à opposer au modèle « Wenzel ». En effet, une goutte posée sur une surface rugueuse et hydrophobe peut adopter deux configurations : une configuration de type Wenzel (faible rugosité, goutte empalée dans les structures) et une configuration de type Cassie-Baxter (forte rugosité, goutte non-empalée), comme présentées dans la **figure 26**.<sup>71,72</sup> Dans les deux cas, même si localement l'angle de contact n'est pas modifié (angle de Young,  $\theta$ ), on observe une augmentation de l'angle de contact apparent  $\theta^*$  de la goutte. Bien que la surface soit superhydrophobe, il existe une différence fondamentale entre les deux modèles : la valeur de l'hystérésis (adhésion ou non du liquide sur ces surfaces). On observe ainsi à faible rugosité un angle de contact d'hystérésis important pouvant atteindre  $100^\circ$  (Wenzel) et qui est liée à l'augmentation de la surface du substrat en contact avec la goutte. Dans ce cas, la surface est dite mouillante puisque le liquide imprègne alors la structure. L'autre modèle, Cassie-Baxter, quant à lui, a un angle de contact d'hystérésis proche de zéro, ce qui signifie que la goutte d'eau est localisée au dessus des structures, n'imprègne pas la surface (poches d'air piégées à l'intérieur) et a tendance à glisser hors de la surface, ce que l'on appelle l'effet lotus.



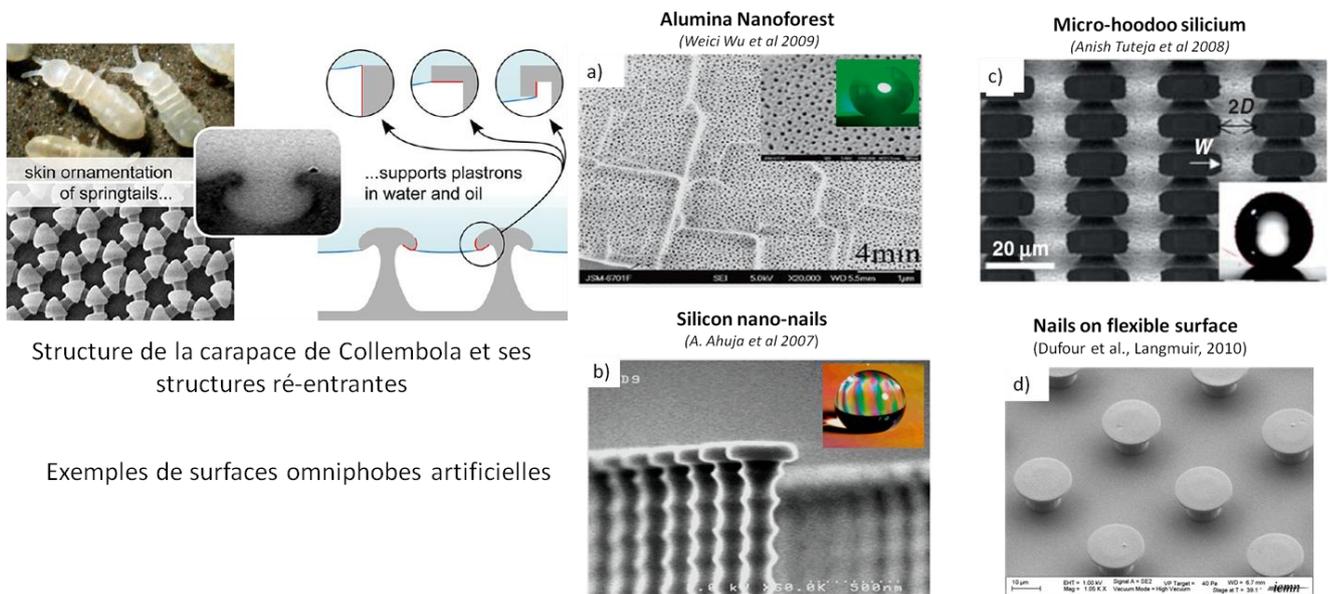
**Figure 26 :** Surfaces superhydrophobes : a) modèle de Wenzel, b) modèle de Cassie-Baxter.<sup>71,72</sup>

Cependant, les propriétés non-mouillantes de ces SH sont limitées à l'eau et ne permettent pas de repousser des liquides de tensions de surface plus faible comme les solvants organiques. En 2007, les travaux pionniers du groupe de McKinley et Cohen du MIT, sur le développement de surfaces dites superoléophobes, ont permis d'étendre la

gamme de liquides étudiés.<sup>73</sup> Ces surfaces présentent un non-mouillage (maintien d'un état de Cassie-Baxter grâce à l'emprisonnement des poches d'air sous le liquide) y compris pour des liquides à faible tension de surface (liquides non polaires, alcools, huiles...). Contrairement aux surfaces superhydrophobes, dont les propriétés ne dépendent que de l'association d'une rugosité et d'un revêtement hydrophobe de surface, la conception de surfaces oléophobes est plus complexe. En effet, la structuration de la surface doit présenter un angle ré-entrant afin de piéger l'interface liquide/air. L'exemple typique d'une telle géométrie est la structure surplombante formée par une tête de clou ou le chapeau d'un champignon (**Figures 27&28**). Plus difficile à réaliser qu'une simple rugosité, une importante diversité de réalisations technologiques a cependant vu le jour.<sup>73,74,75,76,77,78</sup> De telles surfaces repoussant tous les liquides sont appelées surfaces omniphobes. Il existe, à l'heure actuelle, un seul exemple connu dans la nature (Collembole) possédant une carapace présentant de telles propriétés (**Figure 28**).



**Figure 27:** Mouillage sur surface superhydrophobe et oléophobe/omniphobe.



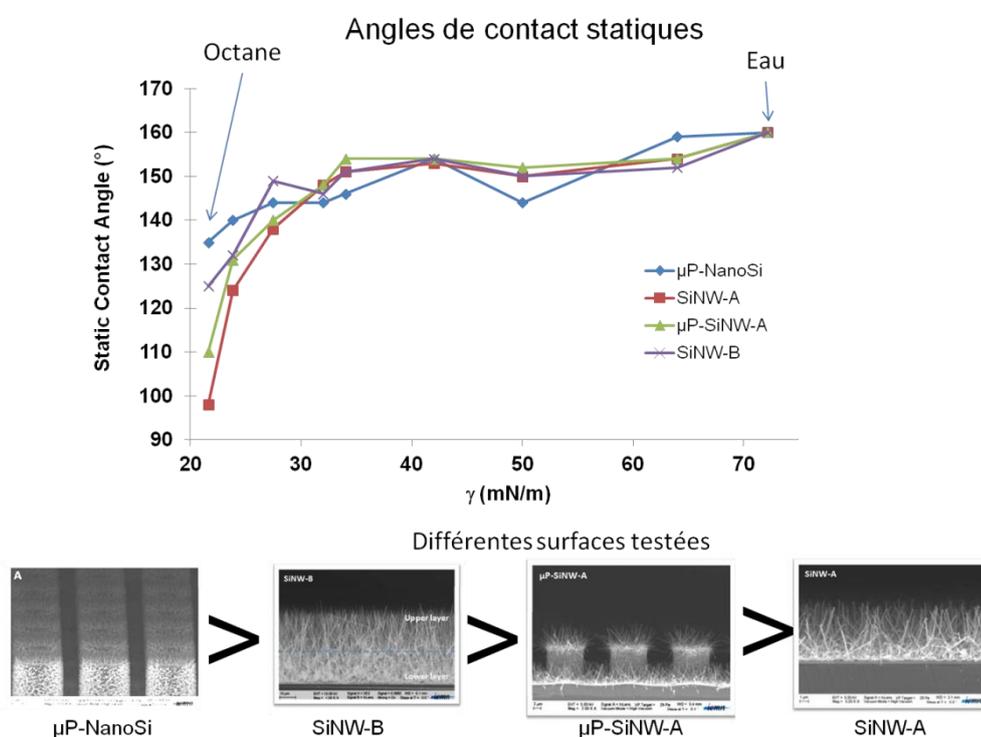
**Figure 28:** Exemple de surfaces omniphobes naturelle (à gauche) et artificielles.<sup>73,76,77,78</sup>

### 3.1. Développement de surfaces omniphobes (SO).

Nous avons fabriqué différents types de surfaces de silicium micro et nanostructurées (**voir partie 1**). Ces surfaces ont été fabriquées par la combinaison de techniques de gravure humide, sèche et par croissance de nanofils de silicium (CVD). Des surfaces possédant une double échelle de structuration ont pu également être développées.<sup>79,80</sup> Ensuite, ces surfaces ont été chimiquement modifiées par une molécule d'énergie de surface faible

(1H, 1H, 2H, 2H-perfluorodecyltrichlorosilane - PFTS). Toutes les surfaces présentent alors un caractère superhydrophobe, c'est à dire que les forces d'adhésion (interaction surface-liquide) sont plus faibles que les forces de cohésion (entre les molécules composant le liquide) conduisant à la formation d'une goutte sur la surface. Un hystérésis faible est également observé, on est alors dans un état Cassie-Baxter.<sup>72</sup>

Certaines de ces surfaces ont présenté des angles de contact apparents allant de 125 à 160° pour des liquides de plus faible tension de surface (ex. Octane 21 mN/m). Ces surfaces omniphobes ont une morphologie particulière. En effet, leurs structures présentent des angles ré-entrants leur permettant de repousser des liquides possédant des tensions de surface faibles (**Figure 29**). On peut voir que les surfaces doublement texturées  $\mu$ P-NanoSi (micropiliers + gravure MACE) présentaient les angles de contact les plus grands (135°) pour l'octane. Cependant, le plus faible hystérésis est observé pour la surface SiNW-B (nanofils faits par croissance CVD) qui possède une double structuration.<sup>81</sup>



**Figure 29:** Mesures d'angles de contact statiques pour différents liquides possédant des tensions de surfaces variées sur des surfaces micro/nanostructurées.<sup>81</sup>

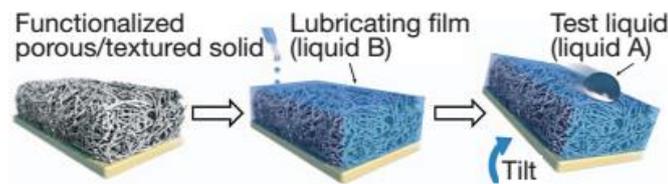
#### Autres matériaux :

D'autres surfaces omniphobes ont également été réalisées à partir d'autres matériaux nanostructurés comme le diamant, l'oxyde de Zinc mais également sur des substrats flexibles, comme le polydiméthylsiloxane (PDMS).<sup>17,76,82</sup>

Il n'existe cependant que très peu d'exemples d'applications réelles. Une des limitations majeures de ce type de surface concerne la difficulté à maintenir un état de Cassie-Baxter stable (air piégé sous le liquide) dans le temps : en fonction des conditions expérimentales (pression, vibration, évaporation, défaut ponctuel de la surface, ...) le liquide pénètre tôt ou tard dans les structures.

### 3.2. Développement de surfaces SLIPS - Slippery liquid infused porous surface

Une réelle percée dans le domaine a été effectuée il y a peu par le groupe d'Aizenberg du Wyss Institute.<sup>83</sup> L'idée repose sur l'imprégnation d'une surface texturée mouillante par un liquide de faible tension de surface (en général une huile inerte non miscible avec l'eau). Quelle que soit la rugosité de surface (micro ou nano texturée), elle permet de maintenir le liquide imprégné en place. On parle alors de surface SLIPS (Slippery Liquid-Infused Porous Surfaces). Plutôt que d'obtenir une interface liquide / solide / air comme dans le cas d'une surface superomniphobe qui présente un état de Cassie-Baxter, les surfaces SLIPS assurent une interface liquide imprégné / liquide sous test (ex. échantillon) (**Figure 30**).



**Figure 30:** Schéma de principe d'une surface SLIPS : surface micro ou nano-texturée permettant de maintenir un liquide imprégné inerte à faible tension de surface.<sup>83</sup>

L'intérêt de cette interface est multiple. Même si l'angle de contact d'une goutte d'hexane par exemple se révèle faible (quelques dizaines de degrés), l'hystérésis est inférieure à 3° (une goutte de 2µL glisse sur une surface inclinée de 5°). Ces propriétés ne sont pas modifiées par une pression de 7kPa appliquée à la goutte ou par un endommagement physique de la surface (taille critique de plusieurs dizaines de microns). Dans ce dernier cas, l'huile imprègne le défaut créé, on parle alors de 'self healing' ce qui en fait des surfaces très résistantes. De plus, à partir d'une surface hôte texturée transparente, l'imprégnation d'huile permet d'assurer une transmission optique de l'ordre de 80% dans le visible ou dans le proche infrarouge.<sup>83</sup>

Le Wyss Institute a développé un grand nombre d'applications et a testé ces surfaces SLIPS dans de nombreuses configurations. Lors d'une étape de condensation, les gouttes d'eau créées glissent sur la surface imprégnée limitant fortement la création de givre et de glace. De plus l'interface ultra-lisse formée par le liquide imprégné et la glace à l'état solide permet de diviser par 10 la force d'adhésion de la glace sur la surface comparativement à une surface superhydrophobe classique.<sup>84</sup> Ces mêmes surfaces présentent également une remarquable résistance à la bio-pollution. En effet, l'adhésion de biofilms (*Pseudomonas aeruginosa* biofilm) ou de cellules (*Staphylococcus aureus* et *E. coli*) est quasiment inexistante même sur de longues périodes (jusque 7 jours). Un faible mouvement du liquide permet un détachement du biofilm. Dans cette même étude, le caractère non cytotoxique de l'huile utilisée est démontrée.<sup>85</sup> Plus récemment, des revêtements de type SLIPS ont été étudiés pour leur résistance vis-à-vis de la formation de la plaque dentaire sur des dents de lapin.<sup>86</sup>

De notre côté, en collaboration avec l'UMET (Unité des matériaux et transformation) de l'université de Lille1, l'INRA et l'University of British Columbia (Canada), nous avons fabriqué des surfaces SLIPS à partir d'inox texturé par ablation laser, qui ont été ensuite modifiées chimiquement (PFTS) et imbibées d'huile fluorée (Krytox GPL 103) (thèse de S. Zouaghi). Ces surfaces présentaient alors un WCA de 112° pour un hystérésis de 0.6°. Puis à l'échelle pilote (300L de lait/heure) et après une étape de pasteurisation d'environ 90 min, nous avons démontré que ces surfaces résistaient très bien à l'encrassement (protéine de lait) par rapport à l'inox non-texturé, ou l'inox texturé et

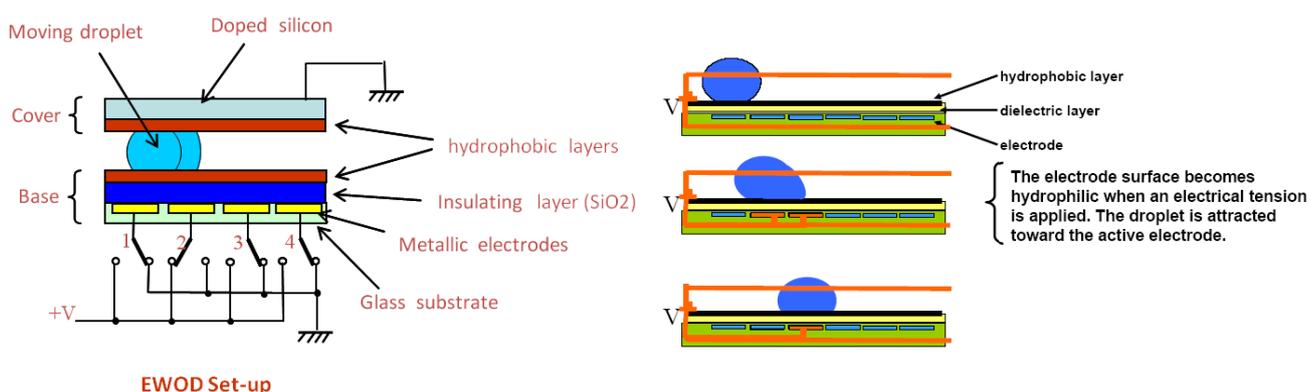
modifié par le PFTS. Ces travaux ont été publiés récemment dans ACS Applied Materials and Interfaces.<sup>87</sup> Un projet ANR (ECONOMICS) a également été accepté cette année sur l'utilisation de surfaces SLIPS contre l'encrassement des échangeurs thermiques dans le cadre de l'industrie laitière (voir Partie 5 - Projets).

En conclusion, il semble que ce nouveau type de surface puisse déboucher sur une industrialisation rapide au vu des marchés potentiels. Ainsi, le Wyss Institute a récemment annoncé la création d'une start-up pour commercialiser ces surfaces pour de nombreuses applications : SLIPS Technologies, Inc. (<http://www.slipstechnologies.com>).

### 3.3. Utilisation des surfaces SH pour le déplacement de goutte de liquide par Electromouillage sur diélectrique (EWOD)

La manipulation et l'actuation de liquide par microfluidique digitale (DMF) possède de nombreux avantages. En effet, elle permet notamment la manipulation de liquides sans avoir besoin de pompe, de tube ou encore de microvalves.<sup>88</sup> Elle permet le déplacement de volumes variables (du nL au mL) et est compatible aussi bien avec des liquides aqueux qu'organiques. Elle autorise également un contrôle aisé des différentes phases que sont la création de goutte filles à partir d'un réservoir, la fusion d'une ou plusieurs gouttes, le mélange entre deux composés au sein d'une même goutte... De plus, les petits volumes manipulés réduisent fortement la consommation de réactifs et d'échantillons, et permet des vitesses de réaction et d'interaction plus rapides (pas ou peu de diffusion de l'analyte). De plus, ce type d'actuation de liquide est aisément intégrable dans un lab-on-chip. Les applications vont de l'utilisation dans les « lab-on-chip » pour la biologie aux lentilles ajustables en passant par les fibres optiques et les systèmes microélectromécaniques MEMS.<sup>88</sup> Ici, nous nous sommes intéressés à l'actuation de gouttes de liquide par EWOD (Electrowetting on dielectric) dont le principe est représenté dans la **figure 31**.

#### Principe de l'EWOD



**Figure 31:** Principe du déplacement de gouttelettes de liquide par EWOD

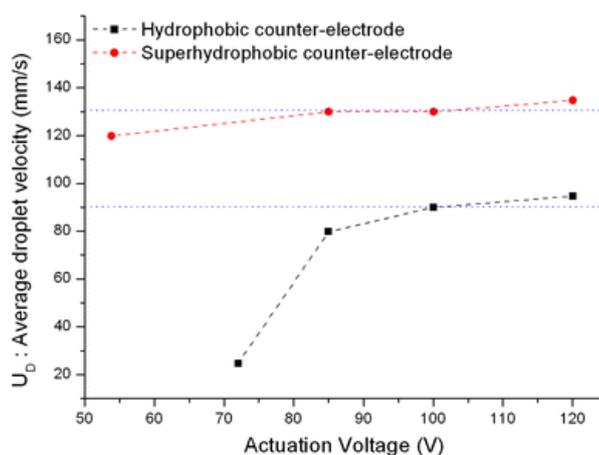
#### 3.3.1 Surfaces superhydrophobes pour le déplacement EWOD

Notre étude porte sur l'utilisation de nanofils de silicium superhydrophobes et omniphobes pour réaliser le déplacement par EWOD (**Figure 31**). Ces travaux ont été réalisés dans le cadre de la thèse de F. Lapierre. Pour ce faire, les surfaces SH doivent présenter un angle de contact apparent important ( $>150^\circ$ ) avec le liquide à déplacer, réduisant ainsi fortement la surface de contact solide-liquide ainsi qu'un faible hystérésis. Ces deux critères étant

primordiaux pour le déplacement de la goutte. De plus, ces surfaces nanostructurées doivent être très robustes (état Cassie-Baxter stable) (voir **Figure 26**). Dans le cas contraire, cela voudrait dire que la goutte est passée d'un état Cassie-Baxter à l'état Wenzel (**Figure 26**) et se retrouve alors piégée au sein de la structure de nanofils. La goutte ne peut alors plus bouger.

Nous avons, pour la première fois, pu mettre en évidence un électromouillage (sans déplacement) totalement réversible d'une goutte d'eau dans un environnement air et huile sur ce genre de surface. Cet électromouillage a permis un changement d'angle de contact de 35°, après application d'une tension d'environ de 100V, ce qui est largement suffisant pour permettre un déplacement.<sup>89</sup> Nous avons également mis en exergue une corrélation entre la résistance à l'empalement, c'est à dire la robustesse des surfaces vis-à-vis de la pression exercée et la résistance à la transition de CB à W à la capacité de réaliser un électromouillage réversible, les deux étant fortement liés à la morphologie de la surface.<sup>90</sup> Les surfaces peu robustes, qui ne permettaient pas un électromouillage réversible, étaient alors inutilisables pour le déplacement EWOD. Plusieurs publications ont été publiées à ce titre sur leur fabrication, leur optimisation (simple ou double échelle de structuration) et la caractérisation de leur propriétés de mouillage. Les meilleures surfaces sont celles réalisées par croissance CVD possédant une double structuration.<sup>89</sup>

L'effet électromouillage ayant été caractérisé sur surface SH, nous avons réalisé ensuite le déplacement de gouttes de liquides aqueux. Nous avons montré que l'utilisation de surface SH en tant que contre-électrode (CE) permettait un déplacement à une tension plus faible (-30%) et une augmentation de la vitesse moyenne de la goutte (+30%) comparativement à une contre-électrode hydrophobe (**Figure 32**).<sup>91</sup>



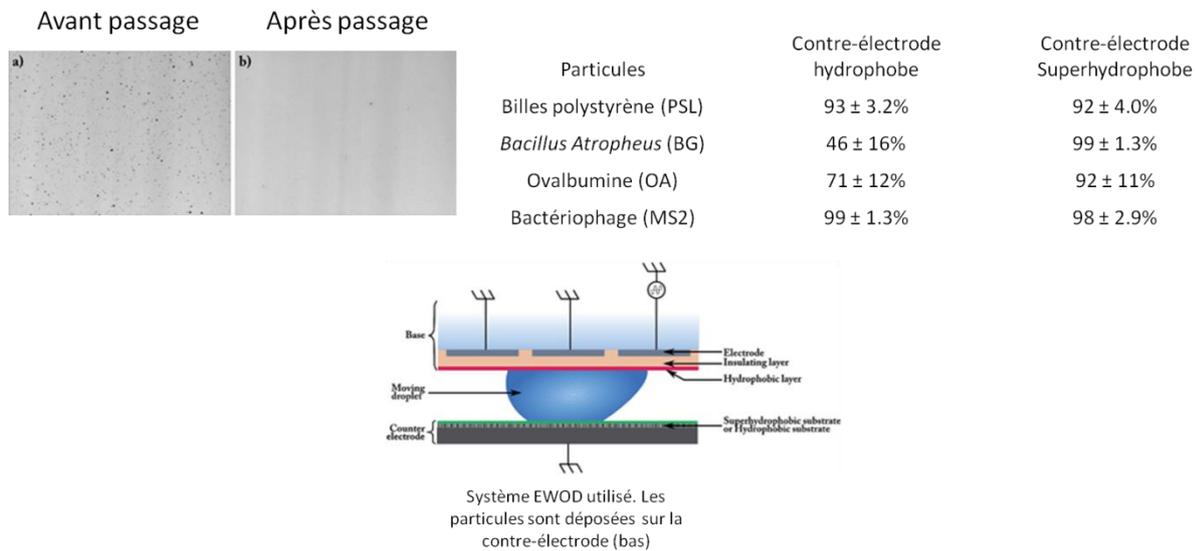
**Figure 32:** Vitesse moyenne de goutte en fonction de la tension appliquée pour soit une CE hydrophobe (courbe noire) ou superhydrophobe (courbe rouge).<sup>91</sup>

Dans une autre étude, nous avons également montré qu'en utilisant un EWOD modulé en fréquence, (MEWOD), il était possible de maintenir un état CB même sur des surfaces peu robustes, c'est à dire pour lesquelles la transition CB vers W est aisée.<sup>92</sup>

### 3.3.2. Collecte de particules

Une des applications développées d'un tel système microfluidique s'est faite dans le cadre d'un contrôle environnemental. En effet, il s'agissait ici de venir collecter/concentrer des particules de l'atmosphère en vue de leur détection/analyse ultérieure (Post-doc de M. Jönsson-Niedziółka). Le point clef dans ce type de dispositif

microfluidique concerne l'efficacité de la collecte vis-à-vis d'une large gamme de particules allant du microorganisme à la protéine. Ce projet a été conduit en collaboration avec le laboratoire anglais DSTL (Defense Science and Technology Laboratory). Différents types de particules ont été artificiellement déposées sur des surfaces hydrophobes ou superhydrophobes (billes de polystyrène, ovalbumine, *Bacillus atropheus* (simulant de l'anthrax) et le phage MS2). Ensuite, une goutte d'eau pure est déplacée par EWOD sur les surfaces contaminées. Les résultats obtenus (nombre de particules collectées sur le trajet de la goutte/nombre de particules en dehors du trajet de la goutte) sont présentés dans la **figure 33**.<sup>93</sup>



**Figure 33** : Système EWOD utilisé et résultats de la collecte pour différentes particules et contre-électrodes.<sup>93</sup>

Les résultats montrent une grande efficacité de ramassage des particules protéiques (OA) et de spores (BG) pour les contre-électrodes SH/hydrophobe. Les résultats concordent avec ceux obtenus par Koc *et al.*<sup>94</sup> Dans le cas de l'OA, le phénomène de biofouling a été observé (adsorption de protéine sur la surface), ce qui a rendu difficile le déplacement de la goutte d'eau (voir le paragraphe suivant).

Ces surfaces SH ont été également utilisées dans un système lab on chip pour la détection de peptides par spectrométrie de masse. Cette application est traitée dans la partie 4 de ce mémoire.

### 3.3.3. Déplacement de solutions protéiques par EWOD – Limitation du phénomène de « biofouling ».

Le déplacement de liquide par DMF et notamment par EWOD possède quelques limitations, comme par exemple son incompatibilité avec les hautes températures et pressions ainsi que des problèmes de détérioration de la couche de diélectrique à très haute tension. Cependant, le plus important est qu'il est très difficile, voire impossible, de déplacer des solutions protéiques ou des échantillons biologiques concentrés (plasma, sang, milieu de culture...). Ceci est principalement dû à un phénomène de contamination de la surface, appelé le « biofouling ».<sup>95</sup> En effet, les protéines contenues dans la solution à déplacer ont tendance à s'adsorber sur la surface de téflon, engendrant une diminution de l'angle de contact de la goutte de solution sur la surface et une augmentation de l'hystérésis. Tout déplacement est ainsi empêché. Ce problème a été en partie résolu par l'ajout de surfactants (Pluronic®, polymères à base d'oxydes de polyéthylène et de polypropylène) (groupe d'Aaron Wheeler à l'université de Toronto au Canada)

ou en travaillant dans un système biphasique eau-huile (société Advanced liquid logic).<sup>96,97,98</sup> Dans ces deux cas, la goutte de solution est soit entourée d'huile ou d'une couche de molécules de surfactants. Le déplacement de solution protéique peut alors se faire tout en diminuant la tension d'actuation. Cependant, la présence d'additifs peut être une source de contamination importante pour les analyses biochimiques ou biologiques post-déplacement que l'on souhaite réaliser. De plus, ces couches, entourant la goutte, empêchent ou limitent également toute interaction des protéines, contenues dans la goutte, avec des ligands immobilisés sur une surface.

Une approche originale a été d'utiliser du graphène oxydé (GO) au sein de la goutte contenant les protéines (thèse G. Perry). Nous avons alors montré qu'il était possible de déplacer cette goutte par EWOD dans un environnement eau/air. En effet, nous avons démontré que l'adsorption des protéines sur le GO, inhibait le « biofouling » et facilitait le déplacement de la solution protéique par EWOD. Dans ce cas, le complexe GO/protéine formé est en suspension dans la goutte. Au delà d'une concentration d'albumine sérique bovine (BSA) (>100 ng/μL), un ratio GO/protéine de 2 est nécessaire pour pouvoir déplacer la goutte. Grâce à ce GO, nous avons pu déplacer une concentration de BSA d 190 ng/μL, ce qui est 30 fois supérieur à la concentration protéique totale du plasma. Nous avons montré également, en utilisant l'enzyme HRP (Horseradish peroxidase qui catalyse l'oxydation de l'ABTS), qu'une fois la protéine transportée, celle-ci était toujours active (1/5<sup>ième</sup> de la concentration initiale).<sup>99</sup>

Cependant d'autres pistes sont envisagées afin de limiter le biofouling comme l'utilisation du MEWOD (voir paragraphe au dessus), ce qui permettrait de limiter le contact de la goutte avec la surface et donc le biofouling.<sup>92</sup> L'utilisation de surfaces SLIPS (Slippery Liquid-Infused Porous Surfaces), décrites dans la section 3.2, est également envisagée. Des résultats prometteurs en électromouillage ont déjà été obtenus.

## 3.4. Autres applications des surfaces SH

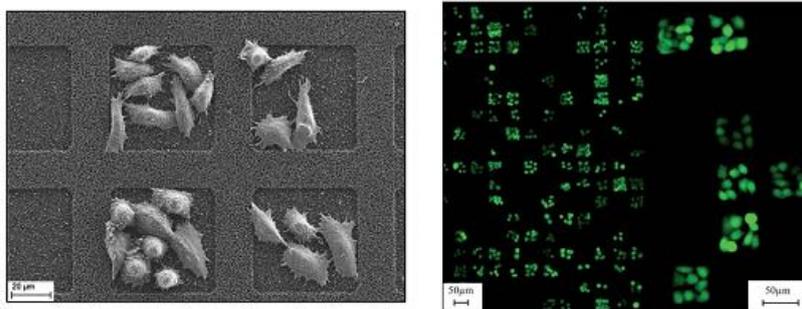
---

### 3.4.1 Isolation cellulaire grâce au contraste de mouillabilité de surface.

---

L'isolation d'une cellule, à partir d'une population cellulaire définie est, de nos jours, d'un enjeu considérable. En effet, outre l'aspect tri-cellulaire (cell-sorting), c'est à dire la récupération d'une cellule d'intérêt (ex. Lymphocyte), le contrôle du nombre de cellule et de leur environnement spatial, permet d'étudier et de comprendre certains phénomènes biologiques cellulaires comme la différenciation, la division et la motilité à l'échelle de la cellule unique. Cela permet également d'évaluer leurs sensibilités et leurs réponses lorsque ces cellules sont mises en présence de composés toxiques (ex : molécules favorisant l'apoptose, provoquant l'arrêt de la division ou la lyse cellulaire, qui influencent la différenciation, polluants, UV...). Cela permet de tester les effets d'un traitement médical potentiel ou d'étudier les mécanismes de réparation cellulaire.

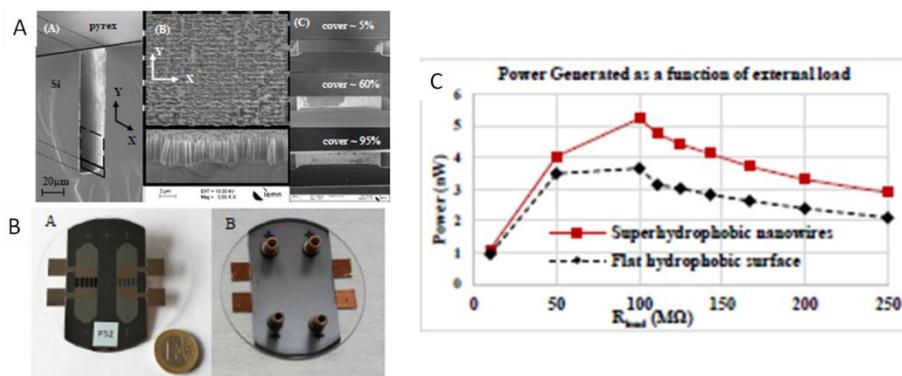
Dans cette optique, nous avons développé des surfaces nanostructurées (nanofils de silicium et de diamant, voir partie 1) possédant des zones superhydrophiles entourées de zones superhydrophobes de façon à isoler les cellules dans des zones précises comme cela est montré dans la **figure 34** (thèse G. Piret).<sup>100</sup>



**Figure 34:** Image MEB et en fluorescence (droite) de cellules (HeLa) isolées sur à l'intérieur de zones superhydrophiles entourées d'une zone superhydrophobe sur nanofils de silicium après quelques heures de croissance (droite).<sup>100</sup>

### 3.4.2. Récupération d'énergie en utilisant la microfluidique

La récupération d'énergie par "streaming current" a été étudiée dès le début des années 2000 avec l'avènement de la microfluidique.<sup>101</sup> En effet, le fait de faire passer un fluide (électrolyte) à travers un microcanal permet de créer un courant ionique net. Celui-ci peut être ensuite collecté par un système électrique externe. La réduction de taille des canaux microfluidiques a permis l'amélioration de l'efficacité de récupération.<sup>102</sup> En 2007, le groupe de Pennathur avait prédit qu'une conversion d'énergie de 35% pourrait être obtenue en utilisant des microcanaux superhydrophobes.<sup>103</sup> Ici, dans le cadre de la thèse de F. Fouché, nous nous sommes donc intéressés au développement de microcanaux microfluidiques dont l'intérieur a été nanostructuré par la méthode MACE puis rendu ensuite superhydrophobe (modification par un perfluorodecyltrichlorosilane). Le dispositif et les premiers résultats obtenus sont présentés dans la **figure 35** (thèse F. Fouché).<sup>104</sup>



**Figure 35:** Clichés MEB des microcanaux structurés par la méthode MACE (A), un dispositif complet (B) et la puissance générée (nW) en fonction de la charge externe - comparaison entre les microcanaux hydrophobes et superhydrophobes.<sup>104</sup>

En micro et nanostructurant les microcanaux, pour les rendre superhydrophobes, une augmentation de 40% de la puissance générée a pu être mesurée à charge externe équivalente ( $M\Omega$ ). Le principal avantage d'un tel dispositif est de générer sa propre énergie pour fonctionner, ce qui est crucial dans le cadre d'un laboratoire sur puce, où il est nécessaire d'avoir une grande autonomie énergétique (analyse de terrain) couplée à un faible poids (bonne portabilité). De plus, de tels dispositifs ouvrent la voie à une myriade d'applications comme par exemple l'utilisation des objets connectés de plus en plus présents dans notre vie de tous les jours.<sup>104</sup>

## Partie 4 - Développement d'interfaces nanostructurées pour la désorption/ionisation par laser et l'analyse en spectrométrie de masse (SALDI-MS) de petits composés.

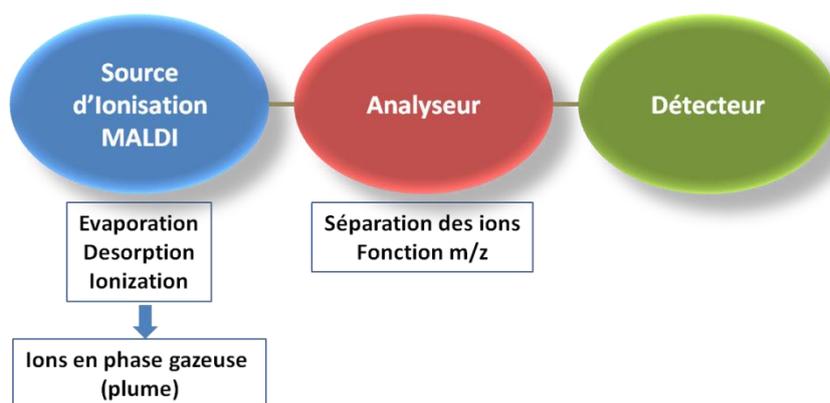
Ces travaux ont donné lieu à ~14 publications et j'ai co-encadré ~5 thèses sur ce sujet. Ce travail de recherche a été réalisé en collaboration avec l'équipe d'Oleg Melnyk (UMR 8161) de l'Institut de Biologie de Lille et avec Christine Enjalbal de l'Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM) à Montpellier.

La spectrométrie de masse (MS) est devenue depuis plusieurs années une méthode de référence pour identifier et caractériser les composés chimiques et biochimiques. Le marché global de la spectrométrie de masse valait en 2013 environ 3,8 milliards US \$ et devrait croître de 8,5% entre 2013 et 2018 (5,9 milliards de dollars américains (données de marché de spectrométrie de masse, SDI). Plus des deux tiers de ce marché est plus ou moins directement lié à la santé et notamment au développement de médicaments, au diagnostic médical, aux tests de sécurité alimentaire et au contrôle environnementale.

La spectrométrie de masse est basée sur l'analyse du rapport entre la masse moléculaire  $m$  des ions et leur charge  $z$ , noté  $m/z$ , qui permet de remonter à des informations sur la composition et la masse moléculaire réelle des analytes.

Le spectromètre de masse est principalement constitué des parties suivantes (**Figure 36**) :

- Source d'ions : production d'ions positifs et négatifs
- Un analyseur qui permet de séparer les ions en fonction de leur rapport  $m/z$ .
- Un détecteur qui comptabilise les ions en leur associant leur rapport  $m/z$



**Figure 36:** Principales parties d'un spectromètre de masse.

Les différents types d'ionisation sont étroitement liés aux propriétés de la molécule à ioniser (atomes constituants, polarisabilité, caractère électrophile, basique, ...) et à son environnement. Le choix des sources d'ionisation est donc fonction de la nature de l'échantillon (gaz, liquide, solide, composé volatil ou thermolabile) et du type d'analyse (élémentaire, structurale, ...) à effectuer (voir **tableau 1**). Ici, nous nous sommes intéressés à la production d'ions d'intérêt par désorption/ionisation assistée par laser (LDI). L'utilisation de cette méthode d'ionisation et, particulièrement la méthode "Matrix-assisted laser desorption/ionization" (MALDI) technique développée par Karas et Hillenkamp dans les années 80, est devenue très populaire.<sup>105,106</sup> En effet, le MALDI est un

procédé d'ionisation douce, ce qui le rend très intéressant dans le cadre de composés labiles et de macromolécules polaires comme les peptides, protéines, les acides nucléiques et les sucres. Par rapport à l'ionisation par electrospray (ESI), une autre ionisation douce populaire, le MALDI-MS possède la capacité de réaliser des analyses à haut débit, ce qui est primordial lorsque que des applications en santé sont envisagées.

Ionization method	Abbreviation	Description	Method type	Analytes
Electron Impact	EI	A beam of electrons passes through a gas-phase sample and collides with analyte to produce a positively charged ion or a fragment ion	Hard	Small volatiles chemicals
Chemical Ionization	CI	A reagent gas is ionized by electron impact and then subsequently reacts with analyte to produce analyte ions.	Soft	Small volatiles
Electrospray Ionization	ESI	A solution is nebulized under atmospheric pressure and exposed to a high electrical field which creates a charge on the surface of the droplet. Droplets rapidly become much smaller through vaporization of solvent and into an analyzer.	Soft	Peptides, proteins non-volatile chemicals
Fast Atom bombardment	FAB	A beam of high energy atoms strikes a surface to create ions.	Soft	Carbohydrates, organometallics, peptides, nonvolatile
Matrix Assisted Laser Desorption Ionization	MALDI	The sample in a matrix material is irradiated with a pulsed laser which triggers ablation and desorption of sample and matrix.	Soft	Peptides, proteins nucleotides

**Tableau 1 :** Principales méthodes d'ionisation pour la spectrométrie de masse.

Dans la méthode MALDI, des composés organiques absorbant dans l'ultraviolet (matrices) sont mélangés à l'échantillon de manière à former, après co-cristallisation, un dépôt solide homogène. En fort excès par rapport à la quantité d'analyte dans le dépôt, la matrice permet d'absorber l'énergie du faisceau laser puis de la redistribuer à l'échantillon. Elle assure également d'autres fonctions comme protéger l'échantillon de l'irradiation laser directe, limiter son agrégation en dispersant les molécules, favoriser la vaporisation de l'analyte en l'entraînant en phase gazeuse ou encore jouer le rôle d'adjuvant d'ionisation par transfert de protons en fonction de ses propriétés acido-basiques. Cette nouvelle stratégie a permis d'accéder à l'analyse de nombreuses macromolécules ce qui était jusque là difficile voire impossible.<sup>107</sup>

L'irradiation se fait par un faisceau laser pulsé (ns), utilisant une longueur d'onde ultraviolet (ou parfois infrarouge), du dépôt solide formé par la co-cristallisation de l'échantillon et de la matrice en excès. L'énergie transmise par le laser est alors absorbée par les molécules de la matrice. L'excitation des molécules de matrice conduit à la désorption/ablation d'une fine couche du dépôt solide matrice/analyte puis à la vaporisation de la matière, la "plume" au sein de laquelle va se dérouler l'étape d'ionisation. Les ions ainsi produits sont accélérés et introduits dans l'analyseur pour leur séparation, ici de type temps de vol (Time of flight - ToF) et enfin détectés.

L'ionisation MALDI se fait en trois étapes :

- L'absorption du faisceau d'énergie lors de l'irradiation laser,
- Le processus d'ablation/désorption, génération d'une plume
- L'ionisation des analytes lors de la désorption et au sein de la plume (ionisation secondaire).

Grâce à son vaste domaine d'utilisation, rendu possible par la grande variété de matrices découvertes ainsi qu'aux avancées technologiques réalisées sur les appareils de spectrométrie de masse MALDI-TOF, tels que le réflectron (ou réflecteur ou miroir électrostatique), l'extraction retardée ou les détecteurs de haute masse, la technique MALDI est devenue un outil très performant. Cependant, les performances de l'analyse en MALDI-MS sont étroitement liées à la qualité du dépôt du couple analyte/matrice organique. Ainsi, le choix de la matrice, qui est fonction de la famille de molécule à analyser, ainsi que le mode de dépôt sont primordiaux. Le but étant d'obtenir le dépôt le plus homogène possible, sans points chauds (concentrations élevées d'analytes très localisés), pour de meilleures sensibilité et reproductibilité des analyses. Les principales applications du MALDI-MS sont résumées dans le **tableau 2**.

Fields of study	Applications
Proteomics	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determine protein structure, function, folding and interactions</li> <li>• Identify a protein from the mass of its peptide fragments</li> <li>• Detect specific post-translational modifications throughout complex biological mixtures</li> <li>• Quantitate (relative or absolute) proteins in a given sample</li> <li>• Monitor enzyme reactions, chemical modifications and protein digestion</li> </ul>
Drug discovery	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determine structures of drugs and metabolites</li> <li>• Screen for metabolites in biological systems</li> </ul>
Clinical testing	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Detect disease biomarkers (ex. metabolic diseases, Ab-peptides detection from Cerebrospinal fluid (CSF)...) )</li> </ul>
Genomics	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sequence oligonucleotides</li> </ul>
Environment	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Test water quality, soil and food contamination</li> </ul>
Forensics	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Illicit drug abuse detection from saliva or fingerprint</li> <li>• Explosive detection</li> </ul>

**Tableau 2** : Principales applications de la spectrométrie de masse.

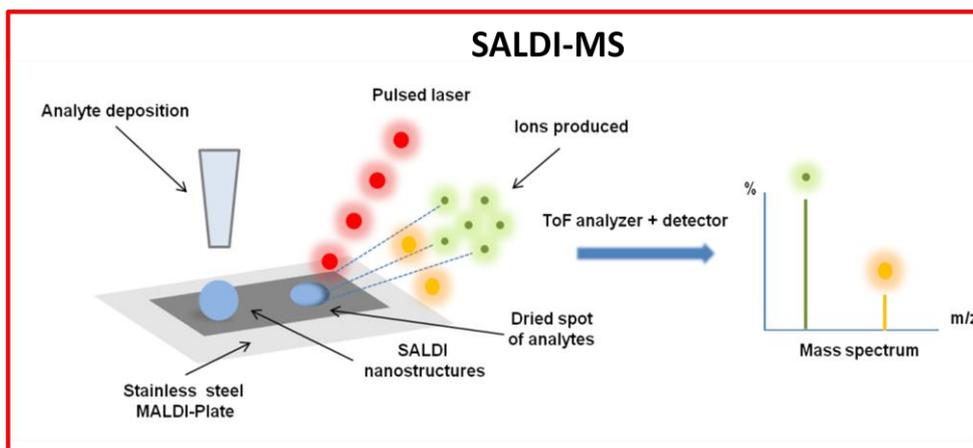
Cependant, la limitation la plus importante reste la difficulté à analyser des composés de faibles masses molaires (< 700 g.mol<sup>-1</sup>). En effet, l'utilisation d'une matrice organique, indispensable pour la désorption/ionisation, est la principale cause de cette limitation. Elle est utilisée en large excès (~1 molécule d'analyte/5000 molécules de matrice), ce qui rend d'autant plus difficile l'analyse de petites molécules. En effet, la pollution des spectres dans les basses masses par les ions provenant de la matrice (fragments, agrégats, adduits...) va empêcher la détection de composés d'intérêts dans la même gamme de masse.

Plusieurs solutions ont alors été proposées afin de palier à ces limitations telles que des protocoles spécifiques de préparation d'échantillon ou la recherche de nouvelles matrices organiques (dérivés de la coumarine, polymères

organiques, liquides ioniques...)<sup>108,109,110,111</sup> Cependant, des méthodes alternatives permettant de simplifier le protocole de dépôt et de s'affranchir des limitations induites par l'utilisation de la matrice pour l'analyse de petits composés en spectrométrie de masse reste un objectif majeur.

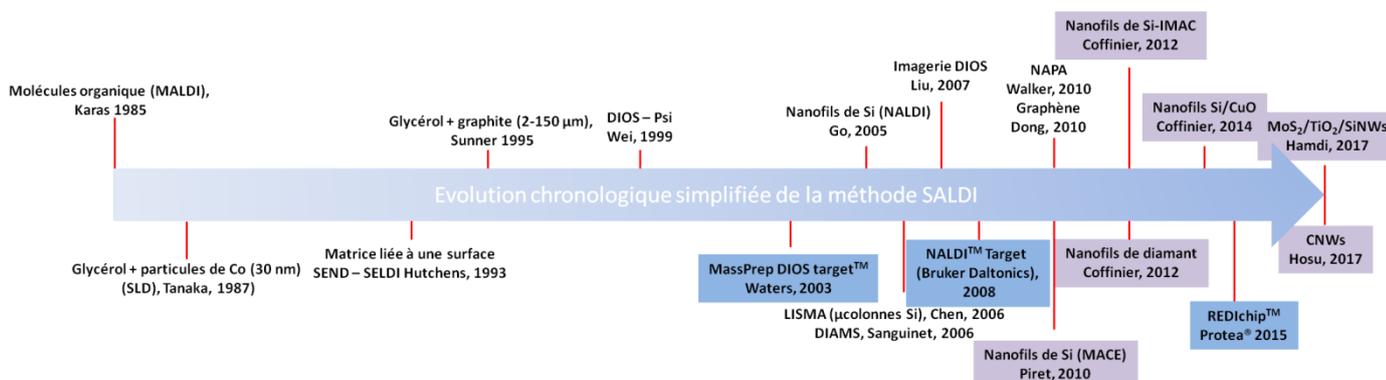
#### 4.1. Les surfaces SALDI

Depuis les travaux de Tanaka et de Sunner dans les années 90 (utilisation de particules de Co et de graphite dans du glycérol pour remplacer la matrice organique), un nombre très important de surfaces/matériaux micro/nanostructurés ont été réalisés.<sup>112,113</sup> En effet, parmi les méthodes alternatives à la méthode MALDI, les surfaces micro et nanostructurées ont trouvé une place de choix pour réaliser l'étape de désorption/ionisation assistée par laser (LDI) sans matrice organique et l'analyse de petits composés par spectrométrie de masse. L'un des développements les plus remarquables dans ce domaine a été certainement l'utilisation du silicium poreux pour la réalisation de la LDI de petits composés par le groupe de G. Siuzdak. Cette méthode fut appelée DIOS pour désorption / ionisation sur silicium poreux.<sup>114</sup> Le terme générique classiquement usité pour cette méthode est "Surface assisted laser desorption/ionization", soit SALDI par analogie à la méthode MALDI. Le principe est schématisé dans la **figure 37**.



**Figure 37** : Principe de la méthode SALDI-MS

Dans la **figure 38** est représentée l'évolution chronologique de l'apparition des principaux types de méthodes SALDI répertoriés.<sup>22</sup>



**Figure 38** : Evolution de la méthode SALDI - Violet (développements de l'équipe), bleu (produits commerciaux).

Ces différentes surfaces ou matériaux développés pour le SALDI peuvent être classés en plusieurs catégories en fonction de leurs natures, de leurs propriétés électrique, thermique et optique et de leurs dimensions : particules (objet 0D), nanofils/nanotube (objet 1D) et feuillet/film (graphène, MoS<sub>2</sub>...) (objet 2D). Plusieurs revues spécifiquement dédiées aux nanostructures pour la LDI-MS ont été publiées.<sup>115, 116, 117, 118</sup>

Nous avons donc :

- Les matériaux semi-conducteurs : silicium, germanium, GaN... Un chapitre de livre sur les applications du silicium poreux en spectrométrie de masse a été publié en 2014.<sup>119</sup>

- Les oxydes métalliques : Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, ZnO....(particules ou nanotube/nanorod)<sup>120</sup>

- Les métaux : Ag, Au, Pt...(nanosphères, nanofleurs, nanostars, nanorods...)

- Les matériaux carbonés : Fullerène, diamant (particules, nanofils), graphite (HOPG, poreux, particules), graphène (GO, rGO), nanotubes de carbone (CNTs), diamond like carbon (DLC), carbon dots....<sup>121,122</sup> Parmi ces matériaux carbonés, certains peuvent avoir des propriétés semi-conductrices (CNTs semi-conducteurs, graphène dopé/modifié (ouverture du gap)...).<sup>123</sup> Ces matériaux carbonés pour la LDI-MS ont récemment fait l'objet d'une revue et d'un chapitre de livre.<sup>22, 28</sup>

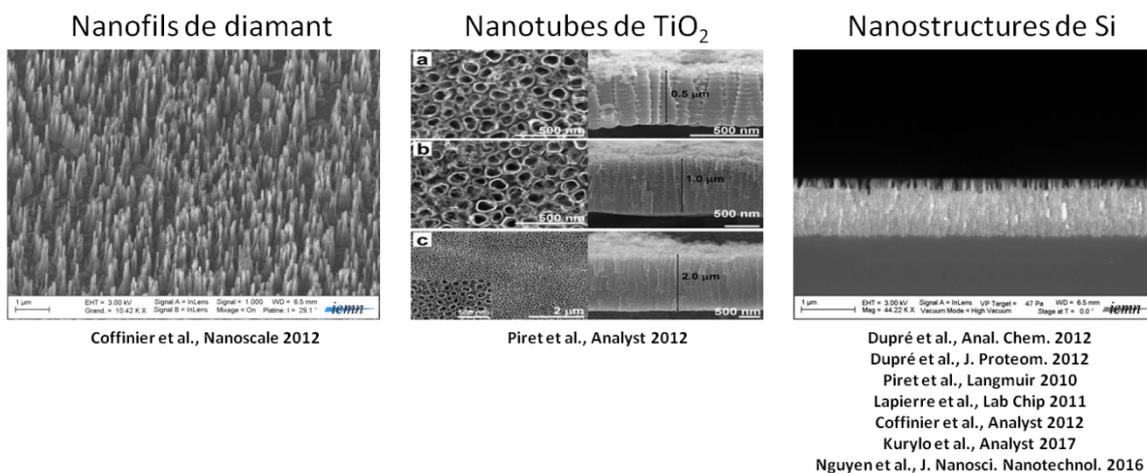
- Les matériaux composites. Dans un premier cas, un effet synergique peut être recherché (ex. CNTs/GO, Zeolite/Au)), dans un second cas, un des matériaux apporte une certaine fonctionnalité (SiNWs/CuO) par exemple pour la capture spécifique de cible d'intérêt.<sup>124,125,126</sup>

- La méthode SEND pour Surface-Enhanced Neat Desorption, qui consiste en des molécules de matrices MALDI, ou possédant des propriétés similaires, greffées sur des surfaces/nanostructures (ex. particules SiOx/matrice organique, GO-acide sinapinique).<sup>127, 128</sup>

Les différentes surfaces SALDI que nous avons développées au cours de ces années sont présentées dans la **figure 39**.



### Surfaces SALDI développées



**Figure 39:** Différentes surfaces SALDI développées (Thèses G. Piret, T.P.N. Nguyen, F. Lapierre, M. Dupré, A. Hamdi, I. S. Hosu).

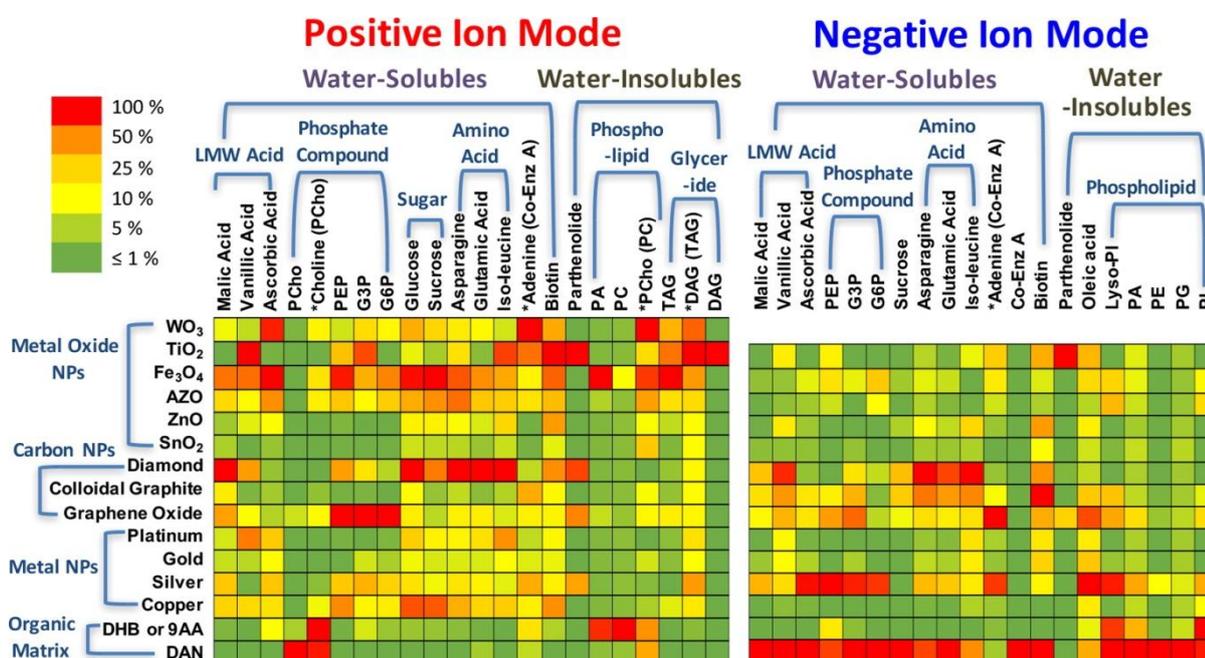
Selon Law et Larkin, les surfaces structurées doivent présenter les caractéristiques suivantes pour être reconnues comme méthode SALDI<sup>115</sup> :

- Performances supérieures à celles obtenues sur une plaque MALDI classique (plaque d'inox par ex.) ou à celles obtenues à partir d'une surface non structurée.
- La puissance laser requise pour la production d'ions doit être au moins équivalente à celle nécessaire dans le cadre du MALDI.
- La formation d'ions moléculaires ou quasi-moléculaires, synonyme d'ionisation douce.
- Fragmentation limitée, ou si elle a lieu, une fragmentation qui doit permettre l'obtention d'un profil spectral prévisible et reproductible.
- L'analyse d'une grande variété de composés.

Sur ce dernier point, il est à savoir que peu d'études ont été réalisées sur un grand nombre de composés. En effet, la majorité des publications se contentant à l'analyse de quelques peptides ou petites molécules connus pour répondre facilement en LDI. Si bien que parfois, ces analytes utilisés dans les développements et les validations des méthodes se trouvent être les molécules commercialisées dans les échantillons de calibration des analyseurs à temps de vol. Par exemple, des peptides tels que l'angiotensine, la bradykinine, la substance P, l'insuline ou des

petites protéines comme le cytochrome C sont très souvent employés comme composés modèles dans les développements de méthodologies LDI. Suite à cela, la course à la performance (meilleure sensibilité) a été lancée, où de nombreuses études/publications visaient à démontrer qu'elles présentaient la "meilleure surface SALDI" sans réelle pertinence. Cependant, là encore, les résultats présentés ne concernaient que l'analyse de composés facilement détectables en MS en occultant totalement de réels applications ou développements.

Récemment, une étude publiée dans *Analytical chemistry* en 2016, a comparé l'efficacité de 13 types de particules et de 2 matrices organiques (DHB et DAN) pour l'analyse de 24 métabolites (sucres, acides aminés, phospholipides) possédant des propriétés physico-chimique différentes.<sup>120</sup> Il s'est avéré que les particules de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, de TiO<sub>2</sub> et de diamant dopé au bore donnaient les meilleurs résultats (**Figure 40**). Le point commun de ces particules est qu'elles possédaient une bonne absorption à 355 nm, une grande capacité thermique (capacité à retenir ou à relarguer la chaleur) et une faible conductivité thermique. Cependant, les performances dépendaient grandement du type d'analyte à analyser. L'influence de la taille des particules n'a pas été évoqué.



**Figure 40:** Performances en LDI-MS des différents types de particules pour la détection de petits composés présentant des propriétés physico-chimiques différentes.<sup>120</sup>

Le groupe de Vertes a également publié l'analyse de 374 composés grâce à leur surface NAPA.<sup>129</sup> Ces surfaces NAPA sont maintenant commercialisées sous le nom de REDIchip™ par Protea (<https://www.proteabio.com/redi-chip.html>).

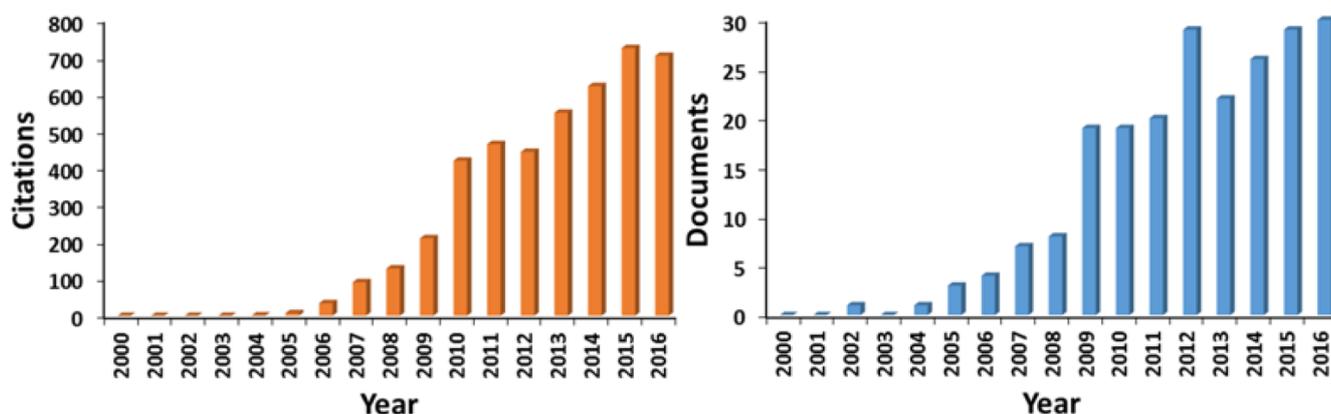
A regarder le nombre de publications parues récemment, cette thématique de recherche suscite toujours un réel engouement (**Figure 41**). On peut donc en conclure que les supports développés n'ont, semble-t-il, pas encore répondu à toutes les attentes des chercheurs et que le développement de techniques LDI alternatives constitue toujours un objectif de recherche majeur dans l'analyse de petites molécules et de biomolécules.

Les recherches actuellement menées sur la méthode SALDI concernent :

- le développement de nouvelles surfaces, notamment en jouant sur les matériaux et les morphologies.

- le développement d'applications
- La compréhension des mécanismes fondamentaux régissant la méthode SALDI.

Ces trois aspects seront abordés dans cette partie.



**Figure 41:** Nombres de citations (à gauche) et de publications (à droite) obtenus à partir du site Web of Science™ (v. 5.23.2) avec le mot clé SALDI-MS (Accédé en février 2017) sur la période 2000–2016.<sup>116</sup>

## 4.2. Mécanisme et facteurs pouvant influencer les performances

Brièvement, dans le cadre du SALDI, le substrat nanostructuré va absorber l'énergie du laser UV ( $\lambda=355$  nm) pulsé (ns). Cette énergie absorbée va permettre l'augmentation de la température en surface, conduisant à la désorption des analytes adsorbés et du solvant piégé au sein des nanostructures. Pendant quelques nanosecondes, il est estimé que la température en surface peut monter à 600 K (327 °C), ce qui conduit à une évaporation rapide ou à une décomposition des molécules.<sup>130</sup> Cependant, le transfert intégral de l'énergie est un procédé complexe où plusieurs facteurs, influençant la DI peuvent interagir les uns avec les autres. En effet, même si le mécanisme de désorption invoqué est principalement basé sur une désorption thermique (échauffement par le laser) couplée à un confinement thermique, d'autres mécanismes comme la transition de phase, la restructuration de surface et l'interaction analytes-surface peuvent également contribuer au processus global. D'autres mécanismes peuvent avoir lieu en fonction du type de matériaux. Par exemple, dans le cas des métaux nobles (Ag, Pt, Au) l'excitation plasmonique et l'émission thermoionique peuvent participer au processus LDI.<sup>116</sup>

Il semble donc que l'étude de ces mécanismes qui se déroulent sur quelques nanosecondes soit assez délicate.

Cependant, de la même manière que pour l'ionisation MALDI, le mécanisme détaillé de la technique SALDI reste mal compris et plusieurs hypothèses sont proposées pour expliquer, seules ou en combinaison, la production d'ions :

- Des transferts d'électrons entre la surface et les analytes (accumulation de charges en surface, sur les défauts de structures...),
- Des transferts de protons entre les groupements Si-OH et les analytes,
- Des réactions de photoionisation entre les molécules de solvant piégées dans les pores et les analytes,
- La présence d'ions préformés dans l'échantillon déposé.

- Ionisation par impact électronique (génération d'électrons chauds)....

L'interaction lumière-matière peut également conduire à l'apparition de plusieurs phénomènes :

- Saturation de l'absorption
- Déplacement du maximum de l'absorption
- Génération d'harmoniques....

En résulte des changements des propriétés optique, thermique et électronique des surfaces considérées. Ces effets sont amplifiés dans le cas des nanostructures.<sup>131</sup> Le changement de la morphologie de la surface comme par exemple l'augmentation de l'aire spécifique de surface est également à prendre en compte dans l'efficacité de la méthode SALDI.

Au cours de ces années, nous nous sommes particulièrement focalisés sur l'utilisation de nanostructures de silicium et de carbone. En effet, comme mentionné dans la partie 1, grâce à différentes méthodes de microfabrication, des objets modulables en dimensions (épaisseur), morphologie, porosité, réflectivité, résistivité... ont pu être obtenus. Les propriétés des surfaces structurées influençant les performances en LDI-MS sont résumées dans **le tableau 3**. L'énergie laser utilisée ainsi que l'énergie d'activation des analytes ont également un rôle primordial dans le processus SALDI.<sup>131</sup>

Propriétés surfaces SALDI	Avantages/MALDI
<u>Propriétés optiques :</u> Absorbent dans les UV, Anti-réfléctives	Pas de matrice organique Simplicité du dépôt, uniformité du dépôt
<u>Propriétés électroniques Silicium :</u> Bande interdite : 1.1 eV, gap indirect (recombinaison non-radiative)	Faible puissance laser - Limite les fragmentations Peu d'ions interférents
<u>Propriétés thermiques:</u> Grand capacité thermique - Faible conductivité thermique – Confinement de la chaleur - Haut point de fusion (Si, oxyde métalliques) - Transfert d'énergie interne	
<u>Modifications chimiques :</u> Reproductibilité - Affinité de type SELDI - greffage SAM (DIAMS)/molécules de matrice organique (SEND) - Influence sur performances en MS (énergie d'activation...)	Grande aire spécifique de surface - Grande capacité d'adsorption des analytes
<u>Autres paramètres influençant les performances :</u> Porosité, dimensions, dopage	Très sensible vis à vis des petits composés <10000 Da

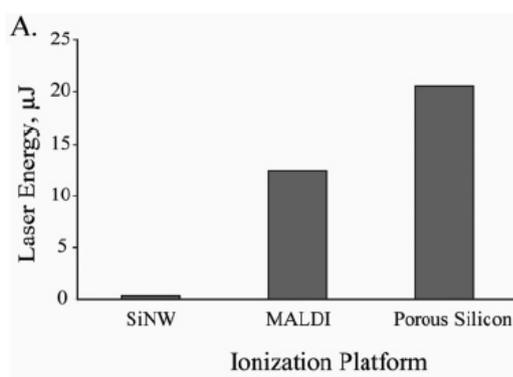
**Tableau 3 :** Propriétés des surfaces SALDI et avantages /MALDI.

### 4.3. Nanofils/nanostructures de Si pour la LDI-MS

L'utilisation de nanostructures de Si comme les nanofils a permis d'obtenir une sensibilité de détection accrue des petits composés. De plus, la puissance laser nécessaire pour réaliser la LDI était 12 fois plus faible que pour le MALDI notamment grâce au confinement thermique dans ces nanofils. En effet, alors que la conductivité thermique du silicium est de 150 W/m/K, celle d'un nanofil de Si est de 20 W/m/K.<sup>132</sup> L'utilisation d'une puissance laser plus faible a permis de limiter les risques de fragmentation des molécules à détecter (**Figure 42**). Le mécanisme thermique a été mis en évidence par la méthode de rendements de survie d'ion (SY) qui a permis d'apporter des informations sur l'énergie interne des ions produits en phase gazeuse, en se basant sur la relation entre le degré de fragmentation d'un ion dit thermomètre et la quantité d'énergie interne qu'il contient. L'analyse de l'ion 3-méthoxybenzylpyrimidium (ion préformé) a mis en évidence que le taux de survivants (molécules non fragmentée) était plus important pour les surfaces de SiNWs "classiques" que pour les autres matrices. Dans ce cas, la puissance laser requise étant inférieure pour toutes les surfaces de SiNWs (**Figure 42**). A partir de ces expériences, plusieurs conclusions ont été émises :

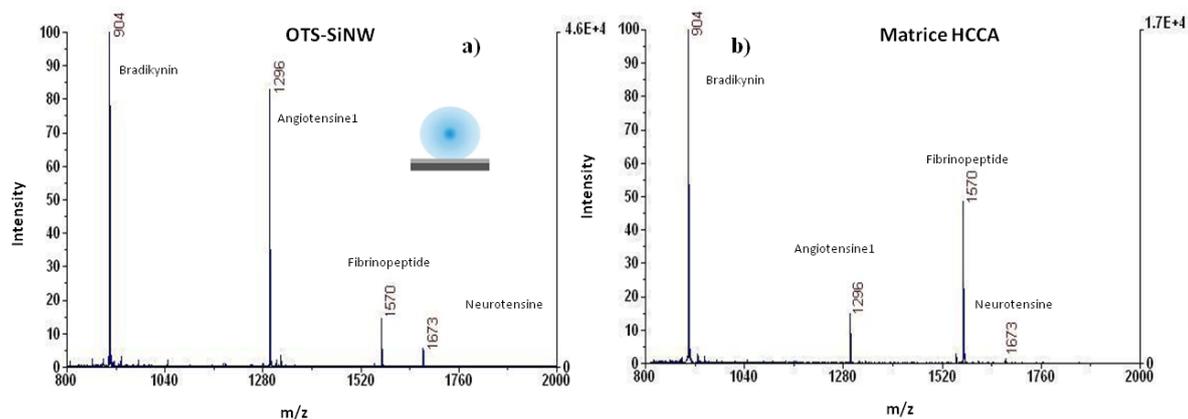
- L'énergie nécessaire à la désorption/ionisation laser est moindre avec les surfaces de SiNWs
- La morphologie des surfaces influence le transfert d'énergie observé au travers des différences de résultats.

Ces nanofils de Si constituent donc une bonne alternative aux techniques d'ionisation existantes.<sup>133</sup>



**Figure 42:** Puissance laser nécessaire à la production d'ions pour des nanofils de Si, le silicium poreux et la technique MALDI.<sup>133</sup>

Dans la figure suivante sont représentés deux spectres de masses obtenus pour un mélange peptidique. Ces peptides ont été ionisés par SALDI et MALDI (matrice HCCA) (**Figure 43**). On peut voir que la surface de nanofils de silicium a permis d'obtenir une meilleure intensité du signal et de meilleurs ratios S/N (signal/bruit de fonds) comparativement à la méthode MALDI.<sup>36</sup>



Peptide mixture at 50 fmol/μl (except Neurotensin at 10fmol/μl)	S/N ratio values for MS-LDI on SiNWs	S/N ratio values for MALDI
Des-Arg <sup>1</sup> -Bradikinin	641	395
Angiotensine I	532	68
Fibrinopeptide	100	234
Neurotensin	40	10

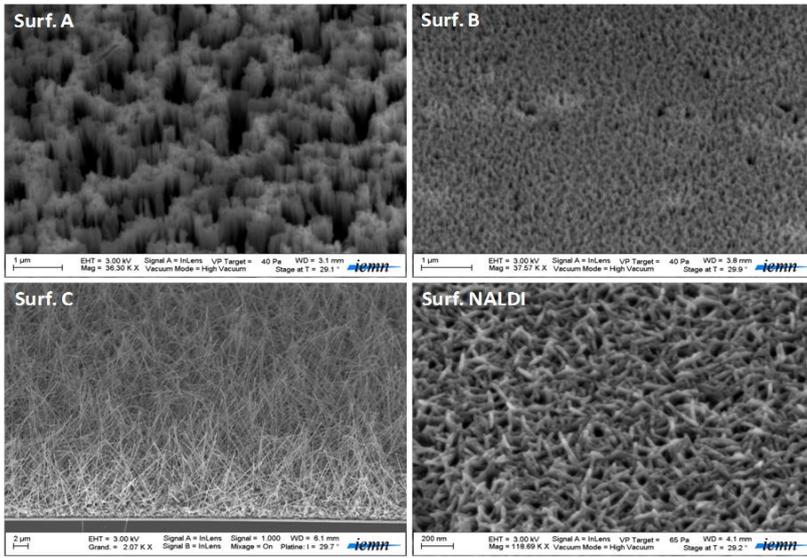
Peptides	Mass (Da)	Charge	Concentration
Des-arg <sup>1</sup> -Bradykinin	904	+	50 fmol
Angiotensin I	1296	+	50 fmol
Glu <sup>1</sup> -Fibrinopeptide I	1570	-	50 fmol
Neurotensin	1673	+	10 fmol

LoD : 2 fmoles (Sutant)

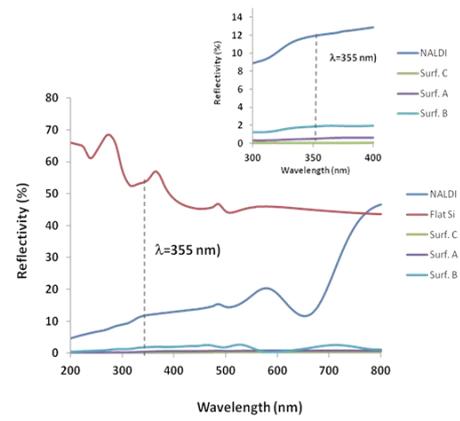
**Figure 43:** Spectres de masse obtenus pour le mélange peptidique d'Angiotensine, Bradykinine, Fibrinopeptide et de Neurotensine par LD/I sur nanofils de silicium (a) et par MALDI (b) (thèse G. Piret).<sup>36</sup>

En collaboration avec l'équipe de Christine Enjalbal (IBMM) et dans le cadre de la thèse de Mathieu Dupré, nous nous sommes intéressés à l'influence de la morphologie des surfaces de silicium structurées et de leur terminaison chimique. Une présélection des surfaces de silicium fabriquées au sein du laboratoire a été conduite en regardant les performances LDI-MS obtenues pour un mélange de peptides de calibration. Dans la **figure 44** sont représentées des images en microscopie à balayage (MEB) des nanostructures en silicium obtenues soit par gravure chimique ou par croissance CVD (voir **partie 1**) et sélectionnées pour la suite de l'étude.

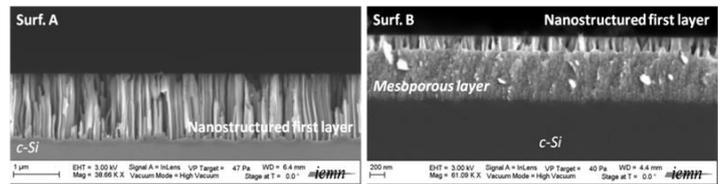
Ces surfaces ont été évaluées en termes de sensibilité de détection, de reproductibilité d'analyse et de discrimination de peptides (nombre de peptide non détectés à partir d'un mélange complexe).



Reflectivity measurement



Surfaces A and B : chemical etching  
 Surfaces C (10µm, 80-150 nm diam)  
 and NALDI (1µm-100nm diam)(Brüker Daltonics) (VLS)



**Figure 44:** Surfaces de silicium nanostructurées sélectionnées (Surfaces A&B (méthode MACE), Surface C (croissance CVD) et surface NALDI (croissance CVD, commercialisée par Brüker Daltonics). Vue en coupe des surfaces A&B et mesures de réflectivité pour les 4 surfaces.<sup>38</sup>

LDI surfaces / Sample concentrations	Surface A - OTS			Surface B - OTS			Surface C - OTS			NALDI™ *				
	10 <sup>5</sup> M	10 <sup>6</sup> M	10 <sup>7</sup> M	10 <sup>5</sup> M	10 <sup>6</sup> M	10 <sup>7</sup> M	10 <sup>5</sup> M	10 <sup>6</sup> M	10 <sup>7</sup> M	10 <sup>5</sup> M	10 <sup>6</sup> M	10 <sup>7</sup> M		
	5 µmol	500 fmol	50 fmol	5 µmol	500 fmol	50 fmol	5 µmol	500 fmol	50 fmol	5 µmol	500 fmol	50 fmol		
Relative responses of peptide mixtures (each containing 5 equimolar peptides)	M 1	57.3%	66.5%	48.1%	61.8%	100.0%	100.0%	35.7%	19.6%	32.0%	51.0%	7.0%	4.4%	
	M 2	10.1%	6.5%	6.1%	16.3%	31.3%	17.3%	5.3%	3.0%	0.0%	13.2%	0.9%	0.0%	
	M 3	51.9%	52.0%	0.6%	30.5%	16.7%	83.5%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	18.9%	7.3%	
	M 4	37.6%	36.9%	28.6%	77.9%	56.2%	33.4%	10.3%	12.8%	14.4%	45.5%	8.8%	12.4%	
	M 5	52.6%	44.2%	57.3%	100.0%	83.8%	31.2%	27.8%	16.0%	20.0%	20.1%	7.3%	3.4%	
	M 6	100.0%	100.0%	100.0%	98.3%	71.9%	81.5%	61.6%	36.2%	35.8%	54.4%	100.0%	100.0%	
	M 7	7.0%	7.6%	32.8%	10.5%	51.1%	40.9%	4.6%	9.0%	7.0%	24.1%	2.6%	18.5%	
Peptide relative responses according to their m/z values	m/z range	530-670	16.3%	43.4%	31.5%	30.3%	37.9%	45.7%	33.0%	12.8%	15.0%	18.7%	7.9%	3.9%
		671-808	23.1%	20.9%	7.1%	21.7%	23.0%	34.9%	17.1%	27.1%	20.3%	5.1%	5.0%	2.8%
		829-1032	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	85.5%	61.8%	57.1%	63.2%	51.6%
		1074-1179	56.5%	37.9%	42.2%	34.4%	38.9%	47.1%	90.6%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
		1194-1481	56.9%	28.0%	28.7%	23.2%	11.6%	14.5%	35.2%	36.6%	28.1%	15.2%	49.8%	58.3%
Global results	Cumulated S/N values of peptide ions	16075	12091	8418	16587	13041			8838	4901	1543	5612	13252	8200
	Number of detected	31	27	23	35	34			32	25	17	25	23	19

Mk	Pept. SEQUENCE	Mw mono. (g/mol)
P(1)	P I C A K	530.2886
P(8)	D I G L V R	671.3986
M1	W L I A G D R	823.4446
P(2)	L M Y V H W V K	1074.5684
P(29)	W G V Y A P L F D K	1194.6073
P(2)	S E G F K	566.2700
P(9)	S W A M V K	720.3628
M2	Y I C P A D R	808.3850
P(23)	N G F L M C S A L K	1082.5282
P(30)	A D P N Y H I G E T K	1243.5832
P(3)	V T E F K	622.3326
P(10)	T P S S V L K	730.4224
M3	L G H A P E V R	877.4769
P(4)	L M Y V H W V R	1102.5774
P(31)	M L Q Y G M F V E R	1272.5994
P(4)	F A Q I R	633.3588
P(11)	S W A M V R	743.3688
M4	Y D T S I V Q K	952.4855
P(25)	P G A H I W E A G A K	1135.5774
P(32)	L E S M G V D F N A N K	1323.6128
P(6)	A G V D G P K	642.3336
P(12)	A V G K K K K	757.6173
M5	Y D T S I V Q R	980.4926
P(26)	V E Y L A S I T L K	1135.6488
P(33)	A E Q V P L G S Y D T G K	1363.6619
P(6)	V T E F R	650.3387
P(13)	M W A E N K	777.3479
M6	A F I S V G P L A R	1029.5570
P(27)	G N G Q I V F H A A R	1168.6101
P(34)	L Q D L F G E V L A N T G R	1418.7153
P(7)	A G V D G P R	670.3388
P(14)	Y I C P A D K	808.3789
M7	C A S H T F L V R	1032.5174
P(28)	G H L P T V S E N A R	1179.5996
P(35)	I W D P S N L I A Q P T K	1481.7877

35 peptides tested in total

\*Perfluoro-terminated

**Figure 45:** Résultats en SALDI-MS de l'analyse de 7 mélanges de peptides (35) à 3 concentrations différentes (50 fmol, 500 fmol et 5 pmol) sur 4 surfaces différentes.<sup>38</sup>

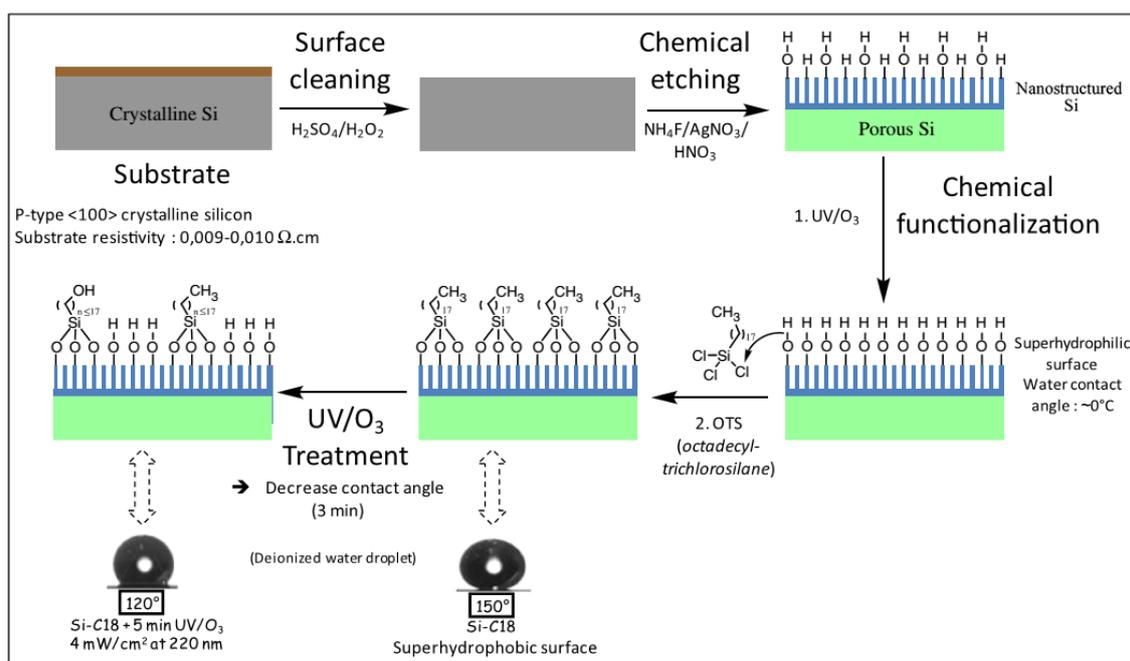
Les meilleures surfaces sont celles fabriquées par la méthode MACE (Surfaces A&B -OTS) dans l'analyse de 35 peptides répartis en 7 mélanges différents (**Figure 44**).<sup>38</sup> En effet, pour des puissances laser plus faibles, de meilleures performances MS ont été obtenues par rapport aux surfaces réalisées par croissance CVD (Surface C et NALDI). De part sa double couche nanostructurée, la surface B permet un meilleur confinement thermique, et de ce fait une puissance laser plus faible a pu être utilisée afin de produire les ions d'intérêt.<sup>38</sup> Ensuite, ces surfaces sélectionnées ont été testées pour une large gamme de peptides synthétisés (65 peptides) allant de 380 à 1700 Da présentant une grande variété de séquences dans des conditions proches de l'analyse protéomique (**Figure 46**). Il a été démontré qu'il était possible de réaliser une analyse rapide en MS suivie d'une analyse MS/MS à partir d'un mélange peptidique synthétique, mais également à partir de digestats protéiques à partir d'un seul dépôt avec une sensibilité de détection de l'ordre du fmole.<sup>134</sup> Parmi les protéines étudiées, nous avons testé la BSA, le Cytochrome C, le Fibrinogène et la  $\beta$ -Caséine. La comparaison avec le MALDI-MS a démontré que les meilleures performances concernant les petites masses étaient obtenues avec nos surfaces. Ceci a prouvé qu'elles étaient complémentaires à la technique MALDI.<sup>134</sup>

Table 1 – Synthetic peptide database.					
Entry	Sequences	M (g/mol)	Entry	Sequences	M (g/mol)
<i>Tryptic peptides</i>			<i>Lys-N peptides</i>		
P(1)	PICAK	530.29	P(A)	KGFCL	566.29
P(2)	SEGFK	566.27	P(B)	KAFHLG	671.38
P(3)	VTEFK	622.33	P(C)	KAFHLG	671.38
P(4)	FAQIR	633.36	P(D)	KAFLRG	690.42
P(5)	AGVDGPK	642.33	P(E)	KAFRLG	690.42
P(6)	VTEFR	650.34	P(F)	KYPFEAL	866.45
P(7)	AGVDGPR	670.34	P(G)	KMVNLHIQ	981.54
P(8)	DIGLVR	671.40	P(H)	KADFPQLMV	1047.54
P(9)	SWAMVK	720.36	P(I)	KEDFPQLMV	1105.55
P(10)	TPSSVLK	730.42	P(J)	KYIWLRAV	1134.86
P(11)	SWAMVR	748.37	P(K)	KEAHMTIVFCSA	1335.63
P(12)	AVGKKKK	757.52	P(L)	KSWDTLCMAGRF	1413.65
P(13)	MWAENK	777.35	P(M)	KWFGMLADQATYN	1543.71
P(14)	YICPADK	808.38	P(N)	KATCGRVNSASMYDAI	1685.79
P(15)	WLIAGDR	829.44	<i>Miscellaneous peptides</i>		
P(16)	YICPADR	836.39	M1	GVAL	358.22
P(17)	LGHapevr	877.48	M2	AFAL	420.24
P(18)	YDTSIVQK	952.49	M3	AFALV	519.31
P(19)	YDTSIVQR	980.49	M4 <sup>a</sup>	AFALVG	575.34
P(20)	AFISVGPLAR	1029.60	M5 <sup>a</sup>	VTEFK	621.35
P(21)	CASHTFLVR	1032.52	M6 <sup>a</sup>	GVLFAVA	674.41
P(22)	LMYVHWVK	1074.57	M7 <sup>a</sup>	LAVGIAR	697.46
P(23)	NGFLMCSALK	1082.53	M8 <sup>a</sup>	FPALVPI	754.47
P(24)	LMYVHWVR	1102.58	M9 <sup>a</sup>	FPAFADR	821.42
P(25)	PGAHIWEAGAK	1135.58	M10 <sup>a</sup>	PFVDRVY	893.48
P(26)	VEYLASITLK	1135.65	M11 <sup>a</sup>	AVISVGKDAP	954.55
P(27)	GNGQIVFHAAR	1168.61	M12	GEVAVLGHMK	1039.55
P(28)	GHLPTVSENAR	1179.60	M13	WGVYAPLFD	1066.51
P(29)	WGVYAPLFDK	1194.61	M14 <sup>a</sup>	WFAPPRVGYL	1203.66
P(30)	ADPNYHIGETK	1243.58	M15 <sup>a</sup>	FAFAMVGPLAEYK	1441.74
P(31)	MLQYGMFVER	1272.60	M16	GVAFGGVHMALGHFTA WVK	1984.36
P(32)	LESMGVDFNANK	1323.61			
P(33)	AEQVPLGSYDTGK	1363.66			
P(34)	QLDFGEVLANTGR	1418.72			
P(35)	IWDPSNLIAQPTK	1481.79			

<sup>a</sup> C-terminal amidated peptides.

**Figure 46:** Différents peptides étudiés (65).<sup>134</sup>

L'influence de la terminaison chimique a également été démontrée. En effet, les meilleurs résultats ont été obtenus pour des surfaces modifiées par l'Octadécyltrichlorosilane (OTS) suivi d'un traitement à l'UV/O<sub>3</sub> pendant quelques minutes (**Figure 47**).<sup>36,38,134,135</sup> On peut penser que l'apparition de groupements oxydés (-OH) après ce traitement pourrait contribuer aux performances de ces surfaces.



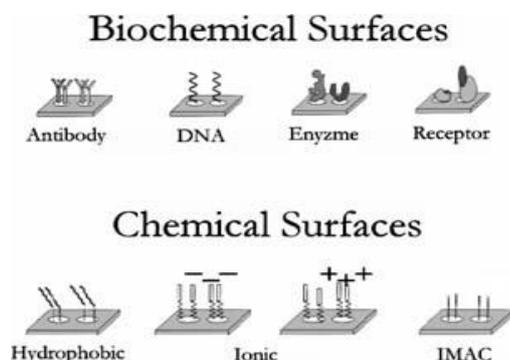
**Figure 47 :** Modification chimique des surfaces structurées.<sup>134</sup>

#### 4.4. Développement de surfaces SALDI-MS d'affinité.

Généralement, l'analyse d'un échantillon biologique en général et en particulier en MS comporte une ou plusieurs étapes de préparation telles que des étapes de purification, de dessalage, de séparation, ou encore d'enrichissement qui sont cruciales lorsque la molécule à détecter est en faible quantité dans l'échantillon. Ces opérations sont généralement conduites « off-plate », c'est à dire en solution et sur colonne chromatographique avec un risque de dilution de l'échantillon, de perte de l'échantillon, de contamination... L'échantillon ainsi « préparé » est mélangé avec une matrice organique et déposé sur une plaque d'inox puis analysé en MALDI-MS. Pour pallier ces risques, il a été développé une méthode permettant de préparer l'échantillon directement sur la plaque utilisée en MALDI en réalisant la capture spécifique de la cible à détecter grâce une étape de chromatographie. Cette étape est réalisée grâce à la présence de ligands spécifiques présents sur la plaque MALDI.

Les premiers à avoir envisager cette approche ont été Hutchen et Yip qui, dès 1993, ont pensé à modifier des plaques MALDI avec différentes ligands organiques pour développer la technique Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization (SELDI) (**Figure 48**).<sup>136</sup>

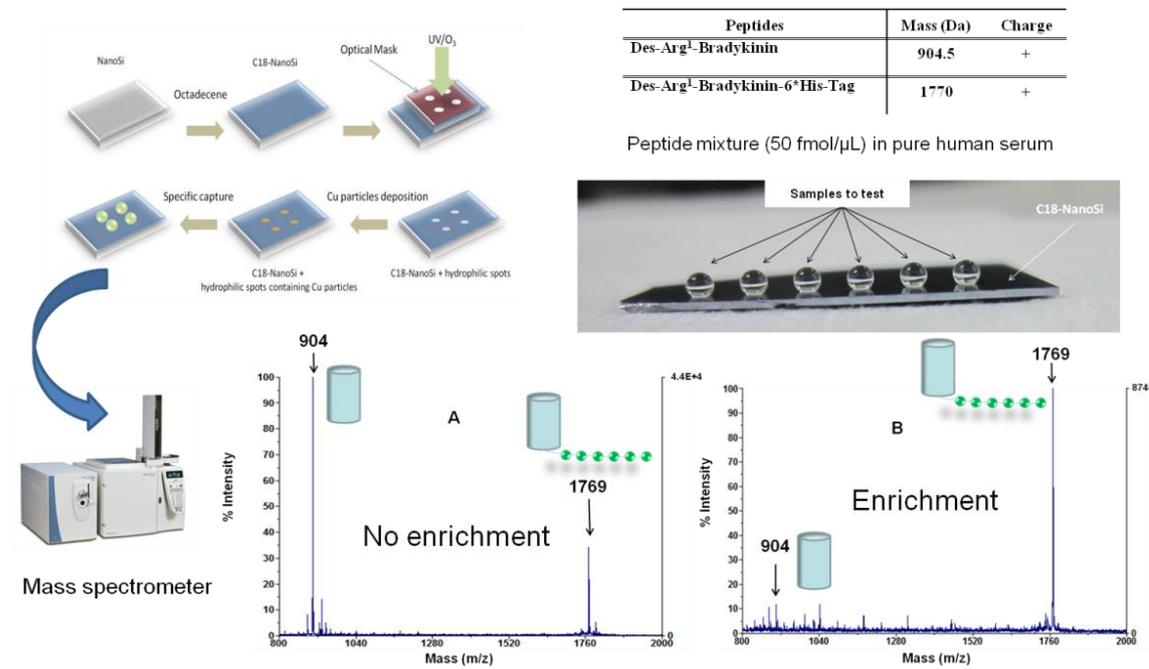
Cette méthode SELDI utilise donc des surfaces fonctionnalisées afin d'interagir spécifiquement avec certaines familles de composés à analyser. Ceci permet alors de capturer l'analyte par des affinités chimiques à partir d'échantillons complexes. Cette stratégie analytique combine donc un protocole de préparation d'échantillon "on plate" permettant d'extraire et de concentrer un analyte vis-à-vis du milieu dans lequel il se trouve et une technique d'analyse LDI-MS.



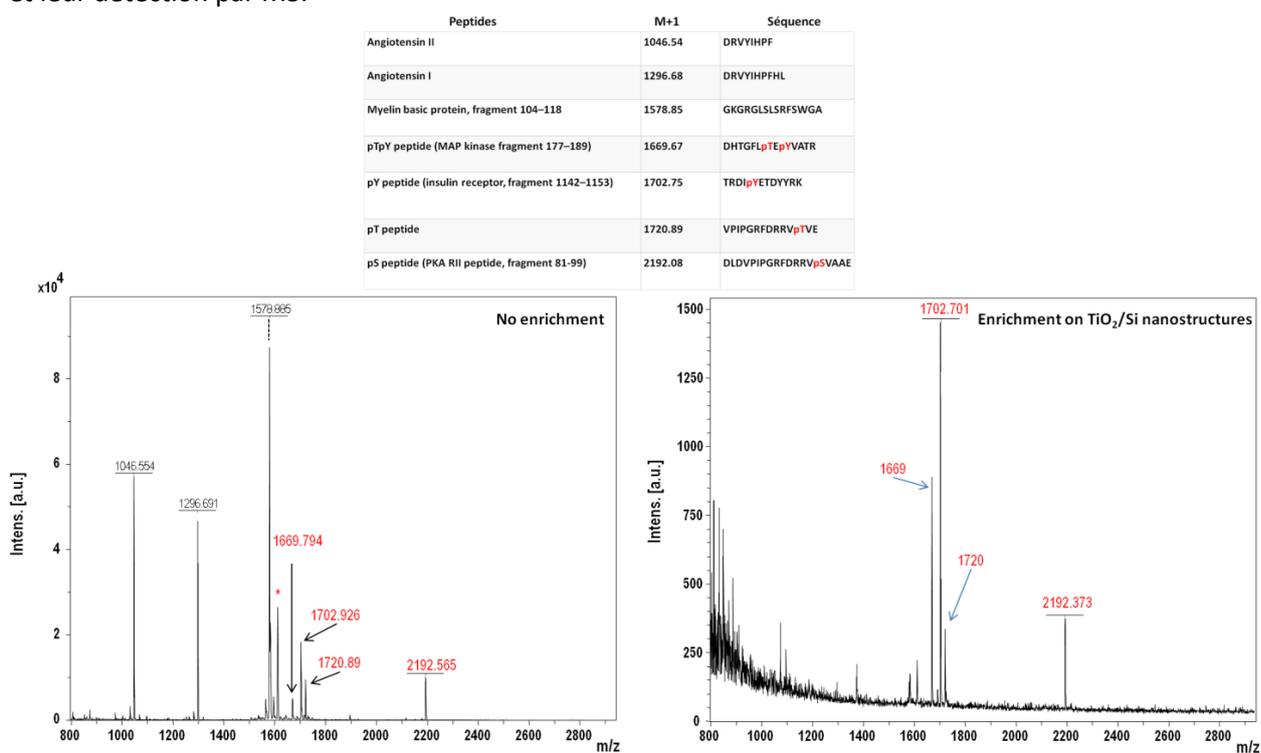
**Figure 48:** Exemple de ligands utilisés en SELDI.<sup>136</sup>

Cette méthode est devenue très utilisée pour des applications biologiques et protéomiques. En fonction du type de ligand présent sur la surface, différentes classes de composés pouvaient être analysés.<sup>137,138,139</sup> La technique SELDI est une technique à part entière qui a été développée commercialement (Bio-Rad, Ciphergen) à travers des supports dédiés pour des analyses spécifiques. Cependant, l'ajout de matrice organique était toujours nécessaire. Nous avons donc développé une surface SALDI à base de nanostructures de silicium sur laquelle nous avons greffé un ligand en vue de l'enrichissement spécifique de la cible « on plate » suivi de son analyse en MS sans matrice organique (thèse T. P. N. Nguyen). Les deux étapes sont ainsi réalisées sur la même interface sans étape d'éluion. La première étude a porté sur l'introduction du complexe NTA-Ni<sup>2+</sup> sur les nanostructures de silicium. Ce type de complexe est utilisé dans la chromatographie d'affinité appelée IMAC (Chromatographie d'affinité des ions métalliques immobilisés) et qui permet de capturer des biomolécules (protéines, ADN) portant des groupements phosphate ou des résidus histidine (queue histidine). Ce complexe a permis de capturer spécifiquement un peptide portant une queue de 6 résidus Histidine (Des-arg<sup>9</sup>-Bradykinine (DAB-His), m/z 1769) dans un mélange équimolaire comportant son analogue sans Histidine (Des-Arg<sup>9</sup>-Bradykinine (DAB), m/z 904). Le peptide, ainsi capturé, a été ensuite détecté par MS. Le peptide DAB-His est alors mieux détecté que le peptide DAB sur la surface portant le complexe métallique, prouvant l'enrichissement spécifique. Ces résultats montrent l'énorme potentiel de telles surfaces notamment en adaptant le ligand spécifique pour l'étape de capture en fonction de la molécule d'intérêt.<sup>140</sup> Pour aller plus loin et simplifier la méthode, nous avons décoré les nanofils de silicium par des particules de Cu/CuO. Ici, la capture spécifique est basée sur la méthode MOAC (Chromatographie d'affinité des oxydes métalliques) qui permet de s'affranchir des étapes de fonctionnalisation organique des nanofils de silicium, tout en gardant une très bonne spécificité de capture et une très bonne sensibilité de détection. De plus, la méthode engendre beaucoup moins d'interactions non spécifiques que la méthode IMAC. Dans le cas de MOAC, l'interaction entre les groupes imidazoles de la queue histidine du peptide d'intérêt et les nanofils se fait par les ions Cu<sup>2+</sup> présent dans l'oxyde de Cu (**Figure 49**). L'enrichissement a

également été réalisé à partir de sérum humain dans lequel des concentrations connues de peptides ont été ajoutées. Cela a permis de démontrer la très bonne spécificité de notre méthode en milieu complexe. En changeant d'oxyde métallique ( $\text{TiO}_2$  et  $\text{ZrO}_2$ ), nous avons pu également réaliser l'enrichissement de phosphopeptides (**Figure 50**).



**Figure 49:** Enrichissement de peptides portant un Tag 6\*histidines sur des nanofils décorés de particules de Cu/CuO et leur détection par MS.<sup>126</sup>



**Figure 50:** Enrichissement de phosphopeptides à partir de sérum humain sur des nanofils recouverts d'un film de  $\text{TiO}_2$  (10 nm, métallisation thermique) et leur détection en MS.<sup>141</sup>

Cette dernière application ouvre la voie à l'étude du phosphoprotéome ainsi qu'à d'autres modifications post-traductionnelles (PTMs) comme la sulfatation. En effet, les réactions de phosphorylation et de déphosphorylation de

protéine/peptide régulent le cycle cellulaire. Cependant, dans le cadre de désordres métaboliques ou de maladies chroniques, des phosphorylations/déphosphorylations *de novo* peuvent apparaître. Un des cas typiques est la maladie d'Alzheimer où l'hyperphosphorylation de la protéine Tau conduit à son agrégation en neurofibrilles enchevêtrées. Le suivi de ces PTMs au sein de liquide cérébro-spinal (CSF) est alors de toute première importance pour établir un diagnostic de la maladie le plus précocement possible mais aussi pour la compréhension de la maladie.

#### 4.5. Détection de biomarqueurs dans le sérum humain et d'antibiotiques par SALDI-MS.

---

Plus récemment nous avons développé des CNWs et des nanofils de silicium recouverts de feuillets de MoS<sub>2</sub> afin de réaliser l'analyse LDI-MS de plusieurs composés. Nous nous sommes notamment intéressés à la détection du glucose et du glutathion (GSH) dans le sérum humain. Le glutathion est un tri-peptide possédant un rôle antioxydant. Il intervient dans un certain nombre de réaction de détoxification (aux métaux lourds par exemple) et d'élimination des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS). C'est un composé ubiquitaire, présent dans toutes les cellules à forte concentration. Des taux irréguliers de GSH dans le plasma sanguin, peuvent servir de marqueurs de certaines maladies comme les maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer, Huntington), cancers, diabète, certains problèmes cardiaques, SIDA et lésions hépatiques. A l'heure actuelle, les méthodes les plus utilisées pour la détection du glucose et du GSH sont des méthodes basées sur l'électrochimie, l'HPLC, la spectroscopie Raman, la colorimétrie et la fluorescence. Malgré leurs bonnes performances, ces méthodes ne permettent pas la détection directe de ces biomarqueurs avec une bonne sensibilité et une bonne reproductibilité diminuant ainsi le risque d'erreur de mesure et éventuellement de diagnostic.

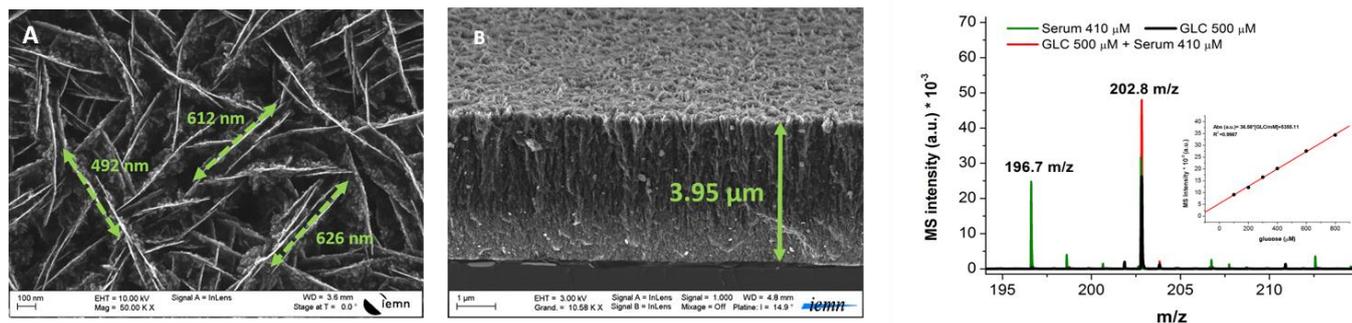
##### 4.5.1. Les CNWs

---

Les films de nanomurs de carbone (CNWs) sont formés de feuillets de graphène orientés verticalement par rapport à la surface. Ils peuvent être séparés les uns les autres par quelques centaines de nanomètres et ont une hauteur de quelques microns. L'épaisseur des "murs" varie de quelques feuillets de graphène à plusieurs dizaines de nanomètres, ce qui leur donne un rapport d'aspect élevé. La méthode de synthèse la plus utilisée est la PECVD (plasma enhanced chemical vapor deposition). Ces CNWs font actuellement l'objet d'études intensives en particulier comme émetteurs de champ d'électrons (écran), de support catalytique, d'électrode électrochimique, d'électrode pour les piles à combustible, de moule pour la lithographie douce (impression de polymère) et de support (scaffold) pour l'ingénierie tissulaire...<sup>142</sup>

Ici, les CNWs ont été synthétisés par l'équipe de Robert Bogdanowicz de l'université de Gdansk en Pologne. Les surfaces de CNWs se sont révélées être des interfaces SALDI-MS efficaces pour la détection de glucose ainsi que pour d'autres types de composés comme les peptides et les lipides avec des intensités de signal élevées. Nous avons obtenu une gamme dynamique de détection pour le glucose allant de 10 à 800 pmol, une sensibilité de  $36,58 \pm 0,58$  pmol / 0,5 µl, une LOQ réelle de 25 pmol et une LOD calculée de 0,32 pmol. La détection du glucose a été également testée dans des échantillons réels (sérum et sodas) et des mesures quantitatives ont été réalisées (**Figure 51**). Les résultats de quantification du glucose sanguin et de la boisson sucrée par SALDI-MS ont donné des résultats proches

de ceux obtenus par les méthodes colorimétriques classiques (méthode phénol/acide sulfurique) avec moins de 10% d'erreur (thèse I. S. Hosu).<sup>142</sup>



**Figure 51:** Clichés MEB de CNWs et les spectres de masse obtenus pour du sérum humain (spectre vert), solution de glucose (spectre noir) et sérum humain supplémenté en glucose (spectre rouge). Le glucose est principalement détecté sous forme d'adduit de Na à 202.8 m/z  $[M+Na]^+$ .<sup>142</sup>

Les bonnes performances des CNWs en tant que surface SALDI peuvent être expliquées par une plus faible conduction thermique. En effet, des CNWs avec des morphologies similaires possèdent une conductivité thermique intrinsèque de  $300 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ . Pour comparaison, celles des CNTs et du graphène sont de  $200 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$  et  $>3000 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$  respectivement.<sup>143</sup> Dans le **tableau 4**, sont résumés les différents matériaux carbonés utilisés pour la détection du glucose par spectrométrie de masse sans matrice organique. Les échantillons peuvent être soit pré-mélangés avant dépôt sur une plaque d'inox, soit directement déposés sur la plaque puis recouverts du matériau carboné (ou l'inverse) ou bien directement déposés sur une surface SALDI. On peut également voir qu'il n'y a que 3 exemples montrant des mesures faites à partir d'échantillons réels (sang, urine...), dont la nôtre. Outre les bonnes performances de nos CNWs, l'autre avantage est que nos structures étant crues directement sur une surface de silicium, il n'y a pas de risque de pollution de la source MALDI.<sup>123</sup>

SALDI interface or inorganic matrix	Details about the measurements <sup>a)</sup>	Real samples <sup>b)</sup>	Analyte	m/z	linear range (pmol)/0.5 µl	LOD (pmol/0.5 µL) <sup>c)</sup>	RSD (%)
Carbon nanotubes (CNTs)	Qualitative, Co-deposited	-	glucose	203	-	1.5 (aq.)	50.8
			sucrose	365	-	1.5 (aq.)	51.0
Wood Charcoal (Charcoal)	Qualitative, Co-deposited	-	glucose	203	-	50 (aq. NaCl)	-
			sucrose	365	-	500 (aq. NaCl)	-
Nanoporous carbons (NCMOFs)	Qualitative, Co-deposited	-	glucose	203	-	0.07 (aq.)	<12.0 %
Carbon nanodots (CDs)	Quantitative, Pre-mixed	blood samples	glucose (with D-glucose-1,2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> internal standard)	205/203 and 221/219	250 - 4500	0.01 (aq.)	<4.2%
Graphene oxide (GO)	Qualitative, Pre-mixed	-	glucose	219	-	0.3 (aq.)	-
Oxidized carbon nanotubes (oxCNTs)	Qualitative, Co-deposited	urine	glucose (diabetic patient)	203 and 219	-	0.005 (aq)	-
Carbon nanowalls (CNWs)	Quantitative, Surface Drop-casted	blood samples urine soft drink food supplement	Glucose sucrose	202.8	5 - 400	0.32 (aq. NaCl)	<19%
Carbon nanowalls (CNWs)	Qualitative, Surface Drop-casted	-	glucose (with D-glucose-1,2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> internal standard)	205/203	-	-	<2.5

<sup>a)</sup> refers to the type of analysis performed (qualitative or quantitative),

Pre-mixed : if the carbon materials were pre-mixed with analyte (and deposited after on the MS target plate),

Co-deposited : matrix or analyte deposited first on the MS target plate and the other on top

Drop-casted : deposited on surface

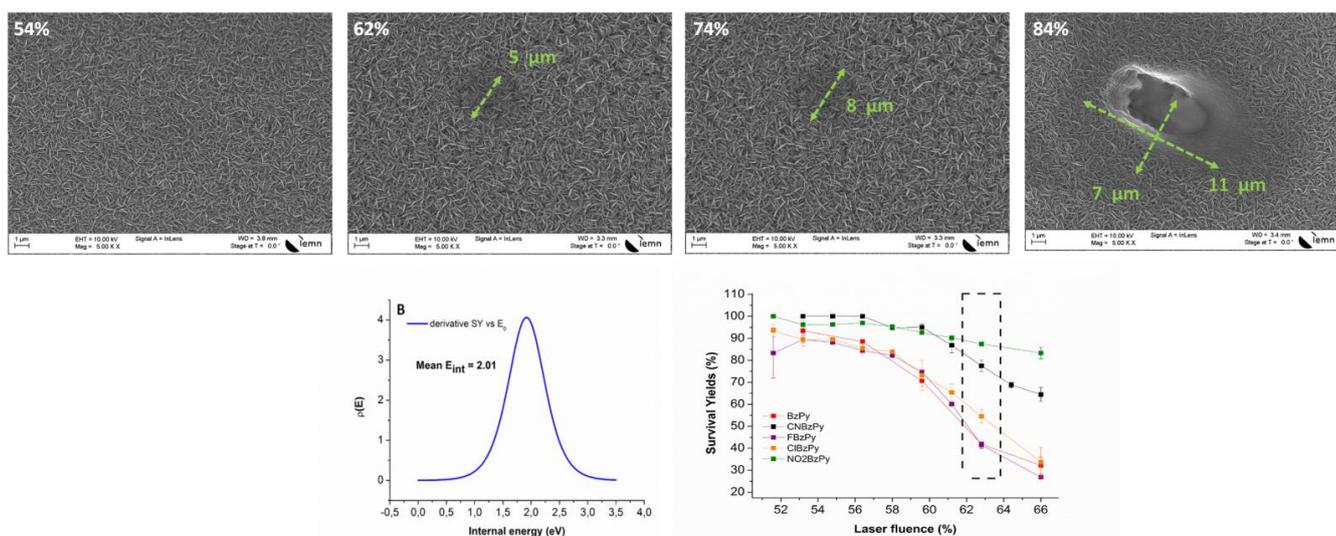
<sup>b)</sup> it is specified if the measurements were also performed in real samples.

<sup>c)</sup> it is specified if the LODs are achieved in aqueous solutions (aq), w/o adding NaCl.

**Tableau 4.** Différents matériaux carbonés pour la détection du glucose par SALDI-MS.

Ici, la diminution en taille et la présence de vide permet un meilleur confinement de la chaleur supposant ainsi un mécanisme de désorption thermique.<sup>27</sup> Cependant, on ne peut pas négliger d'autres mécanismes qui contribuent à l'efficacité des matériaux carbonés pour la réalisation du SALDI-MS.<sup>121</sup> Afin d'aller plus loin dans la compréhension de la LDI sur CNWs, nous avons mesuré l'énergie de transfert interne par la méthode du rendement des ions survivants (SY) en utilisant plusieurs types de molécules thermomètres (benzyl-pyridinium). Pour une puissance laser fixée à 62%, nous avons obtenu une énergie de transfert interne de 2.01 eV pour les CNWs correspondant à la moitié des valeurs obtenues par Tang et al., pour différents substrats carbonés comme le nanodiamant (ND, 5.86 eV), particules de graphites (G, 5.51 eV), graphite pyrolytique hautement orienté (HOPG, 5.5 eV), fullerène (C<sub>60</sub>, 5.09 eV), le carbone graphitique nanoporeux (PGC, 4.96 eV) et les nanotubes de carbone (CNT, 4.71 eV).<sup>121</sup> La plus faible énergie de transfert interne et le SY élevé montrent que les CNWs permettent une ionisation douce de ces molécules thermomètres (**Figure 52**). Cependant, il faut relativiser car les mécanismes mis en jeu peuvent différer,

notamment quand il ne s'agit pas d'ions préformés. On peut également exclure l'implication d'une restructuration de surface dans le processus LDI sur les CNWs comme en témoigne l'image MEB de la **figure 52**. En effet, à la puissance laser utilisée lors de notre étude (62%), aucun changement morphologique n'a été observé. Actuellement, il est envisagé de regarder l'influence du dopage des CNWs sur les performances en LDI-MS. Cependant, l'équipe de Robert Bogdanowicz a montré très récemment que l'augmentation de la concentration de bore lors de la croissance avait comme conséquence l'obtention de murs plus petits (<500 nm) et plus denses. De plus, l'épaisseur des films varie et le temps de croissance doit alors être ajusté.<sup>144</sup> Le dopage *in situ* conduisant à des cinétiques de croissance des CNWs différentes et donc à des morphologies différentes, nous envisageons d'introduire des impuretés (atomes de bore) par implantation ionique afin de ne varier que le niveau de dopage.

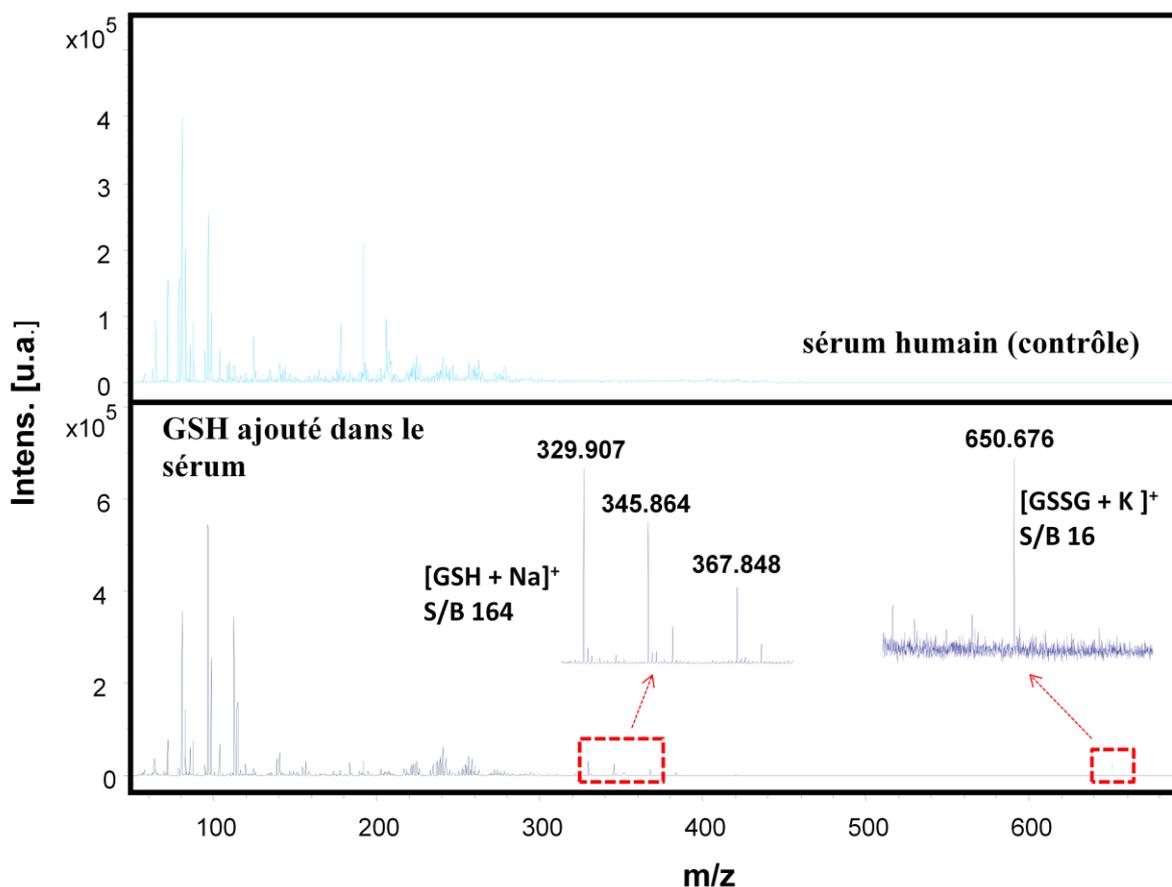


**Figure 52:** Images MEB de CNWs après plusieurs tirs laser à différentes puissances (haut) ainsi que l'énergie interne des CNWs (bas, gauche) et des différents taux de survie (SY) obtenus pour différents ions thermomètres préformés (bas, droite) en fonction de la puissance laser.

#### 4.5.2. MoS<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/SiNWs

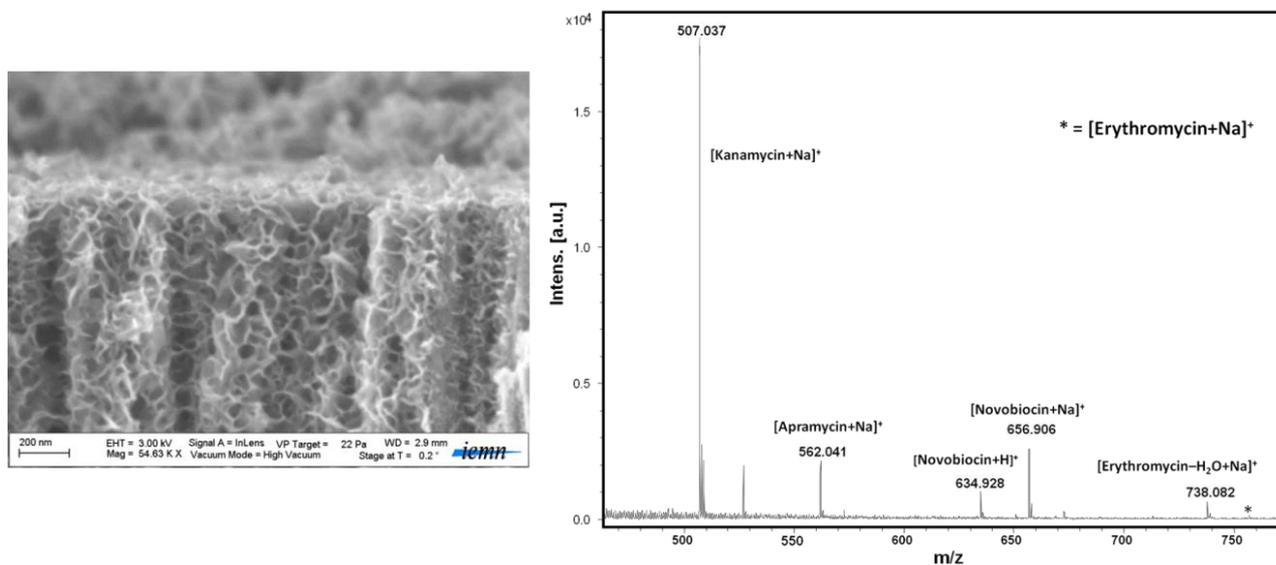
Les feuillets de MoS<sub>2</sub> ont été utilisés très récemment comme nouveau matériau dans le cadre de la détection de petits composés par SALDI-MS. Dans une étude publiée en 2016, les feuillets étaient combinés à des particules d'Ag afin d'obtenir un effet synergique pour une nette amélioration des performances de détection de petits composés en mode négatif. Dans ce cas, l'efficacité de ce matériau composite est attribuée à l'augmentation de la rugosité de surface, une plus grande aire spécifique de surface, une meilleure dispersion dans les solvants aqueux et une meilleure absorption dans les UVs.<sup>145</sup> Un autre exemple, publié en 2017, a montré l'influence de l'épaisseur du dépôt de feuillets de MoS<sub>2</sub> sur les performances en LDI-MS. Dans cette étude, les feuillets ont été déposés par la méthode LBL (layer by layer) et les meilleurs résultats ont été obtenus pour une surface présentant 3 couches de feuillets de MoS<sub>2</sub>.<sup>146</sup> Dans le même temps, nous avons testé une nouvelle interface composée de nano-feuillets de disulfure de molybdène (MoS<sub>2</sub>) enroulés autour de nanofils Si recouverts de TiO<sub>2</sub> (voir *Partie 2 - 2.2.3.1 Nanofils de silicium pour la catalyse*).<sup>65</sup> Ces surfaces ont été utilisées pour la détection de nombreux types de petits composés : sucres,

peptides, acides aminés, catécholamine avec une bonne sensibilité (**Figure 53**) (thèse A. Hamdi).<sup>147</sup> Nous avons pu notamment quantifier le glucose et le GSH dans le sérum humain avec une bonne précision de mesure.



**Figure 53** : Spectres de masse réalisés à partir de sérum humain pour la détection de GSH.<sup>147</sup>

Cette nouvelle interface a également été utilisée pour la détection d'antibiotiques. En effet, l'apparition de l'antibiorésistance est devenu une préoccupation majeure en termes de santé humaine et animale, car il réduit les possibilités de traitement en cas d'infection. Certaines familles d'antibiotiques ne sont plus efficaces contre certaines espèces bactériennes. Des contrôles sont alors effectués par les services de la Direction générale de l'alimentation pour détecter les non-conformités, c'est-à-dire les produits dans lesquels la présence de résidus médicamenteux dépasse la limite maximale autorisée. Si la concentration détectée est non-conforme (supérieure à celle qui est autorisée), des mesures sont engagées afin de protéger la santé des consommateurs : selon les cas, interdiction de mise sur le marché, retrait des produits, etc. Plus de 20 000 prélèvements sont réalisés chaque année pour vérifier la présence de résidus de médicaments vétérinaires (dont d'antibiotiques) dans les animaux et les denrées d'origine animale. Il est donc nécessaire de développer des méthodes de détection performantes afin de déceler leur présence. La méthode SALDI-MS est tout à fait adaptée pour détecter la présence de ces antibiotiques qui sont pour la plupart de petits composés (**Figure 54**).<sup>147</sup>



**Figure 54:** Cliché MEB de nanofils de Si recouverts de feuillets de MoS<sub>2</sub> et un spectre de masse d'une solution de milieu de culture contenant différents antibiotiques.<sup>147</sup>

Actuellement, un projet de recherche en lien avec Ruben Hartkoorn de l'INSERM est en cours. Ce projet consiste à produire des composés naturels (antibiotiques) suite à l'induction génétique chez des actinobactéries. Le principal défi est de pouvoir identifier les composés produits dans un milieu très complexe comme un bouillon de culture. Dans ce cadre, la méthode SALDI est tout à fait indiquée pour cette identification en milieu complexe.

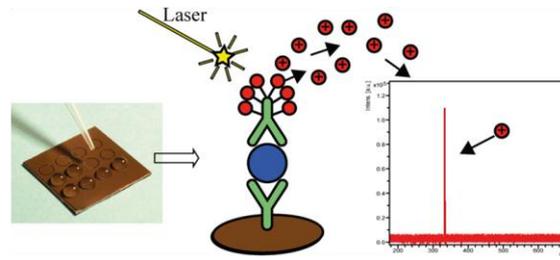
#### 4.6. Autres matériaux nanostructurés pour la LDI-MS

D'autres matériaux nanostructurés ont également été testés précédemment. Parmi eux, les nanotubes de TiO<sub>2</sub> et les nanofils de diamant.<sup>27,148</sup> Ces derniers ont permis d'obtenir une sensibilité de détection de l'ordre de l'attomole pour la verapamil. Ils ont également été utilisés pour la détection de sucres, de corticoïdes et d'acides aminés.

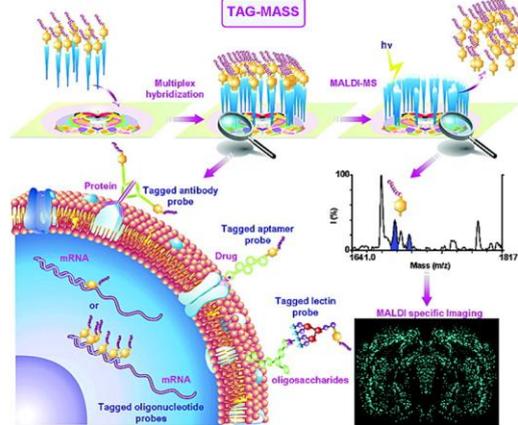
#### 4.7. Formation d'ions par photoclivage et analyse en MS

Récemment, nous avons combiné les nanofils de silicium et de diamant avec des groupements photoclivables pour la production d'ions qui ont été ensuite détectés par spectrométrie de masse. Généralement, la photochimie est utilisée en spectrométrie de masse pour permettre de relarguer un "Mass-tag-reporter" pour l'imagerie tissulaire (localisation de métabolites, protéines, lipides...) ou la détection spécifique de biomarqueurs (diagnostic).<sup>149, 150</sup> (**Figure 55**). Dans ce cas, la détection de ce "Mass-tag-reporter" sur le spectre de masse indique la présence de la molécule d'intérêt au sein de l'échantillon.

Immuno-microarray sur PSI  
Détection of PSA – 3-4 ng/ml

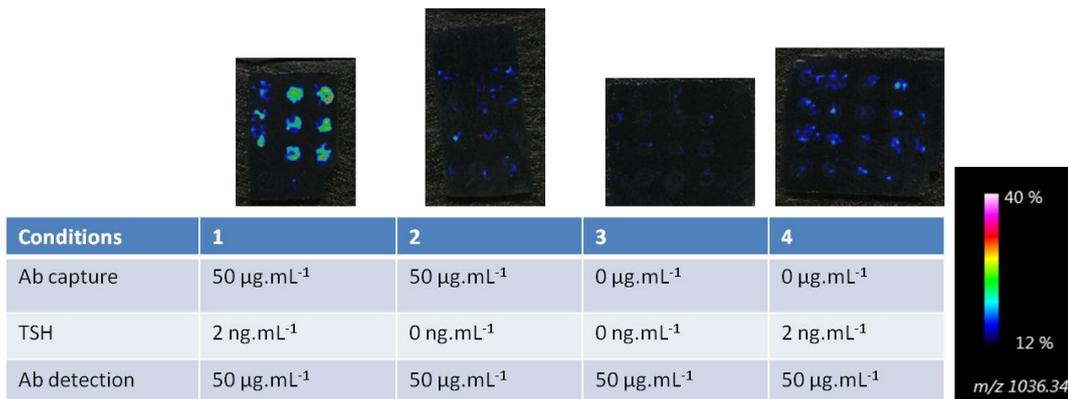


Imagerie tissulaire par MS  
Mass-tag reporting

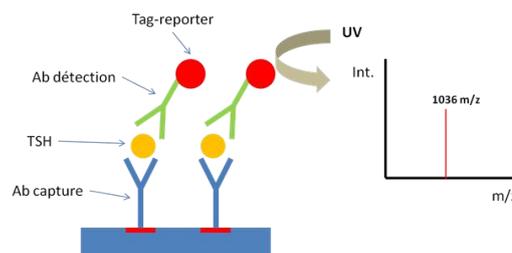


**Figure 55:** Détection de PSA (marqueur du cancer de la prostate) par spectrométrie de masse par SALDI-MS utilisant un groupement photoclivable (303 m/z). Imagerie tissulaire par spectrométrie de masse (MALDI-MS) utilisant un Mass-tag reported photoclivable.<sup>149,150</sup>

Avec la société IMABIOTECH (J. P. Ebran) nous avons commencé à travailler sur le développement d'une puce pour l'immunodétection et l'imagerie tissulaire basée sur une lecture en MS, utilisant un tag-reporter mais sans utilisation de matrice. Dans ce cas, l'anticorps a été soit chimisorbé ou physisorbé sur des nanofils de silicium. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à la détection de l'hormone thyroïdienne (TSH). En effet, le dosage sanguin de la TSH est particulièrement important car il permet de vérifier la quantité d'hormones produites et donc de connaître le fonctionnement de la thyroïde. Ce dosage sanguin de thyroïdienne peut être prescrit pour le dépistage d'hyperthyroïdies et d'hypothyroïdies.



Conditions expérimentales :  
Physisorption de l'Ab capture  
Saturation BSA  
Irradiation UV hors spectro  
Tag-reporter : 1036 m/z

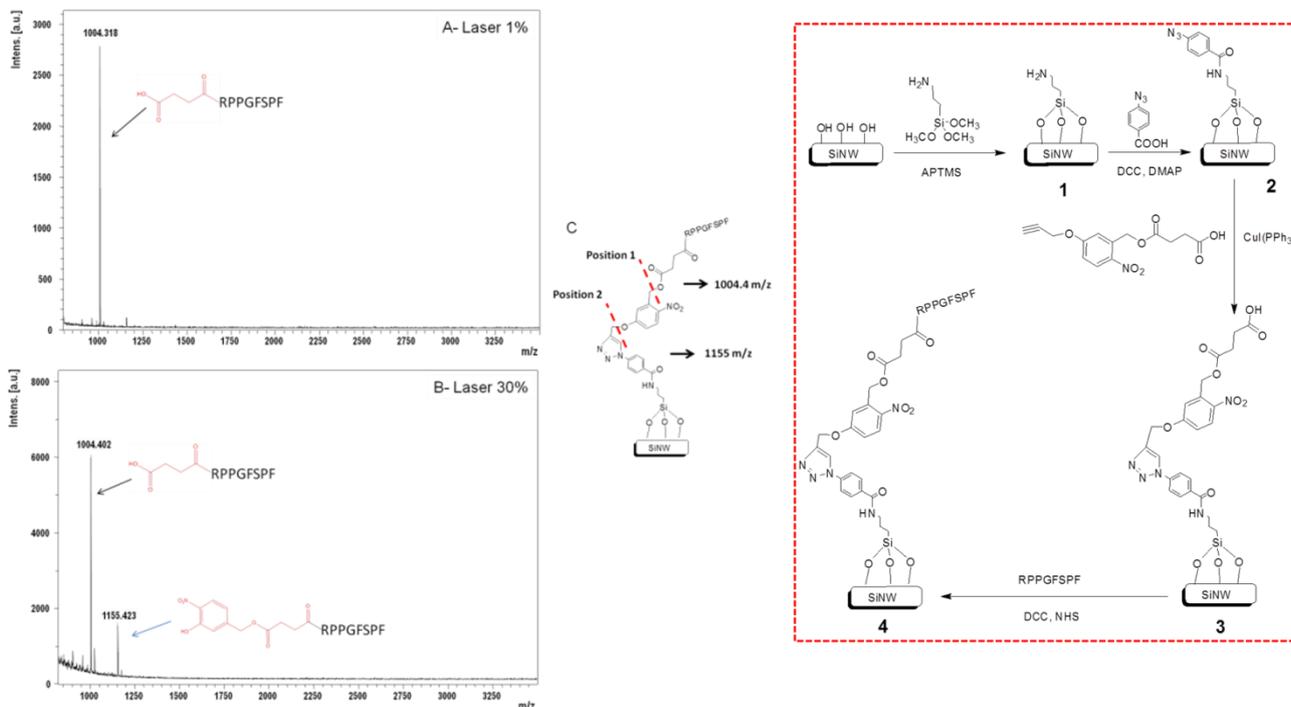


**Figure 56:** Anticorps anti-TSH physisorbés sur des nanofils de Si pour la capture et la détection de TSH par spectrométrie de masse en utilisant un "tag-reporter" (1036.34 m/z). Collaboration avec la société ImaBiotech (Lille-Parc Eurasanté).

Les résultats étaient prometteurs et l'analyse en multiplex (plusieurs tag-reporter de différentes masses) était en cours d'évaluation aussi bien pour l'immunodétection (détection de plusieurs antigènes à partir d'un même échantillon) que pour l'imagerie tissulaire (**Figure 56**). Malheureusement, J. P. Ebran a quitté la société et le projet s'est donc arrêté.

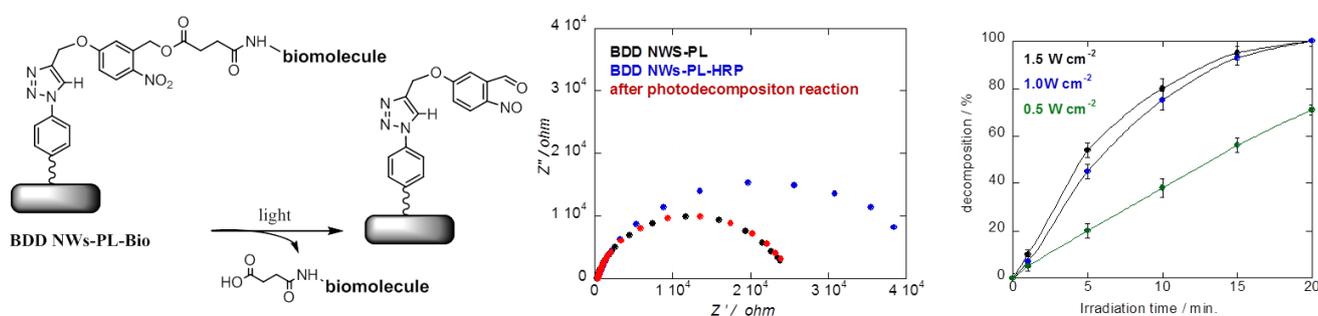
Une autre approche d'utilisation de ce mécanisme de photoclivage pour générer des ions consiste à détecter directement la molécule d'intérêt par MS. Un des premiers exemples a été l'utilisation de molécules photoclivables appliquées directement au contrôle de la synthèse peptidique effectuée sur phase solide (résine) par MS.<sup>151</sup> Dans ce cas, le peptide synthétisé est lié à la résine par un bras espaceur contenant le groupe photoclivable. Il suffit alors d'irradier sous UV pour relarguer le peptide et le détecter par MS. Un second exemple décrit par Meng et al. présentait l'utilisation de la réaction de rétro Diels-Alder (rDA) pour le photorelavage de composé d'intérêt sous irradiation UV d'une surface de silicium poreux.<sup>152</sup> Ces études ont permis de mesurer à la fois les différences d'activités enzymatiques entre 2 lipases et l'identification du site actif de la glutathione transférase (GST).

Ces interfaces ont l'avantage de permettre la production d'ions grâce à un mécanisme simple de photoclivage sans ajout de matrice organique. Nous avons montré récemment la faisabilité de ce concept. Pour ce faire, un photolinker de type nitrobenzyle (**Figure 57**) a été synthétisé. Celui-ci a été ensuite immobilisé sur les nanofils de silicium *via* la chimie "click" en formant un cycle triazole. L'autre extrémité portant un groupe acide carboxylique a servi au greffage des biomolécules par la formation d'une liaison amide (**Figure 57**).<sup>153</sup> Ensuite, nous avons effectué l'immobilisation d'un peptide standard (Des-Arg<sup>9</sup>-Bradikynin (RPPGFSPF, 904 m/z) sur ces nanofils de silicium. La LDI-MS a été réalisée sans matrice organique produisant ainsi des ions peptidiques issus du mécanisme de photoclivage. Un pic prévisible a été observé à 1004 m/z, relatif à la coupure en position 1, qui correspond à la coupure du groupement ester o-nitrobenzyl et conduisant à la formation d'un aldehyde (côté surface) et d'un groupement carboxylique porté par le peptide (**Figure 57C**). Ensuite, grâce à la MS/MS réalisée sur l'ion parent 1004 m/z, nous avons pu confirmer le site de photodissociation et la fixation du peptide sur les nanofils de silicium par son extrémité N-terminal.<sup>153</sup>



**Figure 57:** Spectres de masses obtenus après photoclivage du peptide Des-Arg<sup>9</sup>-Bradikynin RPPGFSPF 904 Da, les sites de coupure confirmés par MS/MS et les différentes étapes de fonctionnalisation chimique et d'immobilisation du peptide modèle. Le pic à 1004 m/z correspond au peptide RPPGFSPF photoclivé en position 1 et le pic à 1155 m/z à une coupure en position 2.<sup>153</sup>

Nous avons également voulu regarder l'impact de l'irradiation sur l'intégrité de molécules relarguées. Grâce à l'EIS, nous avons étudié l'influence du temps et de la puissance nécessaire pour réaliser le photo-relargage de 2 enzymes (HRP et lysozyme) immobilisées *via* une liaison amide sur les nanofils de diamant (**Figure 58**). Nous avons réussi à montrer que les clivages complets de la HRP et du lysozyme ont été obtenus après 20 min d'irradiation ( $\lambda$ : 365nm) pour une puissance de  $1 \text{ W.cm}^{-2}$ . Cependant, ce temps d'exposition a donné lieu à une perte de l'activité enzymatique de la HRP (déterminé spectrophotométriquement). En effet, seulement 26% des molécules d'HRP relarguées ont conservé une activité enzymatique. Il est à noter que ces interfaces peuvent être réutilisées sous couvert d'un nettoyage par plasma oxygène préalable à une re-fonctionnalisation. Un compromis a été alors trouvé entre un taux de photorelavage correct et une faible perte de l'activité enzymatique ( $1 \text{ W/cm}^2$  durant 5 min.).<sup>29</sup>



**Figure 58:** Principe du photoclivage ( $\lambda=365 \text{ nm}$ ), EIS avant greffage (courbe noire), après greffage (courbe bleue) et après photoclivage (courbe rouge) et relargage de l'enzyme en fonction du temps et de la puissance de la lampe.<sup>29</sup>

### **Applications envisagées de ces surfaces :**

Dans le domaine des biopuces utilisant des surfaces à base de nanofils :

- Détermination directe de la bonne immobilisation des sondes sur la surface - Confirmation de leur présence et de leur site de liaison (site spécifique voir partie 2 - Fonctionnalisation de surface) à la surface pour une bonne orientation vis-à-vis de la cible.

- Contrôle de synthèses peptidiques ou de PNA (Peptide Nucleic Acid), les nanofils servent alors à la fois de "résine" pour la synthèse et pour la LDI-MS.

- Photorelargage de molécules d'intérêt au sein de cellule : ex. criblage de médicament. Dans ce cas les nanofils permettent l'accès au cytosol sans aucun dommage sur l'intégrité cellulaire. Le relargage est contrôlé par l'irradiation (voir partie 5, projets).

- Contrôle de la chimie/biochimie de surfaces à la demande : Contrôle de la mouillabilité, contrôle de la présence de protéines d'adhésion permettant l'adhésion cellulaire, activation/désactivation de zones spécifiques pour une future immobilisation de sondes, gradient chimique/biochimique...

### **4.8. Utilisation de surfaces périodiques pour la LDI-MS**

---

Nous avons vu que les interactions entre un laser pulsé (1 ns à 100 ns) et des matériaux nanostructurés (dimensions de 1 nm à 500 nm), entraînaient une désorption et une ionisation des biomolécules adsorbées. Le mécanisme principal étant alors le transfert d'énergie thermique des nanostructures vers les molécules suite à l'irradiation laser générant une plume (contenant les analytes et le solvant résiduel). En fonction de la vitesse de l'échauffement, l'évaporation ou la fragmentation des molécules se déroule. L'ionisation se fait alors par transfert d'électrons entre la surface et les analytes, par transfert de protons, par photoionisation ou encore la présence d'ions préformés dans l'échantillon déposé, tous pouvant se dérouler de manière concomitante.<sup>154</sup>

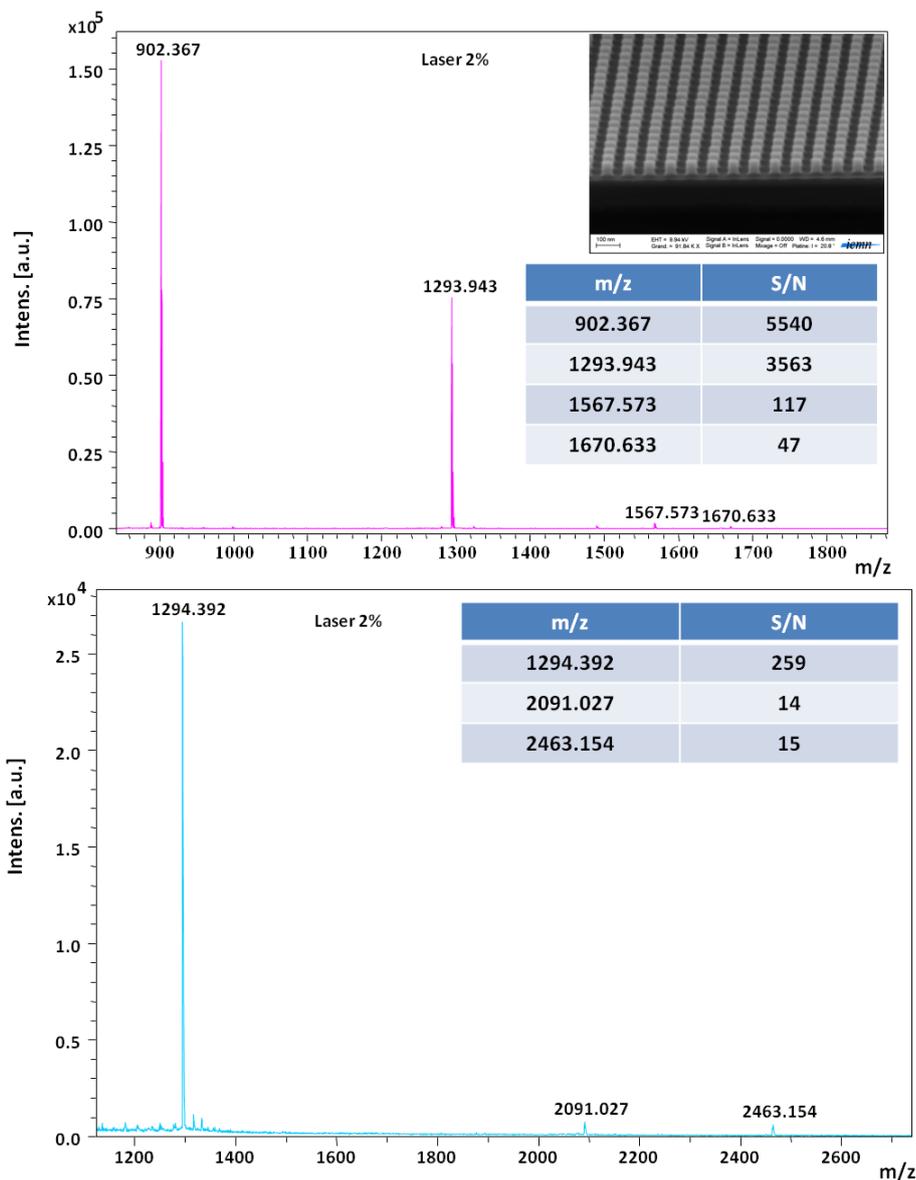
Lorsque les dimensions critiques des nanostructures sont inférieures aux longueurs caractéristiques de certains processus de transport mis en jeu comme la longueur de dissipation thermique, le libre parcours moyen phononique, la longueur d'absorption optique, la longueur de diffusion des excitons..., de nouveaux régimes de production d'ions apparaissent.<sup>131</sup> De part le contrôle précis de leur dimensions, les systèmes périodiques sont des objets idéaux pour l'étude des mécanismes régissant la LDI-MS. Ces surfaces permettent notamment d'optimiser les conditions de production des ions en jouant sur les dimensions de ces nanocavités, nanopointes ou nanopiliers.<sup>155,156,</sup>

<sup>157</sup> Le groupe de N. H. Voelcker a utilisé récemment la "nanosphere lithography" combinée à la méthode MACE pour fabriquer des surfaces structurées périodiques (450 nm de hauteur, 450 nm de diamètre (rapport d'aspect de 1) et 100 nm d'espacement). Ces surfaces ont été ensuite utilisées pour la détection de la méthadone et de son principal métabolite l'EDDP (2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine) dans l'urine, la salive et le sang en appliquant une puissance laser de 70%.<sup>67</sup> Il a également été montré l'influence négative de l'augmentation du rapport d'aspect et de la porosité des surfaces sur la détection de la méthadone.

Le groupe de Vertes s'est intéressé également au développement de surfaces nanostructurées périodiques pour le SALDI-MS. Ces surfaces appelées silicon nanopost arrays (NAPA) ont montré leur efficacité comme plateforme

nanophotonique pour la LDI-MS, permettant ainsi une analyse rapide et sensible de composés. Les principaux avantages de ces surfaces sont un bruit de fond fortement réduit, une sensibilité accrue et une large gamme dynamique d'analyse.<sup>129</sup> Ces surfaces ont été réalisées par lithographie (optique (DUV) ou électronique) suivie d'une gravure sèche (DRIE). Les dimensions optimisées sont les suivantes : un diamètre de 100–150 nm, une hauteur de 1-1.2  $\mu\text{m}$  soit un rapport d'aspect 8-10 et une périodicité de 337 nm ( $\lambda_{\text{laser spectr.}}$ : 337 nm,  $H/\lambda$  : 3-3.6). Ces systèmes possédant des dimensions comparables à la longueur d'onde du rayonnement laser ( $\lambda=337\text{-}355$  nm) sont à la base des sources photoniques de production d'ions. Le mécanisme mis en jeu ici semble être basé sur l'amplification du champ électromagnétique au voisinage des nanostructures permettant la production d'ions. Ce mécanisme est sensible à l'angle d'incidence du faisceau laser, à sa polarisation (s ou p) et aux rapports d'aspect des structures considérées.<sup>155</sup> En effet, des champs électromagnétiques intenses au voisinage de nanostructures ont permis de baisser fortement la puissance laser pour la production d'ions.<sup>158</sup> En jouant sur les dimensions (rapport d'aspect) et la puissance laser, la production d'ions ou la fragmentation peut être favorisée.<sup>159</sup> Un autre phénomène existant est l'émission d'électrons chauds ("hot carriers"). Dans ce cas, l'électron de la bande de valence a assez d'énergie pour être extrait (effet photoélectrique) et se retrouve dans la plume favorisant ainsi soit la réduction d'analytes, la production d'ions négatifs ou encore l'ionisation par impact électronique. Ces surfaces ont été utilisées pour la détection de plusieurs petits composés avec pour certains une LoD de l'ordre du zeptomole.<sup>159</sup>

De notre côté, nous avons commencé à étudier ce type de surface grâce à une collaboration avec Guy Vereecke (IMEC, Belgique). En effet, des surfaces de nanopiliers (40 nm de diamètre, 80 nm de hauteur (rapport d'aspect de 2) et un espacement de 40 nm) ont été utilisées.<sup>160</sup> Elles ont été préalablement modifiées chimiquement avec un perfluorosilane (WCA  $>130^\circ$ ). Les premiers résultats sont très prometteurs. En effet, à une puissance laser de 2%, tous les peptides du mélange 1 et 3/5 des peptides du mélange 2 ont été détectés avec des valeurs de S/N élevées (**Figure 59**).



**Figure 59:** Spectres de masses obtenus pour 2 mélanges de peptides sur des surfaces périodiques de rapport d'aspect de 2 avec une puissance laser de 2%.

Ici, les structures ayant une taille <100 nm permettent le confinement de la chaleur au sein de ces nanostructures, permettant une efficacité de la LDI accrue à de plus faibles puissances laser. Grâce à la faible puissance laser utilisée aucune fragmentation (faible bruit de fonds) ni de fusion des nanostructures n'ont été observées. Cependant, il est envisagé de regarder l'influence du rapport d'aspect sur les performances LDI-MS de ces surfaces. Il serait également intéressant d'utiliser des périodicités proches de la longueur d'onde du laser pour y regarder un effet photonique résonant pour la production d'ions.

#### 4.9. Amélioration du confinement thermique

Comme vu précédemment, le confinement thermique au sein des nanostructures est une des clés pour la production d'ions. En effet, il est nécessaire de pouvoir réaliser un échauffement rapide des nanostructures afin de

permettre la vaporisation (formation de la plume). Si l'échauffement est trop lent, le risque de fragmentation des analytes devient important.

Nous avons montré que les nanofils de diamant dopés au bore (L 600 nm, apex~10 nm) permettaient la détection par MS de plusieurs types de composés (peptide, corticoïdes, acide aminés...).<sup>27</sup> Une limite de détection de 200 zmol pour la Verapamil a été obtenue. Son grand gap (5.45 eV) ainsi que ses grandes conductivité et diffusivité thermiques ne semblaient pas forcément en faire un bon candidat comme surface SALDI. Cependant, nous avons montré que, dans ce cas, grâce à la présence de dopants et de défauts structuraux (défauts de dislocations, interstitiels...), une absorption sous la bande interdite (5.45 eV) a été possible. Cette absorption a été également renforcée par le côté antiréfléctif de la surface de nanofils de diamant. Concernant la conductivité thermique, à l'instar des nanofils de silicium, il a été montré que celle-ci diminue fortement au sein des nanostructures de diamant.<sup>161</sup> De plus, ces nanofils étaient également recouverts d'une gangue d'oxyde de silicium (5-10 nm) amplifiant ce confinement thermique.

Dans le **tableau 5**, sont représentées les performances LDI-MS de nanofils de diamant dopés (BDD NW) et non dopés (UDD NW) pour divers composés. Les résultats obtenus montrent sans ambiguïté les meilleures performances des nanofils de diamant dopés par rapport aux non-dopés.<sup>27</sup> Cette influence du dopage au bore sur les performances en LDI-MS a été également observée pour des nanoparticules de diamant.<sup>120</sup>

Analytes	Concentrations/ $\mu$ L	Main peak (m/z)	Signal/noise BDD NW	Signal/noise UDD NW	Fragments/adducts (m/z)
Des-Arg <sup>1</sup> bradykinin	50 fmol	904	1078	115	—
Angiotensin I	50 fmol	1296	431	44	—
[Glu <sup>4</sup> ]-fibrinopeptide B	50 fmol	1570.9	55	8.3	—
Neurotensin	10 fmol	1673.05	59.3	4.3	—
Verapamil	2 pmol, 200 amol and 200 zmol	455	1187, 457 and 41 <sup>a</sup>	—	303
Betaine	1 pmol	118.1	318	—	—
Histidine	1 pmol	156	453	—	-178 [M + Na] <sup>+</sup>
Cortisone	1 pmol	361	20	—	—

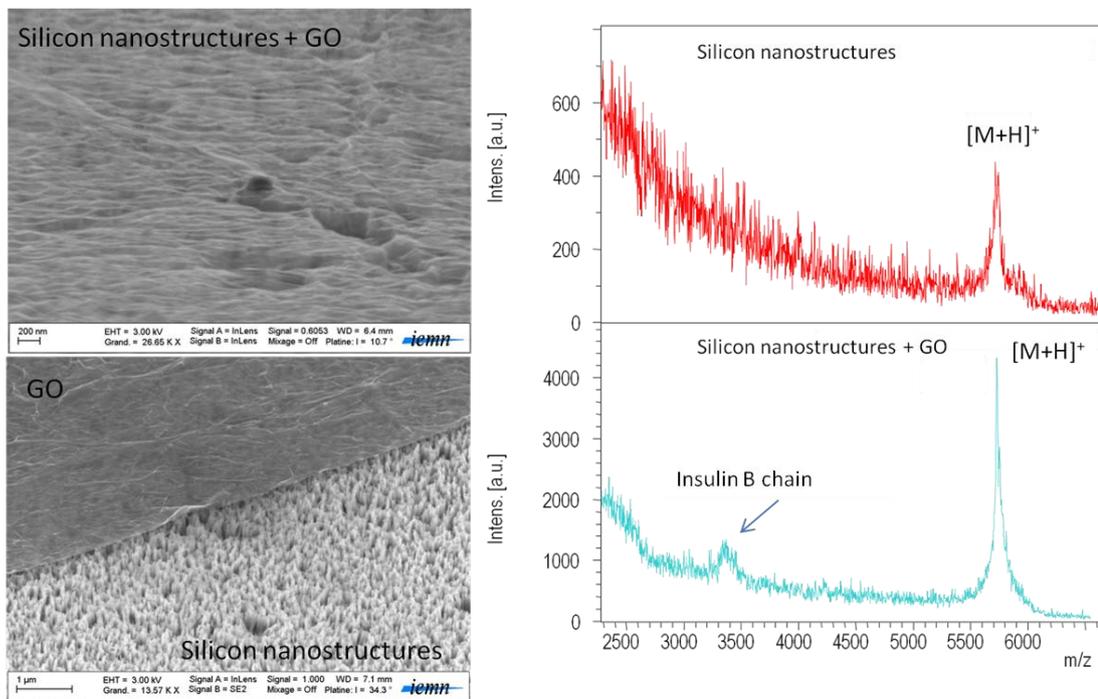
<sup>a</sup> 2 pmol, 200 amol and 200 zmol, respectively.

**Table 5 :** Résultats obtenus en LDI-MS pour des nanofils de diamant dopés (BDD) ou non (UDD) au bore.<sup>27</sup>

## 4.9.1. Nanostructuration de films minces (2D)

### 4.9.1.1. Graphène et dérivés

Le premier exemple a été l'utilisation de feuillets de graphène oxydé (GO) suspendus sur un réseau de nanostructures de silicium afin de confiner la chaleur. Les premiers résultats ont été prometteurs puisqu'une réelle amplification du signal MS pour la détection de l'insuline a été démontrée (**Figure 60**). Cependant, la fabrication d'une telle interface avait un taux de reproductibilité assez faible et d'autres voies sont actuellement explorées.



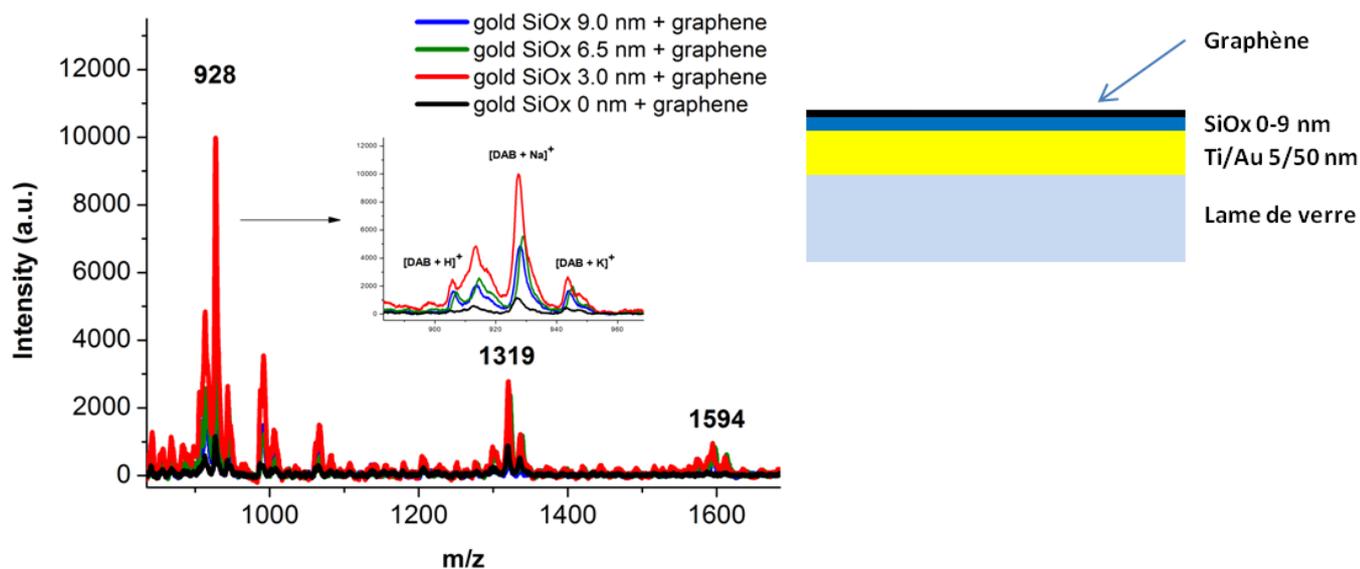
SEM images of GO on Silicon nanostructures

LDI-MS of insulin on Silicon nanostructures (A) or on silicon nanostructures covered by GO

**Figure 60:** Feuilles de graphène oxydé (GO) suspendus sur des nanofils de silicium (image MEB) et détection de l'Insuline en MS sur une surface de nanofils recouverte ou non de GO.

Dans le cadre de la thèse de M<sup>lle</sup> Hosu, dont le sujet consiste à développer une surface duale permettant de détecter la présence de toxine biologique (Ricine, Abrine) à la fois par la technique SPR et par SALDI-MS. Ici, les deux analyses seront faites sur une seule et même surface, c'est à dire une lame d'or recouverte de feuillets de graphène. Le graphène est connu pour exalter le signal en SPR afin d'améliorer la limite de détection des molécules d'intérêt.<sup>162</sup> Par contre, celui-ci possède une grande conductivité thermique  $>3000 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$  et donc n'est pas forcément un bon candidat pour le SALDI-MS. Cependant, en isolant le graphène du substrat d'or, nous avons mis en évidence l'influence de l'épaisseur de SiOx sur les performances en LDI-MS. Des épaisseurs de 3-6 nm de SiOx ont montré les meilleurs résultats (**Figure 61**). L'épaisseur d'oxyde de silicium doit être cependant compatible avec un bon couplage plasmonique et la stabilité du graphène sur l'oxyde de Si doit être renforcée par l'introduction d'un groupement aromatique (Benzyl) par silanisation de manière à favoriser les interactions  $\pi$ - $\pi$ . Cette application sera un peu plus détaillée dans la partie **4.11.1**.

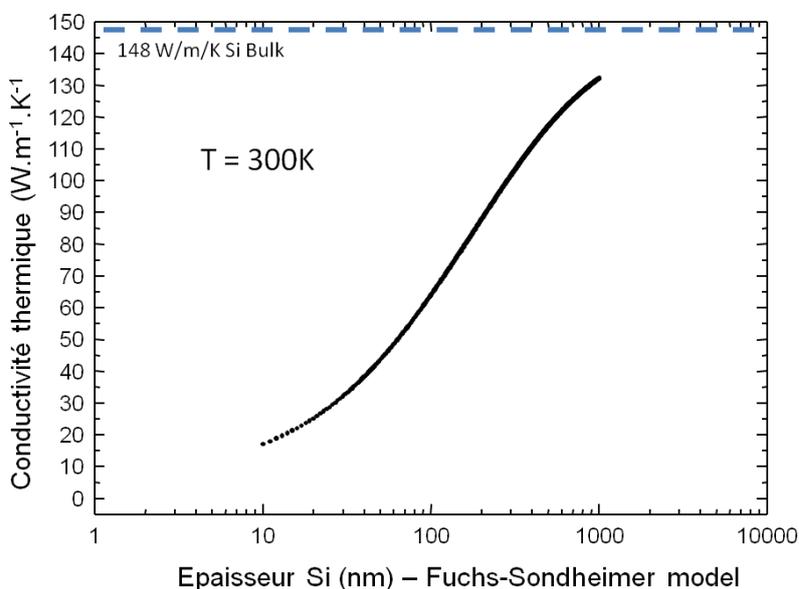
**Couplage SPR-spectrométrie de masse pour la détection de toxines biologiques.**



**Figure 61:** Effet de l'épaisseur d'oxyde de silicium sous le graphène sur la réponse en LDI-MS pour un mélange peptidique.

#### 4.9.1.2. Silicium

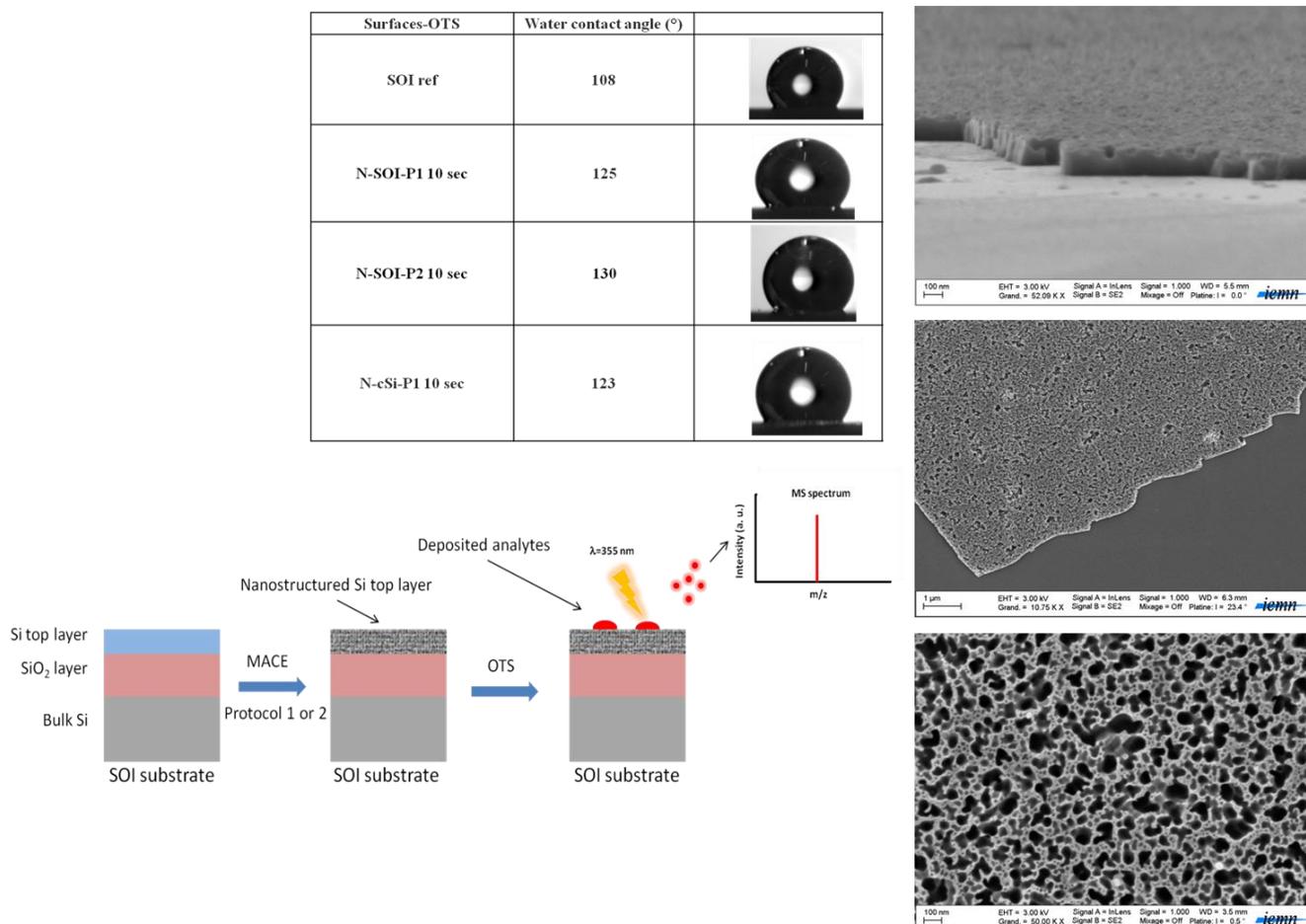
Nous avons vu que la réduction de taille (nanostructures) permettait le confinement thermique (confinement des phonons) et était un des facteurs clés pour obtenir des surfaces LDI-MS performantes. Une autre voie est l'utilisation de films minces de silicium. Dans la **figure 62** est représentée l'évolution de la conductivité thermique en fonction de l'épaisseur (ici le silicium) selon le modèle de Fuchs-Sondheimer.<sup>163</sup>



**Figure 62 :** Evolution de la conductivité thermique en fonction de l'épaisseur de Si.<sup>163</sup>

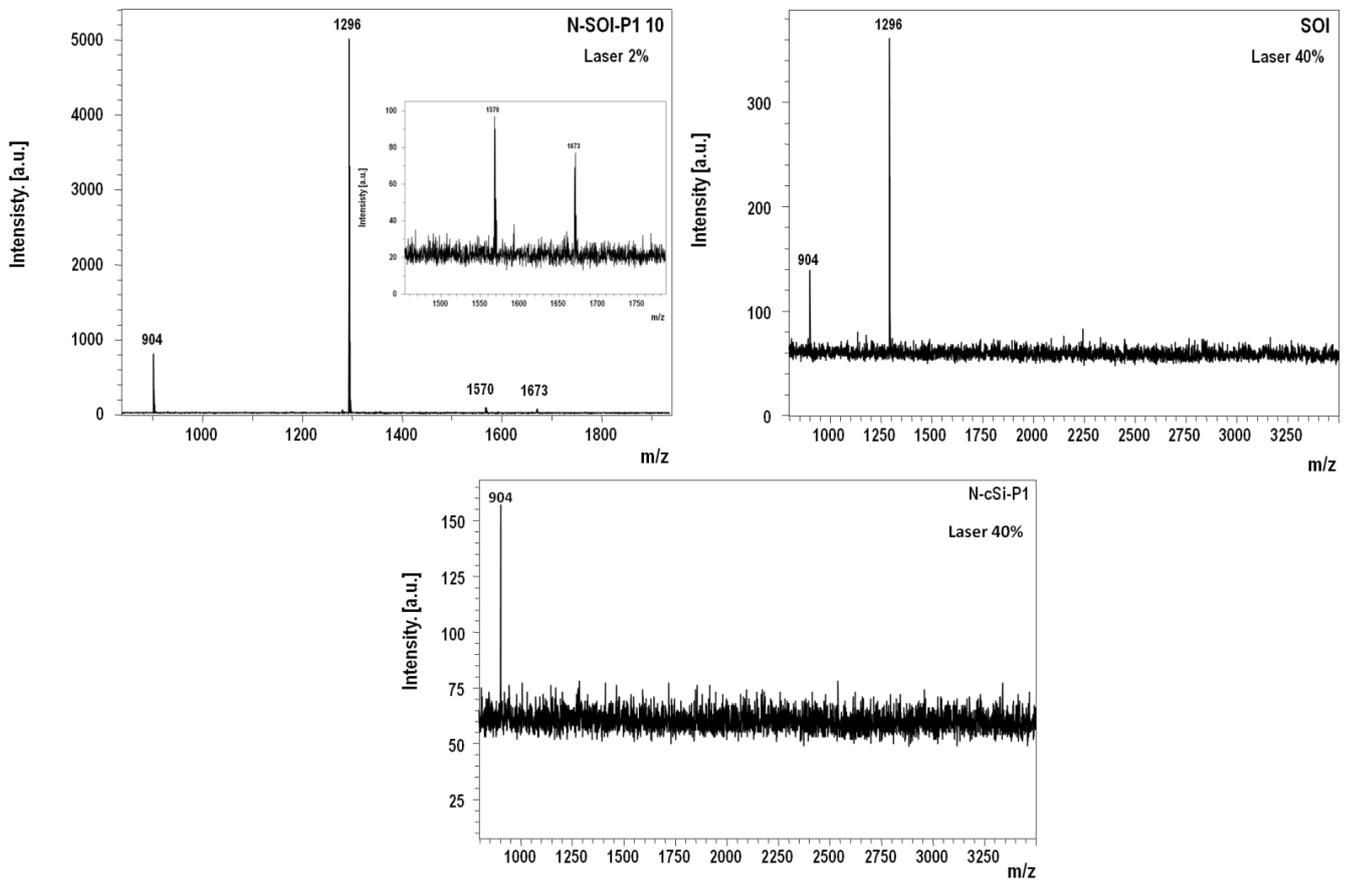
Il a été démontré qu'un substrat SOI (silicon on insulator) avec une couche de silicium cristallin de 50 ou 100 nm d'épaisseur permettait la détection d'insuline par SALDI-MS.<sup>164</sup> Le libre parcours moyen des électrons et phonons étant de  $\sim 300$  nm dans le silicium, l'absorption optique du Si, à la longueur d'onde du laser du spectromètre, étant

de 100 nm et le c-Si reposant sur un isolant (SiO<sub>x</sub>), fait que la chaleur est confinée au sein de ce c-Si après irradiation laser. Dans le but de réduire encore la conductivité thermique et d'augmenter l'aire spécifique de surface, nous avons développé des surfaces de SOI nanostructurées. Le substrat de départ est composé d'une couche de silicium cristallin (140 nm) qui repose sur un oxyde de silicium enterré (BOX : 400 nm) lui-même sur un substrat de silicium. La partie supérieure a été gravée par la méthode MACE (10" de gravure) (**Figure 63**).

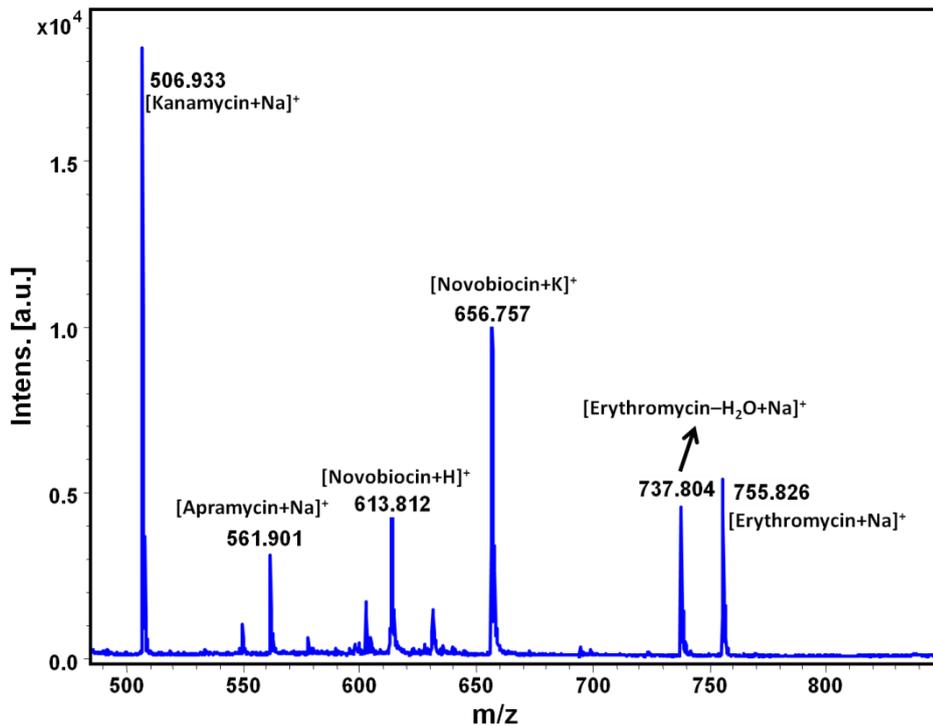


**Figure 63:** Mesures d'angles de contact (eau) pour les différentes surfaces modifiées par l'octadécyltrichlorosilane (OTS) avec SOI ref (surface SOI de départ), N-SOI-P1/P2 (surfaces SOI structurées par la méthode MACE 10" selon 2 protocoles différents) et N-cSi (silicium cristallin structuré par la méthode MACE 10"). Images MEB du SOI structuré par la méthode MACE (droite). Principe de la méthode LDI-MS.<sup>165</sup>

De très bons résultats ont été obtenus pour la détection de peptides en solution et dans le sérum humain, ainsi que pour certains antibiotiques (**Figures 64&65**)(thèse A. Hamdi). Il est à noter que de plus faibles puissances laser ont pu être utilisées, limitant ainsi les risques de fragmentation des analytes (**Figure 64**).<sup>165</sup>



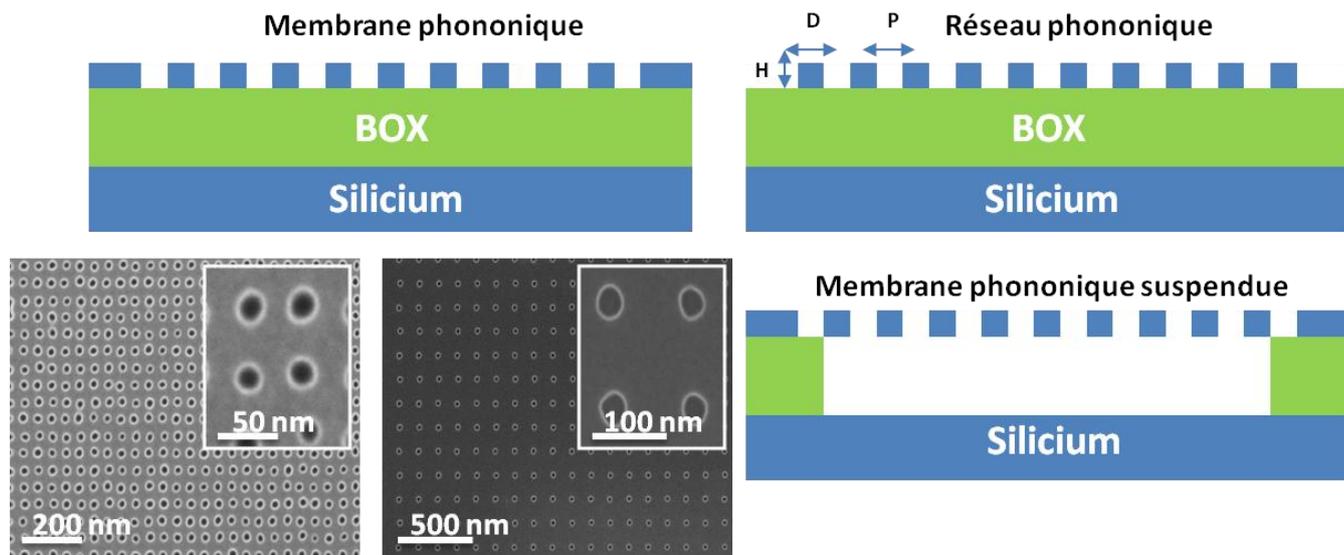
**Figure 64:** Spectres de masse obtenus pour un mélange de peptides sur surfaces SOI, SOI structuré et silicium cristallin structuré pour des puissances N-SOI-P1 : 2%, N-cSi-P1 40% et SOI : 40%.<sup>165</sup>



**Figure 65:** Détection de plusieurs antibiotiques par LDI-MS.<sup>165</sup>

Pour aller plus loin dans l'optimisation des performances en LDI-MS de telles surfaces, nous avons commencé à étudier l'influence des épaisseurs du silicium cristallin et de l'oxyde de silicium. Le SOI étant coûteux, nous avons alors opté pour l'utilisation d'un substrat de silicium sur lequel nous avons déposé, par PECVD, différentes couches de SiO<sub>x</sub> (0, 50, 100, 200, 400 nm), elles mêmes recouvertes par une couche de silicium polycrystallin (140 nm) déposée par LPCVD.

Actuellement, nous développons, en collaboration avec Jean-François Robillard du groupe Microélectronique de l'IEMN, des réseaux phononiques fabriqués à partir de substrats SOI. Dans la **figure 66** sont représentées les configurations envisagées. L'ajout d'une périodicité devrait amplifier le confinement thermique.



**Figure 66:** Représentation schématique des réseaux et membranes phononiques envisagés avec H, D et P variables. Images MEB de membranes réalisées.

A l'instar des surfaces périodiques décrites plus hauts, l'avantage de ces surfaces est qu'elles auront des dimensions bien définies et donc seront de bons modèles pour nous aider à mieux comprendre les mécanismes régissant la LDI-MS sans matrice organique. Notamment la thermométrie Raman pourra nous renseigner sur la conductivité thermique de ces différentes surfaces.

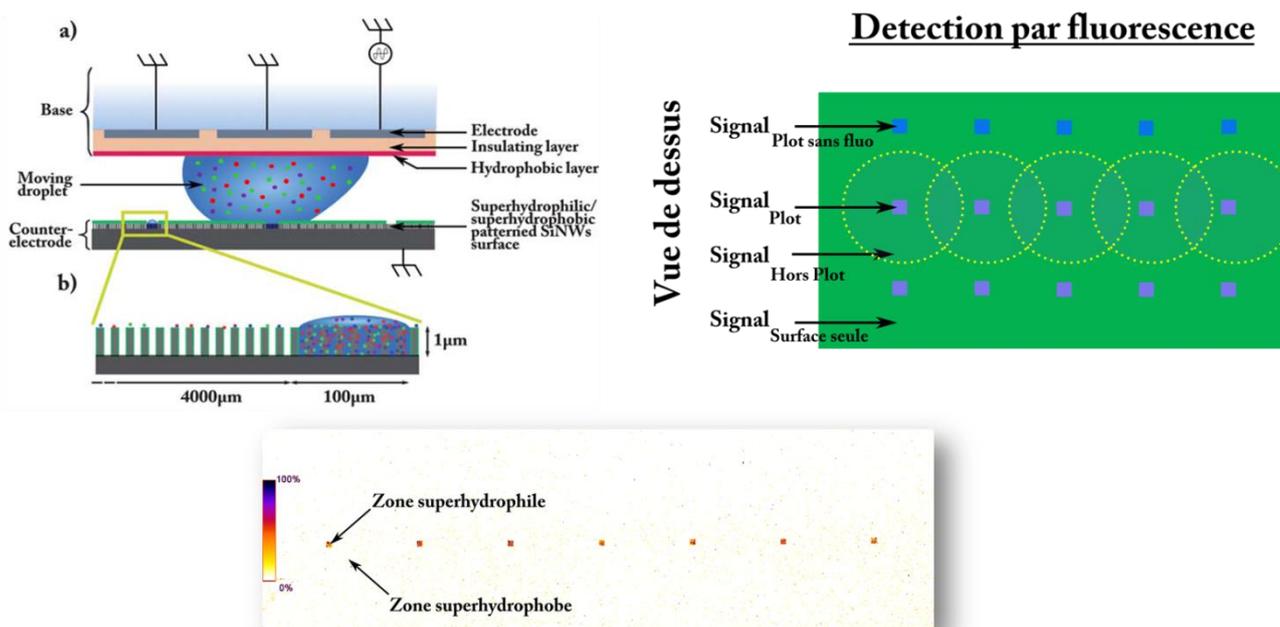
#### 4.10. Surface SALDI couplée à la microfluidique digitale (EWOD) - Intégration dans un laboratoire sur puce.

La miniaturisation des instruments d'analyse est un des enjeux primordiaux afin d'améliorer la sensibilité, la vitesse de réponse, l'analyse haut débit, les mutli-analyses, la réduction du coût et la portabilité. La microfluidique permet la manipulation de petites quantités d'échantillons, de réactifs, d'éviter d'éventuelles contaminations, de limiter l'intervention humaine (automatisation) qui peut être source d'erreur (variabilité de la dilution, du volume déposé....) et enfin d'améliorer la sécurité de l'opérateur dans le cas de manipulation d'échantillons dangereux.

Depuis quelques années, le couplage de dispositifs microfluidiques à la spectrométrie de masse a suscité un intérêt croissant. Les principales avancées ont été réalisées pour l'ESI-MS et le MALDI-MS avec un fort intérêt pour le

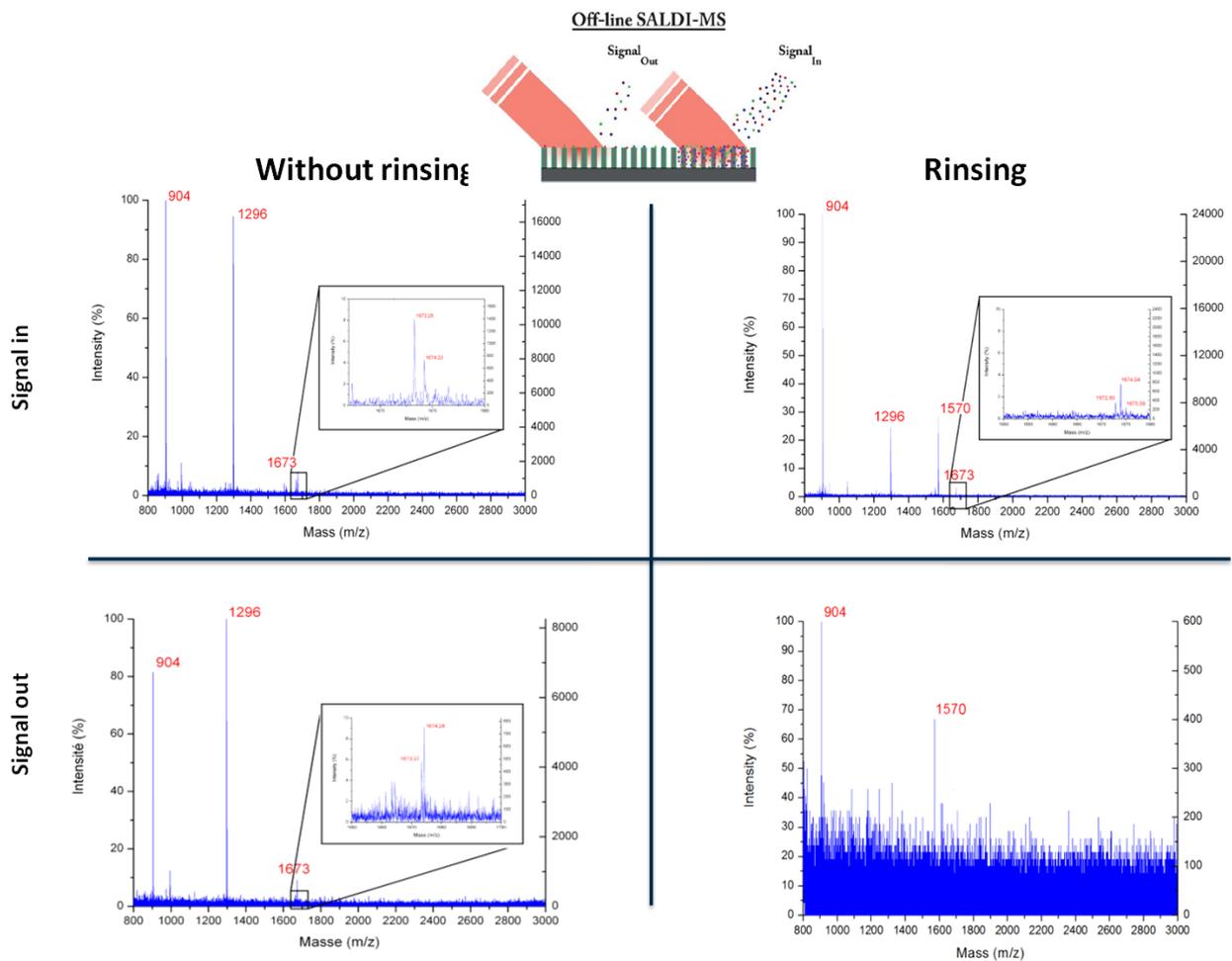
développement de l'interface système microfluidique-spectromètre de masse. L'intégration de plusieurs fonctions analytiques sur un dispositif microfluidique tel que la préparation de l'échantillon, la pré-concentration, les micro-réactions (réduction, digestion...), l'enrichissement, le dessalage et la séparation avant introduction de l'échantillon dans le spectromètre ont été rendus possibles.<sup>166</sup> La bonne compatibilité de l'ESI-MS avec les faibles débits utilisés dans les dispositifs microfluidiques a conduit à de nombreuses réalisations pour l'analyse MS "on-line" d'échantillons. Différents types de systèmes microfluidiques (microfluidique continue ou en goutte) ont ainsi pu être couplés à l'ESI-MS avec notamment des émetteurs d'échantillons soit directement intégrés au spectromètre de masse ou bien externes.<sup>167</sup> Le couplage MALDI-MS à la microfluidique reste quant à lui cantonné principalement à la distribution d'échantillon sur la plaque MALDI avec ou non une étape de préparation de l'échantillon (digestion enzymatique par ex.). Dans ce cas, les systèmes proposés utilisent soit la microfluidique classique (flux électroosmotique (EOF), différentiel de pression (PDF)...), en goutte (système biphasique eau/huile) ou digitale (EWOD, SAW) pour un couplage "off-line".<sup>168</sup> Il est à savoir que parmi tous les différents couplages de la microfluidique digitale avec la technique LDI-MS décrits dans la littérature, l'ionisation des analytes se fait principalement grâce à l'utilisation de la matrice organique. Ce n'est qu'en 2008 que la première démonstration du couplage EWOD-SALDI-MS a été faite.<sup>169</sup>

Nos surfaces nanostructurées ont donc été intégrées dans un système microfluidique digital (EWOD) développé en collaboration avec l'équipe BioMEMS de l'IEMN (thèses G. Piret et F. Lapiere). Pour ce faire des nanofils de silicium ont été modifiés chimiquement de façon à les rendre superhydrophobes (SH) (non mouillants)(voir partie 3). Afin de confiner les biomolécules dans des zones bien précises, nous avons créé, par photolithographie, des ouvertures superhydrophiles en dégradant localement la couche organique préalablement greffée. Puis, l'adressage précis de peptides modèles dans les ouvertures a été réalisé (~100 pL de volume déposé). Grâce à des mesures de fluorescence, il s'est avéré que les peptides étaient bien localisés dans ces ouvertures hydrophiles et que l'adsorption non spécifique (entre deux ouvertures) était très limitée. Cependant, une étape de rinçage était nécessaire (passage d'une gouttelette d'eau) (Figure 67).<sup>170</sup>



**Figure 67:** Dispositif EWOD intégrant une surface superhydrophobe pour le déplacement d'échantillon (contre électrode), le confinement de l'échantillon (zones hydrophiles) et la LDI-MS sans matrice de l'échantillon. Localisation des peptides fluorescents après plusieurs passages de la goutte (pointillés) sur les plots superhydrophiles suivi d'un rinçage à l'eau.<sup>170</sup>

Ensuite, une fois les peptides déposés, ils ont pu être détectés par spectrométrie de masse avec une sensibilité de l'ordre du fmol (**Figure 68**).



**Figure 68:** Spectres de masse d'un mélange peptidique obtenus en couplant des nanofils de silicium servant à la fois de surface SALDI et de contre-électrode pour l'actuation de gouttelettes d'analytes par EWOD. Signal-out = spectre obtenu hors des ouvertures hydrophiles, Signal-in = spectre de masse obtenu à l'intérieur des zones hydrophiles. Colonne de gauche sans rinçage à l'eau, colonne de droite avec passage d'une goutte d'eau.<sup>170</sup>

Ainsi, nous avons montré, pour la première fois, que des surfaces SALDI développées pouvaient être intégrées dans un dispositif de microfluidique discrète (DMF) permettant le déplacement de microgouttelettes de liquide contenant les molécules à analyser par spectrométrie de masse.

Ici, le rôle de la surface SALDI-MS/capot superhydrophobe est triple.

- Elle sert à réaliser l'étape de désorption/ionisation assistée par laser sans matrice organique.
- Elle permet le confinement de l'échantillon à tester dans les zones hydrophiles présentant ou non des ligands spécifiques (nanobodies, enzyme, particules métalliques...). Cela permet d'augmenter la sensibilité de détection. Ce

confinement permettra également d'améliorer les mesures quantitatives de biomarqueurs par spectrométrie de masse. En effet, le dépôt étant "opérateur-dépendant", il y a toujours une grande dispersion des résultats lors des mesures de quantification. Enfin, la formation d'ouvertures hydrophiles, proche de la taille du faisceau laser (~100 µm), améliorera encore la qualité des mesures.

- Elle permet enfin, un déplacement de l'échantillon et des réactifs (tampon de rinçage par ex.) plus rapide comme nous l'avons démontré récemment (**voir partie 3**). Ceci permettra d'améliorer le temps de réponse.

#### 4.10.1. Intégration dans un système microfluidique

---

L'intégration de notre capteur dans un système microfluidique a plusieurs avantages :

- Sa miniaturisation (lab-on-chip) améliorant ainsi sa portabilité et l'utilisation de faibles quantités d'échantillons et de réactifs.

- La réalisation d'opérations basiques comme le déplacement, mais également le mélange (fusion) de gouttes de liquide, la formation de gouttes filles à partir d'un réservoir de liquide, d'effectuer des rinçages (plusieurs passages sur une même zone).....

- L'analyse haut-débit d'échantillons d'intérêt biologique.

- Le format "microarray" permet d'envisager la réalisation de multi-analyses.

- La limitation de toute intervention humaine. Celle-ci est en effet intéressante à plusieurs points de vue : améliorer la sécurité de l'opérateur comme dans cas de la manipulation d'échantillons dangereux, d'éviter d'éventuelles contaminations et de limiter les erreurs humaines (dilution, volume déposé.....).

- La microfluidique en goutte limite également les phénomènes de diffusion. Ainsi la molécule d'intérêt arrive plus rapidement en contact avec la surface permettant un temps de réponse plus court.

#### 4.10.2. Quelques limitations

---

Cependant, des limitations subsistent et quelques pistes d'amélioration sont proposées:

- Le couplage au monde macroscopique (alimentation microfluidique à développer) ou comment produire des gouttes d'échantillons à partir d'un flux continu de liquide. Une des solutions est l'utilisation de la microfluidique en goutte qui permet alors la formation de nombreuses gouttes en quelques minutes. Cependant, un système biphasique (eau/huile) est souvent requis, ce qui peut engendrer des contaminations de l'échantillon. Une autre solution que nous avons commencée à envisager est de développer une interface de transition flux de liquide - goutte *via* une microgrille superhydrophobe. Les résultats, montrant la faisabilité d'un tel système ont été publiés.<sup>171</sup> Ce système pourrait être également intéressant dans le cadre d'un couplage ESI-MS-système microfluidique.

- La résilience lors du déplacement de protéines (adsorption non spécifique de protéines sur la surface) qui conduit au piégeage irréversible des gouttes de liquide. Cela nécessite alors un protocole drastique de nettoyage de la surface, non compatible avec une analyse haut-débit.

- La limitation du transport à des liquides aqueux. En effet, certains composés peuvent être difficilement miscibles à de l'eau pure. Il est alors nécessaire d'ajouter des solvants comme l'acétonitrile ou du méthanol. Ceci a pour effet de baisser la tension de surface de la goutte qui conduit à son empalement irréversible au sein du réseau

de nanostructures. Il est aussi très difficile, voire impossible, de déplacer des solutions protéiques ou des échantillons biologiques concentrés (plasma, sang, milieu de culture...). Ceci est principalement dû à un phénomène de contamination de la surface, appelé le « biofouling ». En effet, les protéines contenues dans la solution à déplacer ont tendance à s'adsorber sur la surface de téflon, engendrant une diminution de l'angle de contact de la goutte de solution sur la surface et une augmentation de l'hystérésis. Tout déplacement est ainsi empêché.

#### **Des stratégies ont été développées et testées pour lever ces verrous :**

- L'utilisation de surfaces omniphobes (OH) (non-mouillantes pour tout type de liquide) permet le déplacement de liquides à faible tension de surface (solution protéique très concentrée, solvants organiques...)(voir partie 3).

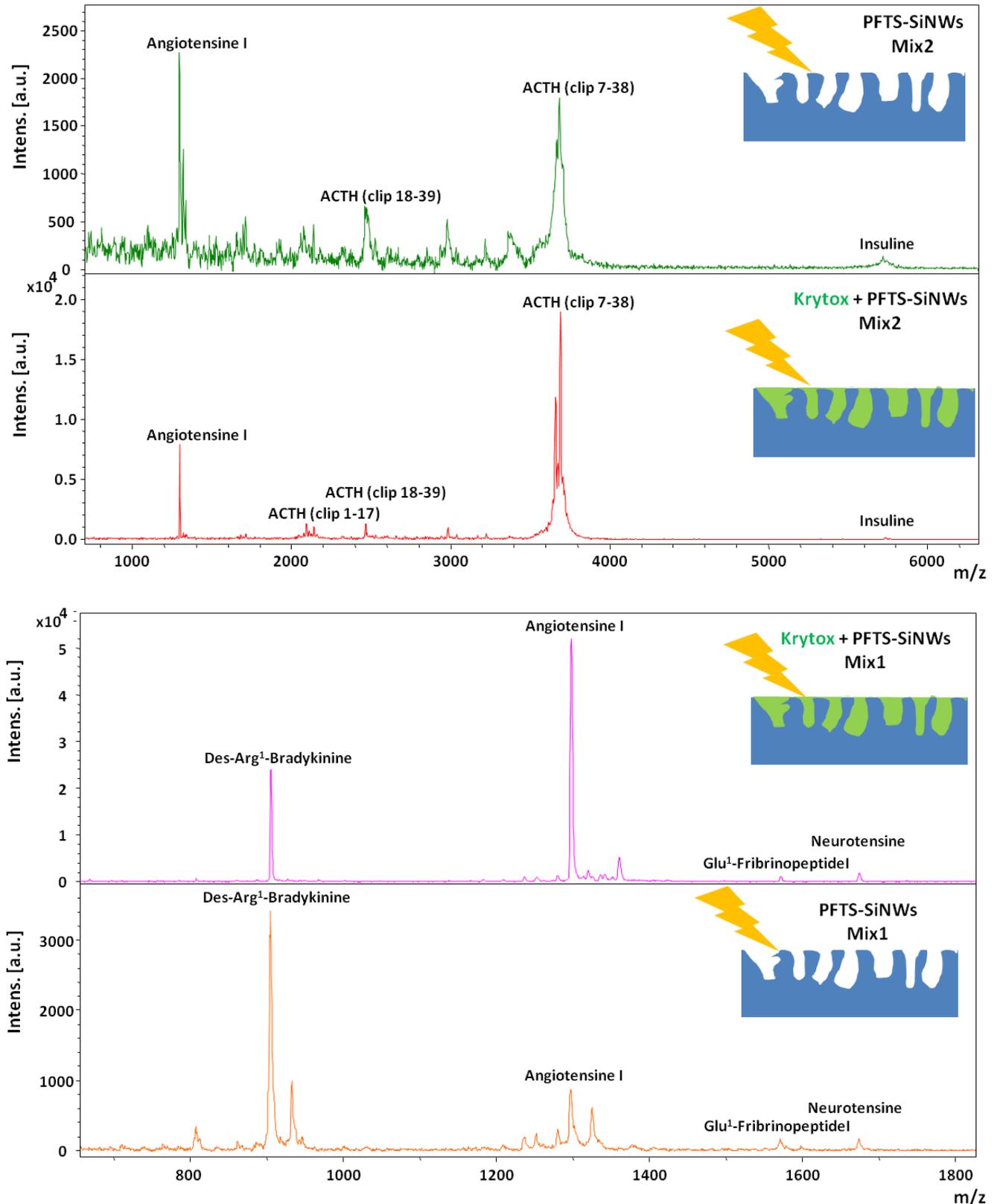
- Le problème de "biofouling" a été en partie résolu par l'ajout de surfactants (groupe de Wheeler au Canada) ou en travaillant dans un système biphasique eau-huile (Advanced liquid logic). Dans ces deux cas, la goutte de solution est, soit entourée d'huile ou d'une couche de molécules de surfactants. Le déplacement de solution protéique peut alors se faire. Cependant, la présence d'additifs peut être une source de contamination importante pour les analyses biochimiques ou biologiques post-déplacement que l'on souhaite réaliser. De plus, ces couches, entourant la goutte, empêchent ou limitent également toute interaction des protéines, contenues dans la goutte, avec des ligands immobilisés sur une surface.

Cependant, grâce à l'utilisation du graphène oxydé (GO) au sein de la goutte contenant les protéines (BSA), nous avons montré qu'il était possible de déplacer cette goutte par EWOD dans un environnement eau/air (thèse G. Perry). En effet, nous avons démontré que l'adsorption des protéines sur le GO, inhibait le « biofouling » et facilitait le déplacement de la solution protéique par EWOD. Dans ce cas, le complexe GO/protéine formé est en suspension dans la goutte. Au delà d'une concentration de BSA (>100 ng/μL), un ratio GO/protéine de 2 est nécessaire pour pouvoir déplacer la goutte. Grâce à ce GO nous avons pu déplacer une concentration de BSA d 190 ng/μL qui est 30 fois supérieur à la concentration protéique totale du plasma. Nous avons montré également, en utilisant l'enzyme HRP (Horseradish peroxidase), qu'une fois la protéine transportée, celle-ci était toujours active. De plus, le GO étant déjà utilisé comme matériau pour le SALDI-MS, celui-ci devrait pouvoir améliorer les performances LDI-MS.<sup>172</sup>

D'autres pistes sont également envisagées pour limiter l'effet du biofouling. L'ingénierie électrique peut permettre d'optimiser le signal électrique d'électromouillage. En effet, nous avons pu montrer qu'une modulation basse fréquence du signal (Modulated EWOD ou MEWOD) pouvait mettre en résonance la goutte et donc lui transférer suffisamment d'énergie pour annuler toute force d'adhésion (ou hystérésis) développée par la surface, éventuellement provoquée par l'accumulation non-spécifique de molécules.<sup>92</sup> Dans ce cas, le biofouling ne sera pas annihilé mais son influence sur le déplacement sera fortement réduite.

Finalement, nous envisageons également d'intégrer dans nos dispositifs microfluidiques des surfaces dites surfaces SLIPS (Slippery liquid-infused porous surface) (voir partie 3). Elles seront réalisées à partir de surfaces nanotexturées imprégnées d'une huile inerte fluorée, et ont l'avantage d'être omniphobes et extrêmement robustes (très grande stabilité dans le temps, auto-réparantes ("self healing")). Alors que les surfaces non mouillantes classiques reposent sur le maintien d'une couche d'air sous le liquide (difficulté de maintenir la présence de cette couche lors de la diminution de la tension de surface du liquide, lors de la défaillance physique de la structuration de

surface, lors de l'application d'une surpression à la goutte,...), ces surfaces SLIPS permettent de remplacer cette couche d'air par une interface d'huile beaucoup plus stable. A notre connaissance ce type de surface n'a jamais été intégré au sein d'un dispositif EWOD et pourrait permettre de lever les verrous présentés plus haut. Nous avons récemment montré que l'huile utilisée pour imbiber les nanostructures (Krytox GPL-103, Dupont, possédant une conductivité thermique de 0.0695-0.0883 W/m/K) était compatible avec le SALDI-MS et qu'elle permettait même d'améliorer grandement la qualité du signal obtenu (**Figure 69**).



**Figure 69:** Spectres de masse obtenus à partir de 2 mélanges peptidiques sur des surfaces de nanofils de silicium modifiés par le PFTS et imbibées ou non par l'huile Krytox (vert).

Dans ce cas, on se rapproche d'un système de type NIMS (Nanoinitiator mass spectrometry) où une surface nanostructurée (silicium poreux) est imbibée d'une molécule fluorée (de type perfluorosiloxane). Celle-ci servant alors d'initiateur à la LDI-MS. Ce concept a été introduit en 2007 par Siuzdak. En effet, à l'instar des travaux de Chen et de Breaux qui portaient sur l'utilisation de surfactants (ex. dodécylsulfate de sodium (SDS)) en LDI-MS afin d'affecter positivement l'analyse de peptides, il a utilisé des tensioactifs fluorés puis des fluoropolymères pour augmenter l'intensité du signal obtenu à partir de ses surfaces DIOS.<sup>173,174,175</sup>

Au vu des résultats, les surfaces SLIPS sembleraient compatibles avec un système Lab on chip à la fois pour le déplacement de gouttes d'échantillons en s'affranchissant du phénomène de biofouling et pour l'analyse en LDI-MS.

Actuellement, une étude sur l'influence de la morphologie de surface en présence d'huile sur les performances LDI-MS est en cours. Il a été montré très récemment que dans le cadre des surfaces NIMS, la porosité avait une forte influence sur la taille des molécules pouvant être détectées par spectrométrie de masse. Les faibles porosités permettant la détection de plus grosses molécules.<sup>176</sup> L'imagerie tissulaire pour la détection de métabolites ou de peptides par MS pourrait être une des applications potentielles de ces surfaces.

#### 4.11. Surfaces duales pour détections couplées

---

Le rôle d'une surface duale est de pouvoir détecter un composé ou une interaction biochimique en utilisant deux méthodes de caractérisation à partir d'une même interface et d'une même expérience.

Nous sommes en train de développer trois types de surfaces duales :

- La première consiste à développer une surface duale permettant de détecter la présence de toxine biologique (Ricine, Abrine) à la fois par la technique SPR et par SALDI-MS sur une seule et même surface, c'est à dire une lame d'or recouverte de feuillets de graphène.

- La deuxième va permettre de réaliser une détection électrochimique couplée à la SALDI-MS. Nous travaillons sur la détection du glucose (sans enzyme) en utilisant les CNWs servant à la fois d'électrodes pour la détection en électrochimie et de surface SALDI-MS.

- La troisième est le couplage SERS - Spectrométrie de masse pour la détection de petits composés organiques et peptides.

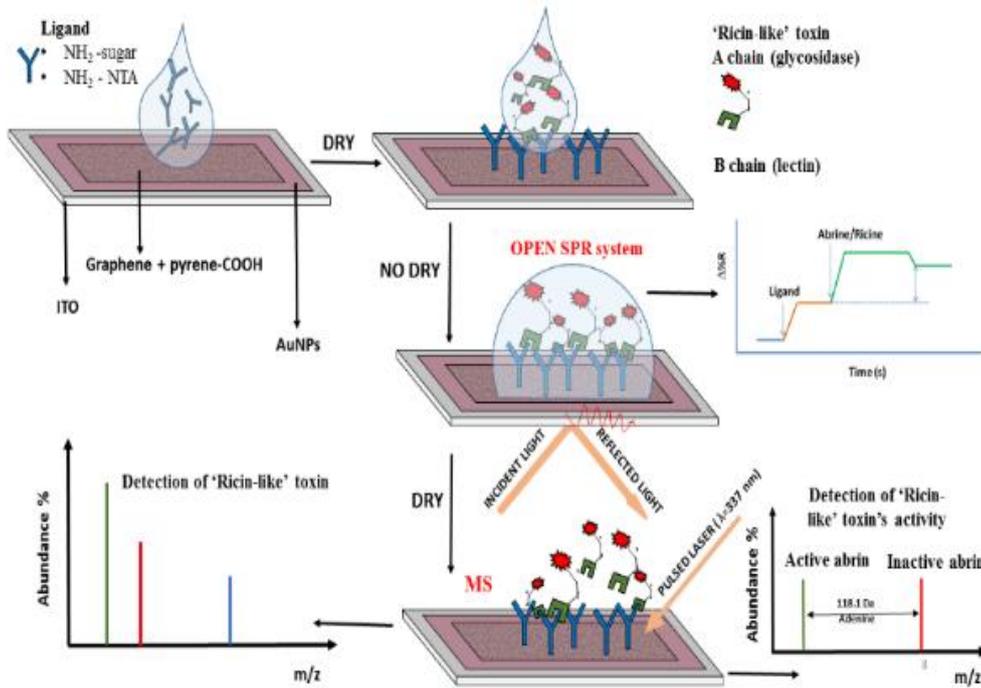
##### 4.11.1. Couplage SPR-spectrométrie de masse pour la détection de toxines biologiques

---

*Ce projet est réalisé dans le cadre de la thèse de Mlle Ioana Hosu financée pour moitié par la DGA et l'université de Lille1 que je co-encadre. La soutenance est prévue en 2018.*

L'abrine et la ricine sont des glycoprotéines de 64 kDa parmi les plus toxiques retrouvées dans le monde végétal. Ces toxines sont présentes dans les graines de pois rouge (*Abrus precatorius*) et de ricin (*Ricinus communis*, *Ricinus sanguineus*). Plus largement répandues, les graines de ricin font l'objet de cultures massives comme plantes d'ornement ou pour l'extraction de l'huile utilisée pour ses propriétés purgatives, lubrifiantes ou d'excipient de nombreuses spécialités pharmaceutiques. A la différence de la ricine purifiée, l'huile de ricin est dépourvue de

toxicité patente. Bien que la toxicité de l'abrine et de la ricine soit beaucoup plus limitée que celle de la toxine botulique, leur accessibilité et leur facilité d'extraction font de ces deux protéines des agents bioterroristes potentiels pour lesquels il n'existe pas aujourd'hui aucune contre-mesure vraiment efficace. Elles sont classées comme agents bioterroristes potentiels de catégorie B par le « Center for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta USA) et inscrites sur la liste des substances vénéneuses (Journal Officiel du 26 septembre 2001, p15 201). Ces protéines sont toxiques pour l'homme et l'animal par toutes les voies d'entrée (respiratoire, cutanée, digestive, oculaire). Par voie orale : 1 mg/kg de ricine serait la dose létale minimale chez l'adulte ; cependant certains auteurs estiment qu'une dose totale de 30 mg chez l'adulte serait potentiellement mortelle. Par voie parentérale : la dose mortelle de ricine serait de l'ordre de 1 à 3 µg/kg chez l'adulte. Une observation mortelle a été rapportée après injection sous-cutanée d'une dose < 3 µg/kg (Source INVS). Au niveau structural, l'Abrine et la Ricine se composent chacune de 2 chaînes peptidiques A et B reliées par un pont disulfure. Ces deux glycoprotéines ont une forte homologie de séquence et font partie de la famille des *ribosome-inactivating proteins* (RIP). La chaîne A (~32 kDa) est responsable de leurs propriétés toxiques, par le biais d'une activité enzymatique (dépurination) de type N-glycosidase ciblant la sous unité 28S de l'ARN ribosomal. La chaîne B, quant à elle, agit comme une lectine en se liant à un résidu galactose présent sur la surface cellulaire, favorisant son entrée dans la cellule par endocytose. Par l'action synergique des chaînes A et B, l'Abrine et la Ricine sont alors capables d'inhiber la synthèse protéique provoquant la mort cellulaire. Fautes de contre-mesures efficaces il est important de pouvoir détecter la présence de ces toxines rapidement, d'où l'intérêt porté au développement de méthodes analytiques performantes. Le but de ce projet est donc de développer un capteur optique de type « label-free » SPR (résonance plasmonique de surface) couplé à une identification par spectrométrie de masse ultrasensible à base de graphène pour une détection en temps réel de la présence de toxine (**Figure 70**). Ici, le graphène permettra d'une part d'exalter le signal en SPR et d'autre part, de réaliser la LDI-MS sans ajout de matrice organique. Le ligand utilisé sera un sucre (galactose ou un dérivé galactosyl) dirigé contre la chaîne B de la toxine. Le gros défi de ce projet est donc de développer une interface capable à la fois de réaliser la SPR et la désorption/ionisation assistée par laser (LDI-MS) sans matrice organique pour une analyse fine de la présence de toxine biologique. En effet, alors que la détection de protéines par SPR est assez bien maîtrisée, leur détection par LDI-MS sans matrice est un réel défi.

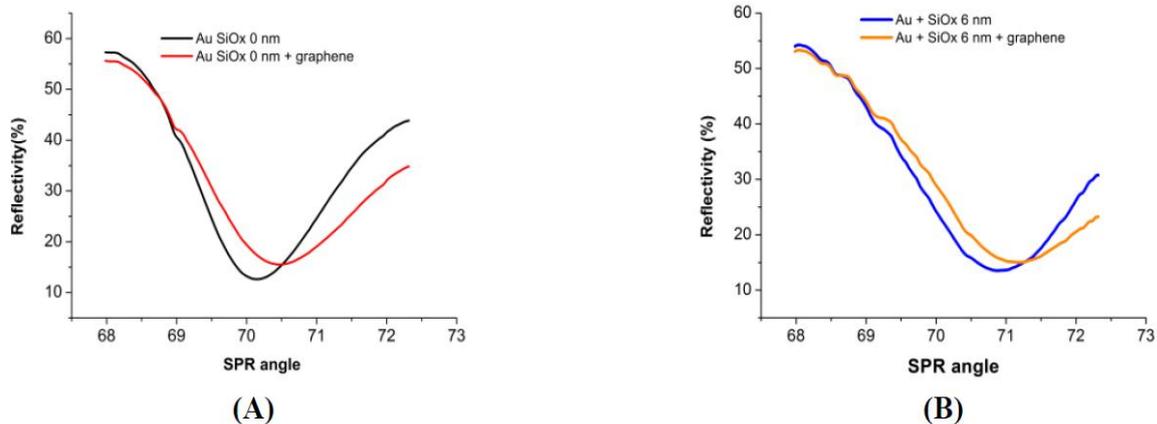


**Figure 70 :** Schéma de principe du couplage SPR-MS pour la détection de la Ricine/Abrine.

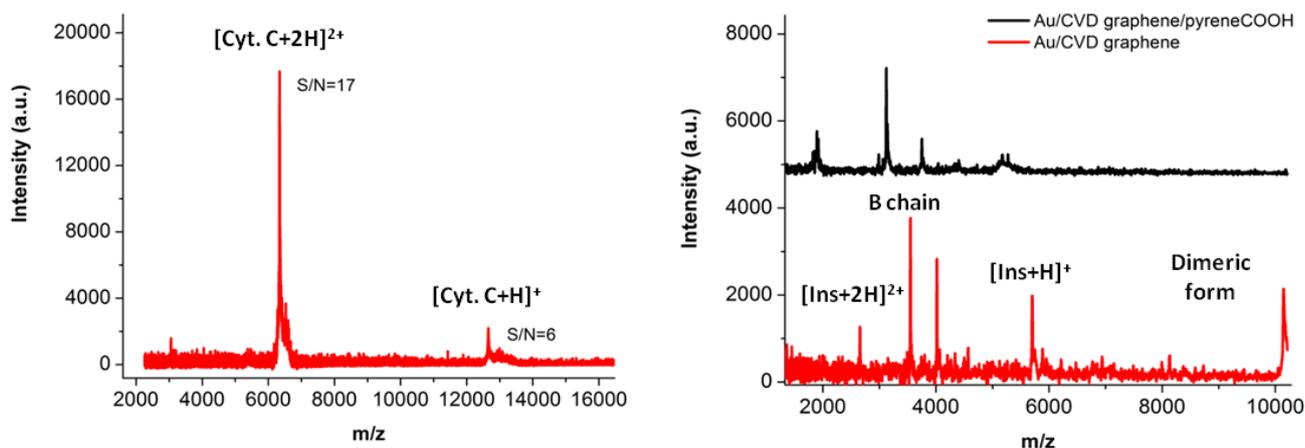
Dans un premier, il a fallu développer les interfaces. Pour ce faire, plusieurs méthodes de dépôts de graphène et plusieurs types de graphène ont été testées, comme le transfert de graphène CVD déposé sur la surface d'or par voie humide, des feuillets de rGO et de GO déposés par : drop-casting, dépôt électrophorétique (EPD), layer by layer (LBL), méthode de la bulle.... Ici nous présenterons seulement les résultats préliminaires obtenus pour le graphène CVD.

Dans la **figure 71** sont représentées les courbes de réflectivité (signal SPR) obtenus sur des surface verre/Au recouverte ou non de SiOx sur lesquelles du graphène CVD a été déposé par transfert. Comme nous l'avons vu précédemment, dans ce cas, le SiOx sert ici à mieux confiner la chaleur au sein du feuillet de G. On peut observer que le feuillet de graphène sur une surface de verre/Au ou verre/Au/SiOx provoque un décalage de l'angle d'incidence de 0.5° et une augmentation de la réflectivité.

Dans la **figure 72** sont représentés des spectres MS pour le cytochrome C et l'insuline sur une surface verre/Au/graphène. De manière assez surprenante, le graphène déposé directement sur l'or a permis la détection d'une protéine modèle sans couche de confinement thermique. Un autre mécanisme, que la désorption thermique, est alors peut-être impliqué ici dans le processus LDI. Ces résultats sont très prometteurs pour la suite du projet. De plus, la détection était d'autant meilleure que l'analyse était faite juste après dépôt (<3h) ou après réhydratation du dépôt (ajout d'une goutte d'eau, <10 min). Ceci nous permet de mettre en évidence l'importance du solvant résiduel sur ces surfaces lors de l'analyse LDI-MS. Il est à noter que l'introduction d'un groupement carboxylique (pyrène-COOH) n'a pas permis d'améliorer les performances.

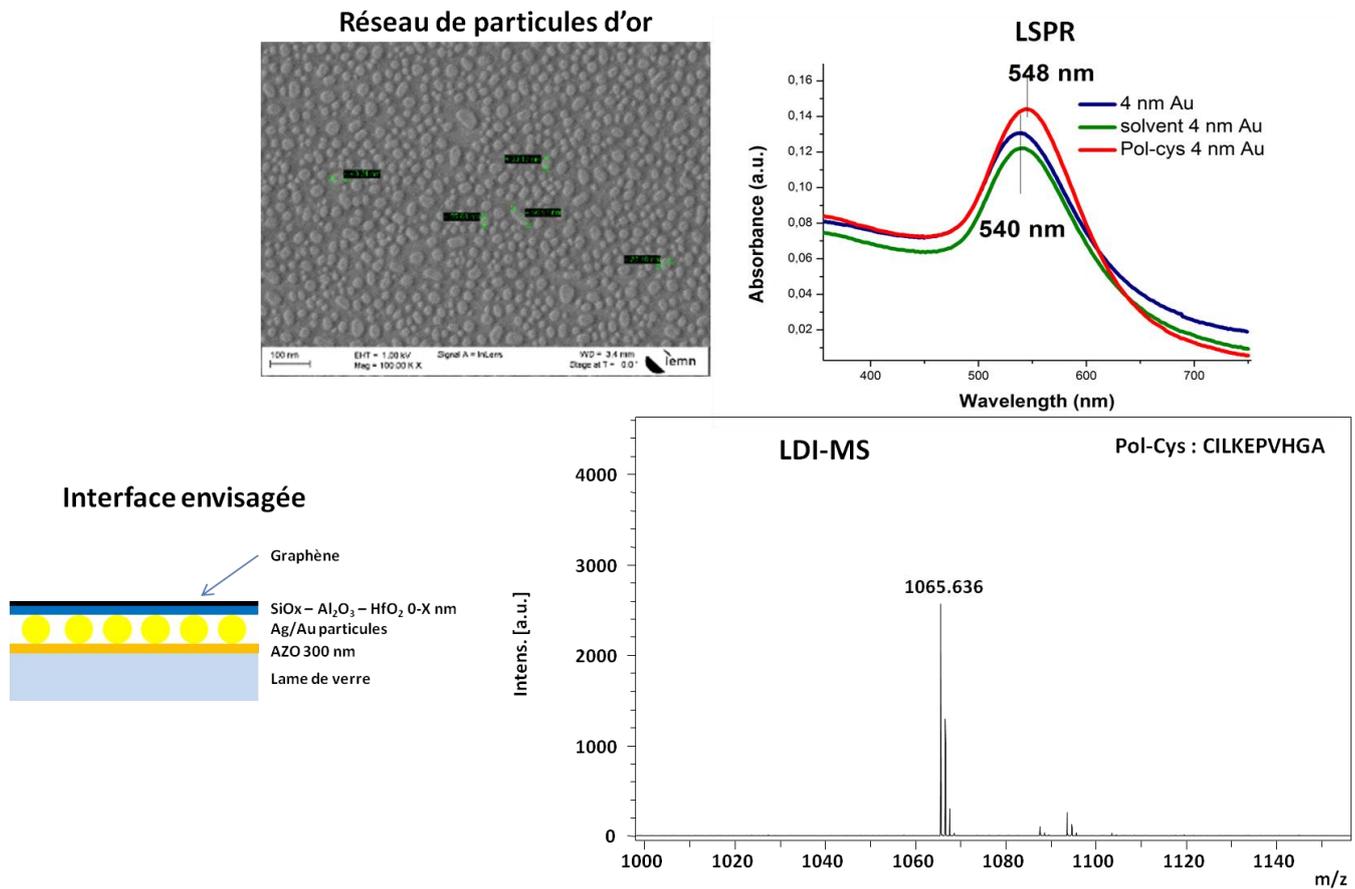


**Figure 71:** Courbes de réflectivité en fonction de l'angle d'incidence pour différentes surfaces verre/Au (A) et verre/Au/SiOx (B).



**Figure 72 :** Spectres de masse obtenus pour le cytochrome C (12900 Da) et l'insuline (5735 Da) sur une surface verre/Au/graphène avec ou sans pyrène-COOH.

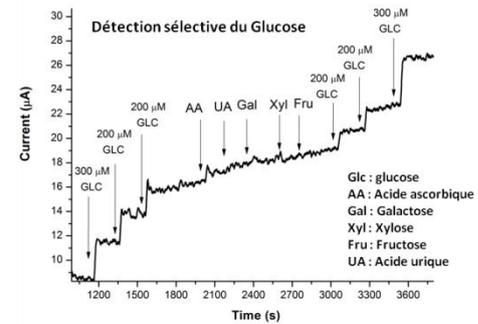
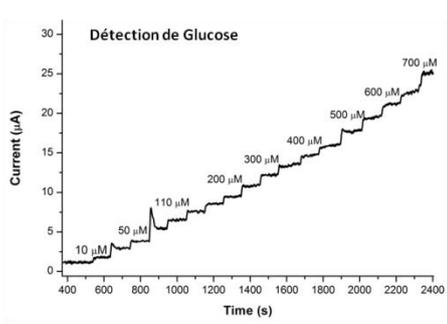
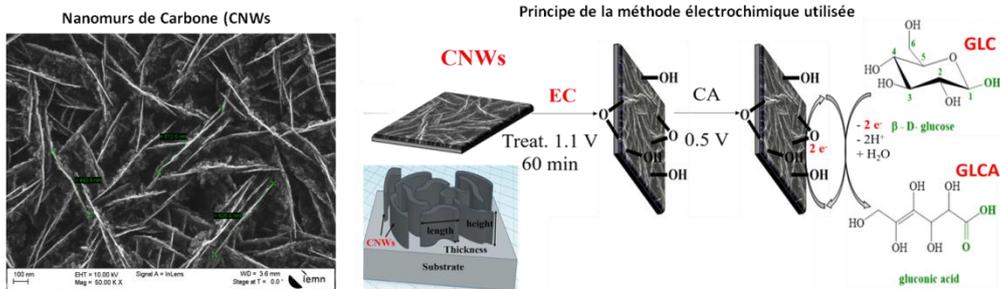
Il est aussi envisagé d'utiliser la technique L-SPR (réseau de particules métalliques) couplée à la SALDI-MS. Plusieurs options sont alors à notre disposition. Le dépôt de films métalliques (Ag, Au) puis son démoillage (500°C, 1 min.) sur lame de verre recouverte d'une couche conductrice (300 nm d'AZO par PVD) (**Figure 73**). 2 autres options peuvent être considérées : la lithographie e-beam qui est coûteuse et l'auto-assemblage de particules. Un dépôt de matériau high *K* par ALD (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZrO<sub>2</sub>, HfO<sub>2</sub>) peut être également envisagé afin de protéger les particules contre l'environnement extérieur et améliorer le confinement thermique.



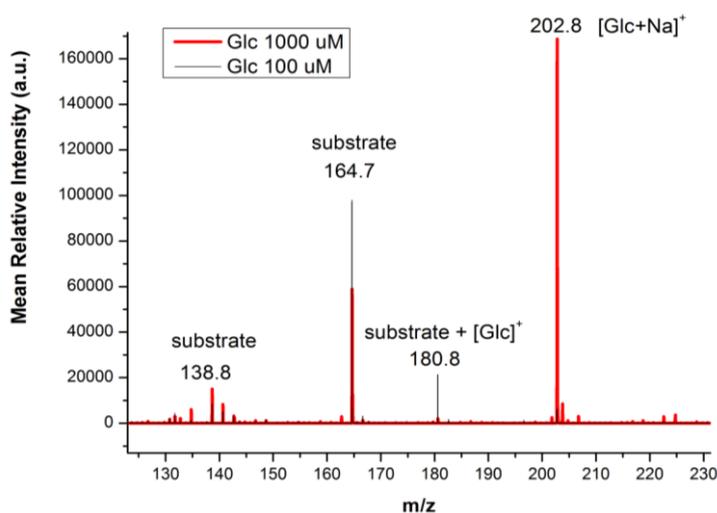
**Figure 73 :** Interface envisagée, réseau de particules d'or, spectre UV-Vis LSPR et spectre de masse du peptide étudié (Pol-Cys : CILKEPVHGA (1065.55 m/z)).

#### 4.11.2. Couplage Electrochimie - Spectrométrie de masse sur les CNWs

Ces électrodes, dopées au bore (1200 -10000 ppm de bore dans le réacteur), ont été caractérisées par microscopie électronique à balayage (MEB), XPS, Raman, microscopie à force atomique (AFM). Elles ont ensuite été testées pour la détection électrochimique du glucose. Pour démontrer, la sélectivité de la détection, des molécules interférentes ont été injectées dans la cellule électrochimique. Le principe et les résultats sont présentés dans la **figure 74**. Pour l'instant, la sensibilité obtenue est de l'ordre de  $0.065 \mu\text{A} \cdot \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ , avec une gamme dynamique linéaire comprise entre 10 et 550  $\mu\text{M}$  et une limite de détection de 10  $\mu\text{M}$ .



**Figure 74 :** Utilisation de CNWs pour la détection électrochimique (EC) du glucose. CA : Chronoampérométrie (thèse I. S. Hosu).



**Figure 75 :** Spectres de masse obtenus pour 2 concentrations de glucose (mode positif). L'adduit Na est l'ion majoritaire  $[M+Na]^+$  à 202.8 m/z. L'acide gluconique (196 m/z) n'a pas pu être détecté en mode négatif.

Nous avons également démontré que les CNWs étaient capables de réaliser la détection du glucose à la fois par EC et par LDI-MS (**Figures 74&75**). La combinaison des deux méthodes : EC et MS avec ionisation laser sans matrice, qui seraient réalisées sur la même interface de CNWs (surface bimodale), pourrait permettre de suivre des réactions d'oxydo-réduction en direct et d'identifier les produits de réaction par SALDI-MS.

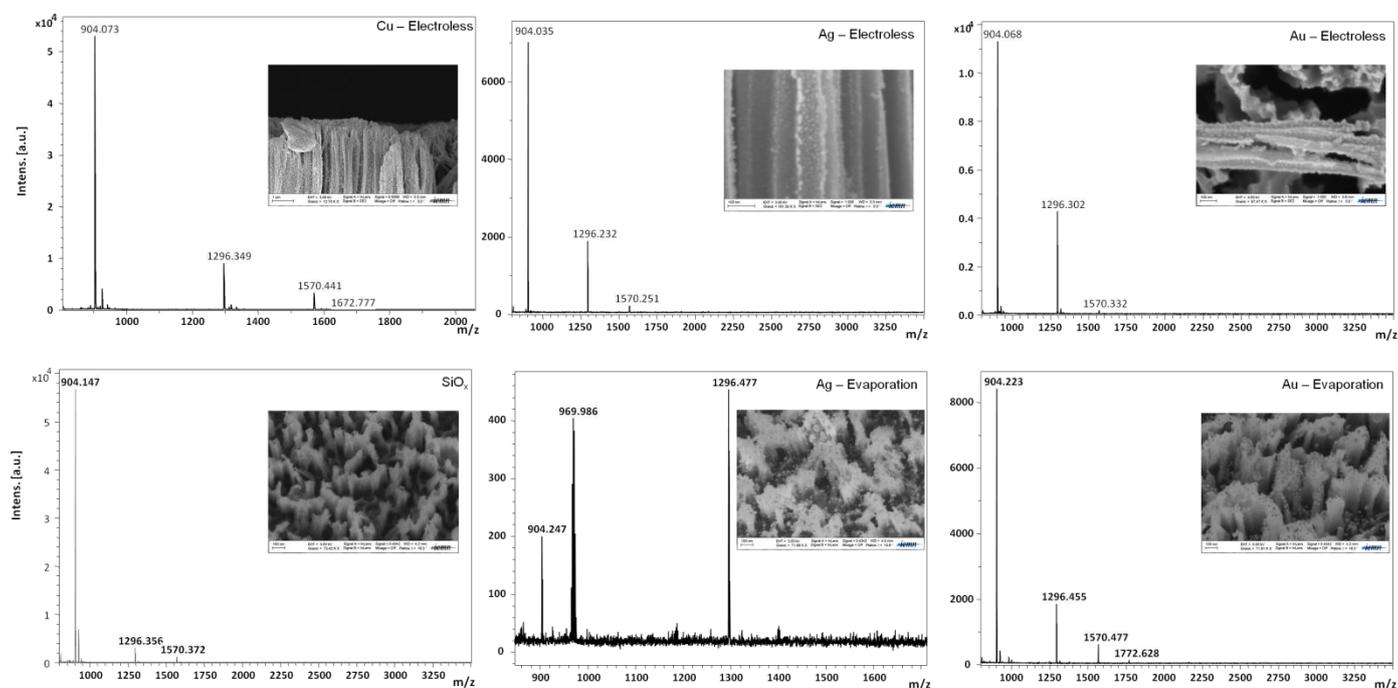
### 4.11.3. Couplage SERS - Spectrométrie de masse

---

Dans la première partie nous avons montré que des nanoparticules d'Ag (Ag NPs) déposées par voie "electroless" sur des nanofils de Si préparés par croissance CVD avaient permis la détection de la rhodamine 6G (R6G) par SERS avec une LoD de  $10^{-14}$  et un facteur d'amplification de  $2.3 \cdot 10^8$ . En effet, la morphologie de nos surfaces se prêtaient particulièrement bien au SERS puisque les nanofils décorés sont enchevêtrés créant ainsi des points chauds ("hot spots"). Dans la continuité de ce travail, il est envisagé de coupler la technique SERS au SALDI-MS pour la détection de petits composés. En effet, nous avons montré que le dépôt de particules métalliques (Ag, Au et Cu) par évaporation (5 nm d'Ag ou d'Cu) ou par voie "electroless" pouvaient améliorer ou du moins permettaient d'obtenir de bonnes performances en LDI-MS pour la détection de peptides (**Figure 76**). On peut voir que sur le spectre de masse obtenu avec la surface de nanofils de silicium recouverts d'Ag par évaporation, un pic à  $m/z$  970 est apparu qui correspond à un "cluster" d'Ag<sub>9</sub><sup>+</sup>. Ce type de cluster d'Ag a été récemment utilisé pour une recalibration *in situ* des lipides détectés à partir d'une empreinte digitale obtenue par prise de contact sur une surface de silicium poreux recouvert d'un film d'Ag.<sup>177</sup>

Le SERS étant une technique rapide et non destructrice permet d'obtenir des informations sur la nature chimique des composés adsorbés (nature de la fonction) ainsi que leur orientation et leur interactions. Cependant, des problèmes d'assignation des bandes Raman subsistent et l'interprétation des résultats n'est pas toujours évidente. Le SALDI-MS peut alors confirmer l'identification des composés, permettant leur distinction dans l'échantillon analysé. La combinaison du SERS et du SALDI-MS a été récemment décrite pour la détection de petits composés (aminothiophenol et le bleu de méthylène). Dans cette étude, des fibres de verre recouvertes d'Ag ont été utilisées.<sup>178</sup>

A l'instar des surfaces L-SPR, le dépôt d'Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ou tout autre matériau *high K* permettrait également de limiter les dégradations des performances en SERS (augmentation de la durée de vie) et pourrait renforcer les performances en SALDI-MS (confinement de la chaleur).<sup>179</sup>



**Figure 76 :** Nanofils de silicium recouverts de particules métalliques pour la détection de peptides par MS.

## Conclusions

Au sein de cette partie et dans un premier temps, une brève présentation des surfaces SALDI-MS portait sur la description des différents types existants (forme, dimensions, matériaux...), de certaines de leurs propriétés (optique, thermique, électronique...) et de leurs avantages par rapport à la méthode MALDI. Dans un second temps nous nous sommes attachés à présenter principalement les nanofils de silicium comme surface SALDI performante. Nous avons montré que la morphologie des surfaces nanostructurées était cruciale et que la chimie de surface avait une certaine influence sur les performances. Ensuite, nous avons présenté plusieurs applications récentes incluant notamment la détection de nombreux peptides synthétiques mimant une digestion enzymatique, montrant le grand potentiel de ces surfaces dans l'analyse protéomique. Grâce à ces nanofils de silicium mais également aux CNWs, des biomarqueurs ont pu être quantifiés à partir de l'analyse du sérum humain avec un bon taux de confiance. En collaboration avec la société IMABIOTECH, nous avons commencé à développer des immunocapteurs de la TSH, basé sur le "Tag-reporting". Malheureusement, ce projet n'a pas pu être mener à son terme faute de personnel disponible. Cependant, une nouvelle approche de ces nanofils de silicium couplés à un groupement photoclivable a été proposée, ouvrant ainsi le champ à de nombreuses applications potentielles. Parallèlement et dans le but de mieux comprendre les mécanismes régissant cette méthode SALDI, d'autres surfaces ont été proposées et certaines déjà testées comme les surfaces périodiques, les films 2D (graphène, membrane Si...). A l'instar des nanofils de silicium couplés à un groupement photoclivable, certaines d'entre elles permettent une analyse sensible des composés à une plus faible puissance laser. Ceci à plusieurs avantages : d'une part la limitation de la fragmentation des analytes et d'autre part cela permet également d'envisager l'utilisation de lasers de plus

faible puissance et portables. En effet, depuis quelques temps on voit l'émergence de systèmes de spectrométrie de masse miniaturisés (ou «mini» spectromètre de masse), portables et pouvant être utilisés par du personnel non qualifié ou formé à la chimie analytique permettant d'effectuer des analyses de terrain avec une qualité de laboratoire.<sup>180</sup> Parmi les systèmes existants, nous trouvons ceux développés par le groupe de Cook et la société de systèmes Microsaic (<http://microsaic.com>) dont la technologie est basée sur l'utilisation de microsystèmes électromécaniques (MEMS).<sup>181,182,183 184</sup> La plupart de ces systèmes utilisent des sources atmosphériques dont certaines ont été combinées à un système microfluidique afin de réaliser la collecte des échantillons et leurs préparations (dilution, séparation...) avant l'analyse MS.<sup>181</sup> De notre côté, nous avons été un des premiers groupes à démontrer la faisabilité d'une intégration de surface SALDI dans un système de type Lab-on-chip. Nous avons également montré que l'on pouvait réaliser des captures sélectives de composés afin d'améliorer leur détection à partir d'un échantillon complexe sur nos surfaces SALDI fonctionnalisées. L'émergence de lasers solides miniatures dans la gamme des UVs, la possibilité d'ioniser à de faibles puissances laser des composés grâce à nos surfaces SALDI, leur intégration dans un système microfluidique digital nous permet de croire qu'un système de type LDI sous-vide miniature pourrait être envisagé. Les applications seraient alors multiples allant du diagnostic médical, en passant par la détection d'agents pathogènes et d'explosifs au contrôle environnemental.

## **Conclusion générale du mémoire**

---

Comme énoncé lors du préambule, il est toujours difficile de résumer 15 ans de recherche en quelques pages. J'ai donc essayé de suivre une certaine logique de présentation. Dans certains cas, il s'agissait de décrire des résultats déjà obtenus et publiés, dans d'autres simplement les premiers résultats préliminaires mais cependant prometteurs. Ma thématique de recherche principale étant l'utilisation de nanostructures pour la biochimie/biologie, ce mémoire a donc logiquement commencé par une description des techniques développées et utilisées pour la structuration de surface. Dans une seconde partie, des méthodes de chimie de surface et notamment des stratégies d'immobilisation de sondes dites site-spécifiques et chimio-sélectives ont été présentées. S'en est suivie la description de la fonctionnalisation de ces nanostructures par des matériaux inorganiques ainsi que certaines applications. Dans une troisième partie, je me suis attardé à dépeindre la mise au point de surfaces non-mouillantes et leurs applications ainsi que leur intégration dans un système microfluidique digital. Dans la partie 4, qui correspond à mon projet de recherche principal, j'ai pu évoquer les surfaces SALDI et présenter certains résultats mais également certaines pistes de recherches futures que je souhaite mener.

## Partie 5 - Projets à futur ou long terme

---

Cette dernière partie présente les différents projets de recherche que je souhaite mener dans le futur. Certains d'entre eux ont déjà commencé, d'autres ont déjà été brièvement décrits dans les parties précédentes et ne seront pas mentionnés dans cette partie.

### 5.1. Applications des nanostructures pour la LDI-MS - Continuité de mon projet principal

---

Depuis plusieurs années nous développons des nanostructures afin de réaliser la désorption/ionisation assistée par laser sans matrice organique de petits composés (**voir partie 4**).

Dans la continuité de cette thématique de recherche, nous utiliserons ces nanostructures ainsi développées pour :

5.1.1. - La détection de neurotoxiques par spectrométrie de masse de manière soit par voie directe ou indirecte

5.1.2. - La mesure d'activités enzymatiques ainsi que la détection de composés d'intérêt au sein d'une cellule vivante par spectrométrie de masse.

5.1.3. - La micro-nanostructuration de l'inox ("Black metal") par ablation laser à l'aide de la plateforme LEAF de notre laboratoire. En effet, l'inox est le matériau constituant les plaques MALDI commerciales. Le fait de le structurer permettrait à la fois d'améliorer le signal obtenu en MALDI-MS en présence de matrice organique pour la détection de grosses molécules et en même temps la détection sensible de petits composés sans matrice, en conditions SALDI-MS. Une plaque M/SALDI-MS en quelque sorte.

#### 5.1.1. La détection de neurotoxiques par spectrométrie de masse

---

Les activités humaines engendrent une quantité très importante de polluants chimiques (colorants, intermédiaires de synthèse, produits phytosanitaires, médicaments...). Parmi ces composés, les pesticides constituent une des seules classes de xénobiotiques déversés "volontairement" dans le milieu naturel, pour des visées de productions agricoles. En considérant les utilisations passées et actuelles, les pesticides sont représentés par plus d'un millier de substances actives, très hétérogènes tant au niveau des caractéristiques physico-chimiques, du devenir dans l'environnement que dans leur mécanisme d'action toxique. Pour la plupart, ces pesticides sont des composés organophosphorés (OPs).

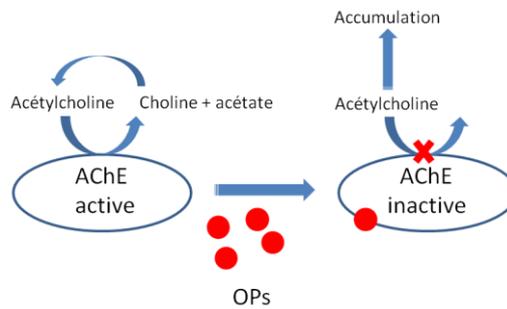
La production de pesticides reste un enjeu économique important, notamment pour la France, premier pays agricole de l'Union européenne. Cette dernière représente 33% du marché mondial des produits phytosanitaires (soit deux fois plus que l'Allemagne et cinq fois plus que l'Espagne) et se situe en tête de la consommation européenne des pesticides, avec des ventes comprises entre 80 000 et 100 000 tonnes par an. Si les pesticides ont constitué un progrès dans la maîtrise des ressources alimentaires, leur impact environnemental et les conséquences d'une exposition humaine chronique et aiguë sont devenues des questions cruciales, inscrites depuis plusieurs années dans l'agenda politique français (Grenelles de l'environnement, Plan national pour la réduction des usages des pesticides Ecophyto 2018) et européen.

En effet, la très large utilisation de ces composés depuis plusieurs décennies a conduit à leur dissémination dans tous les milieux de la biosphère (eau, sol et atmosphère), avec -pour certains- une persistance sur le long terme. Leurs effets toxiques chroniques sur les êtres vivants de la biomasse terrestre et aquatique est le résultat de leur accumulation dans les graines, végétaux, fruits mais aussi dans le sol, avec une contamination potentielle des nappes phréatiques. Chez l'homme, les pesticides pénètrent dans l'organisme selon trois voies : la voie cutanée, la voie digestive (ou orale) et la voie respiratoire. Outre des effets directs sur la santé comme les maux de tête, irritations et douleurs abdominales, les enquêtes épidémiologiques ont évoqué l'implication des pesticides dans plusieurs pathologies graves chez les personnes exposées professionnellement à ces substances, en particulier : des pathologies cancéreuses (cancer de la prostate, cancer du sein, certains cancers hématopoïétiques de type lymphome non hodgkinien et myélomes multiples), des maladies neurologiques (maladie de Parkinson) et des troubles de la reproduction (INSERM, Expertise collective INSERM. Synthèse et recommandations. Pesticides : effets sur la santé. Ed. INSERM. 2013). Ces enquêtes ont également attiré l'attention sur les effets potentiels d'une exposition -même à faible intensité et non professionnelle- lors de périodes critiques du développement : *in utero* lors du développement fœtal et pendant toute la période périnatale et de la petite enfance.

Si la plupart des pesticides étudiés dans ces études sont aujourd'hui interdits ou font l'objet d'une réglementation européenne et/ou française stricte, certains sont encore présents dans les sols, l'alimentation et à l'état de traces dans les tissus et les fluides biologiques des populations professionnelles et de la population générale. Il faut par ailleurs souligner une augmentation exponentielle de la contrefaçon dans la production de pesticides, avec l'emploi de produits non conformes à la réglementation, ou de produits non autorisés sur le territoire national. Les pesticides contrefaits – provenant principalement de Chine et d'Inde- présentent un réel danger en matière de toxicité touchant à la fois l'exploitant agricole qui en fait l'usage que le consommateur, une fois que le produit est intégré dans la chaîne alimentaire. Un exemple probant est l'utilisation du glyphosate (RoundUp®). En Europe, le marché de la contrefaçon atteindrait 5% à 7% du chiffre d'affaire européen, soit entre 360 et 510 M€ (Données 2012, ECPA, Crop Protection Europe). A ce titre, la lutte contre la fraude de pesticides contrefaits est devenue non seulement un enjeu économique mais aussi -et surtout- un enjeu sanitaire et de santé publique.

La détection dans l'air, le sol, les aliments ou dans l'eau de polluants comme les composés organophosphorés (OP) est ainsi devenue un enjeu crucial de santé publique. Il est donc essentiel de pouvoir disposer de méthodes analytiques efficaces pour évaluer le taux d'exposition dans les fluides biologiques (sang, urine) et prescrire très rapidement une prise en charge thérapeutique adaptée.

Le mode de fonctionnement de ces OPs est l'inhibition de l'enzyme Acétylcholinestérase (AChE, EC 3.1.1.7) qui est impliquée dans le fonctionnement du système nerveux central (CNS) des humains. L'OP forme une liaison covalente avec une sérine du site actif. L'AChE convertit l'acétylcholine (AC) en choline et son inhibition conduit à l'accumulation d'AC (neurotransmetteur) dans l'organisme (**Figure 1**). La forte concentration en AC va ensuite interférer avec les réponses musculaires entraînant des problèmes respiratoires, cardiaques pouvant aller jusque à la mort.



**Figure 1:** Inhibition de l'AChE par les OPs.

Outre leur usage à des fins agricoles, certains de ces organophosphorés peuvent être ou ont été utilisés comme arme chimique. Une fois militarisés, ils deviennent alors des armes de destructions massives. Même si leur utilisation a été interdite par le protocole de Genève (1925), les récents événements en Syrie (1430 victimes) ou encore l'attentat en 1995 par la secte Aum dans le métro de Tokyo (12 morts, 5500 blessés) ont montré que ces neurotoxiques, notamment le sarin, sont toujours une menace d'actualité pour les populations (bioterrorisme) mais également pour les soldats sur les théâtres d'opérations.

*2 approches seront alors envisagées :*

- Approche enzymatique qui utilisera l'acétylcholine estérase pour une détection indirecte de la présence de neurotoxiques dans l'environnement étudié.
- Approche inorganique : particules d'oxyde métallique pour la détection directe de neurotoxiques.

#### *1- Approche enzymatique*

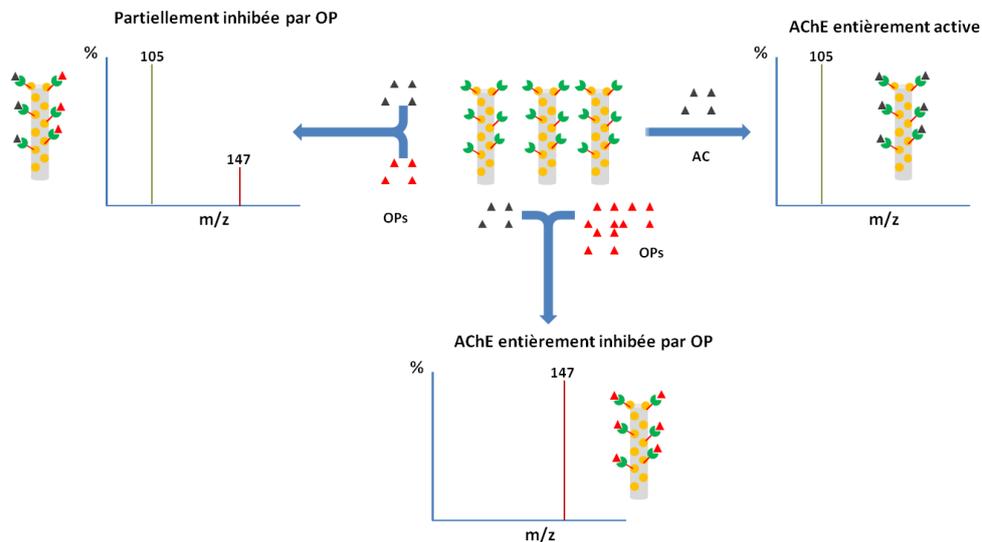
A l'heure actuelle, une des méthodes de choix pour la détection de pesticides est la mesure de l'activité acétylcholinestérasique ou plutôt de son inhibition en leur présence. En présence de pesticides, l'acétylcholine n'est plus convertie en choline, dans le cas contraire, elle le sera. L'intensité de l'inhibition de l'AChE est proportionnelle à la concentration d'OPs de telle sorte que cela a pu être exploité comme principe de détection. La plupart des capteurs existants mesurent l'activité de l'AChE en utilisant des méthodes d'ampérométrie, de potentiométrie et des techniques optiques avec des sensibilités pouvant aller jusqu'au nM. Mise à part la détection optique, toutes les autres techniques utilisent les propriétés d'oxydo-réduction du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (molécule issue de la transformation de la choline en betaine +  $H_2O_2$  en présence d' $O_2$  et  $H_2O$ ) par la choline oxydase. Le principal inconvénient est la présence souvent dans le milieu à tester de molécules interférentes, c'est à dire de composés se réduisant ou s'oxydant au même potentiel que le peroxyde d'hydrogène.

Dans les approches classiques, l'AChE est immobilisée par *cross-linking*, piégée sur des membranes, liée par liaison covalente ou adsorbée sur le support (membrane, polymères, sol-gel, particules...). Cependant, ces différentes approches conduisent à des problèmes de stabilité, d'orientation du site actif de l'enzyme, de reproductibilité, de relargage, ou encore de coût. En effet, celle-ci peut alors voir son site actif (catalytique) être non accessible pour son substrat engendrant alors une baisse de son activité enzymatique voir même à une inactivité conduisant à des mesures non reproductibles.

Dans notre approche, l'AChE sera immobilisée de manière non covalente (liaisons de coordination) sur les nanofils de silicium *via* une interaction entre les ions  $\text{Cu}^{2+}$ , provenant des particules de cuivre oxydées (Cu/CuO) et le tag Histidine (6 résidus) porté par l'AChE. Ces résidus Histidine portent sur leurs chaînes latérales, des groupes imidazoles. Ces groupes imidazoles sont donneurs d'électrons à pH neutre et peuvent alors les échanger avec les ions  $\text{Cu}^{2+}$  des particules Cu/CuO. L'AChE est alors immobilisée *via* des liaisons de coordination non-covalentes. Ce type d'immobilisation a donc plusieurs avantages : i) contrôle de l'orientation de l'enzyme garantissant une enzyme active, ii) reproductibilité des mesures, iii) réutilisation du capteur, iv) utilisable pour d'autres enzymes ou autres biomolécules pourvu qu'elles aient un tag-His\*6. Cette interaction est basée sur la chromatographie d'affinité des oxydes métalliques (MOAC). Nous avons montré récemment la faisabilité d'une telle combinaison en utilisant des nanofils de silicium décorés de particules d'oxyde de cuivre. Ces surfaces ont permis la capture spécifique de peptides portant un "tag" de 6 résidus histidine dans du sérum humain. Chaque résidu histidine porte sur sa chaîne latérale un groupement imidazole qui peut interagir avec les ions  $\text{Cu}^{2+}$  présents dans l'oxyde de cuivre (CuO). Ensuite, les peptides capturés ont été détectés par spectrométrie de masse sans matrice (SALDI-MS) avec une sensibilité de l'ordre du fmol. (Coffinier *et al.*, *Analyst*, **2014**). Il est à savoir que les fils décorés pourront se trouver dans un puits de façon à maintenir l'enzyme dans un milieu de fonctionnement optimal.

### Principe de fonctionnement

L'enzyme immobilisée sur les nanofils de silicium décorés de particules de Cu/CuO en présence d'AC produira de la choline. La choline sera alors détectée par spectrométrie de masse. La présence de choline démontrera l'activité enzymatique et donc l'absence de pesticides. Si la choline n'est pas détectée ou alors à un plus faible niveau, alors la présence d'inhibiteur sera avérée. La grande aire spécifique de surface des nanofils et le fait qu'ils peuvent avantageusement remplacer la technique d'ionisation classique (Matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI)) font de ces nanofils de silicium des objets de choix pour la détection de petits composés comme la choline. En effet, les nanofils de silicium permettent de réaliser la désorption/ionisation assistée par laser (SALDI) sans matrice organique (contrairement au MALDI) rendant ainsi possible la détection de petits composés tels que la choline par spectrométrie de masse à des niveaux de l'attomole voir du zeptomole. Ici, la digestion du substrat (AC) par l'enzyme et la détection des produits (choline, acétate) se feront sur la même surface (**Figure 2**).



**Figure 2:** Différentes inhibitions de l'AChE par les OPs et les résultats en spectrométrie de masse escomptés. Immobilisation de l'AChE sur les nanofils décorés avec des nanoparticules de cuivre ; incubation avec substrat de l'enzyme et détection par spectrométrie de masse (Acétylcholine = 147m/z et choline = 105 m/z).

Cette approche enzymatique permettra de montrer la faisabilité d'une mesure d'activité enzymatique par SALDI-MS et en quelque sorte de preuve de concept. Une fois la méthode validée, d'autres enzymes pourront alors être étudiées.

## 2 - Approche inorganique

Cette deuxième approche sera également basée sur la chromatographie d'affinité des oxydes métalliques (MOAC). En effet, certains groupements au sein des composés neurotoxiques pourront interagir spécifiquement avec les ions métalliques, permettant leur capture et leur enrichissement, facilitant ainsi leur détection par spectrométrie de masse. En effet, certains groupements chimiques comme les phosphates peuvent interagir avec certains oxydes métalliques (oxyde de fer, oxyde de titane, de cuivre). Dans notre cas, nous utiliserons l'interaction des ions  $Ti^{4+}$ ,  $Zr^{4+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  avec les phosphates pour la capture des composés organomono ou biphosphorés. L'utilisation de particules d'Ag décorant les nanofils de silicium sera également envisagée. Les nanofils de silicium possédant une grande aire de surface spécifique, cela permettra d'augmenter leur capacité de capture vis-à-vis des OPs. Ensuite, les composés capturés seront ionisés (SALDI) et détectés par spectrométrie de masse. Contrairement à la première approche, ces surfaces sont essentiellement inorganiques et peuvent être donc utilisées en conditions extrêmes.

**Nos surfaces nanostructurées recouvertes d'oxydes métalliques pour une détection de neurotoxique directe ou indirecte permettront :**

- une détection ultrasensible (spectrométrie de masse)
- l'identification indirecte (approche enzymatique) ou directe (oxyde métallique) du ou des composés
- une sensibilité accrue grâce à la grande aire de surface spécifique.
- une sélectivité (en jouant sur la nature chimique de l'oxyde métallique).

- une utilisation en milieu extrême (approche MOAC).
- l'analyse d'échantillons solides, liquides ou gazeux (air, vapeurs).
- une quantification grâce à des étalons internes.
- une transportabilité ou portabilité.
- l'adaptation à n'importe quel instrument MS de type MALDI-ToF.

### 5.1.2. Applications à la détection intracellulaire - Collaboration avec l'Institut des biomolécules Max Mousseron de Montpellier (équipe de C. Enjalbal).

---

Ce projet a été soumis à l'ANR AAP générique (porteur du projet).

L'étude des processus biochimiques est cruciale pour comprendre les mécanismes fondamentaux régissant la vie cellulaire. En effet, la compréhension des voies métaboliques, de la transduction des signaux et des mécanismes de réparation au sein d'une cellule nous permettra de développer les traitements médicaux de demain. Ces études sont pour la plupart basées sur la détection de biomarqueurs spécifiques : métabolites, ions, sucres... ainsi que sur la mesure de taux d'expression (protéines, peptides, ARNm...), de la mise en évidence de modifications post-traductionnelles (protéomique), de l'épigénétique (phosphorylation des bases nucléotidiques) et de la mesure de certaines activités enzymatiques. Traditionnellement, ces études sont effectuées *in vitro* à partir d'homogénats de tissus et de broyats cellulaires, à l'aide de méthodes spectrophotométriques, calorimétriques, chromatographiques, radiométriques ou de spectrométrie de masse.<sup>1</sup> Cependant, ces méthodes d'analyse ne permettent pas de suivre ces phénomènes biochimiques de manière dynamique c'est à dire au sein de cellules vivantes. De plus, elles ne tiennent pas compte du contexte intracellulaire, à savoir la présence de multiples composantes cellulaires (organelles, noyau, cytosquelette...) et ne prend pas en considération les stimuli extracellulaires pouvant moduler l'activité enzymatique endogène.<sup>2</sup> Il est alors évident que les analyses biochimiques réalisées au sein même de la cellule seraient très bénéfiques pour une meilleure compréhension des fonctions physiologiques cellulaires. De plus, le sondage intracellulaire permettrait de diminuer la perte de biomolécules d'intérêt et d'augmenter le niveau de sensibilité de l'analyse.

Récemment, les nanofils et autres nanostructures associées (nanorods, nanoneedles, nanostraws...) ont été développés et utilisés comme outils polyvalents pour la biologie cellulaire et l'intervention médicale (y compris la détection et la distribution de biomolécules).<sup>3</sup> Ces nanostructures ont permis le développement d'outils sophistiqués et moins invasifs permettant un accès direct au compartiment intracellulaire (sans produits chimiques (lipofectamine), d'électroporation ou de vectorisation).<sup>4-9</sup> Cependant, dans chaque cas, la fluorescence a été utilisée pour la détection intracellulaire de l'activité protéique ou enzymatique. En dépit de sa bonne précision, elle ne permet pas l'observation directe d'événements biochimiques sans l'utilisation de marqueurs. Dans ce projet, nous proposons d'utiliser la détection par spectrométrie de masse afin d'évaluer l'activité enzymatique intracellulaire et la détection de molécules d'intérêt au sein même de la cellule vivante.

Nous proposons une nouvelle méthode originale peu invasive basée sur l'utilisation de nanofils de silicium (SiNWs) afin d'accéder au cytoplasme cellulaire et ainsi mesurer l'activité enzymatique endogène et la détection de biomolécules d'intérêt par spectrométrie de masse. Dans notre approche, la sonde ou le substrat de l'enzyme à

étudier sera greffé sur les nanofils de silicium par le biais d'un bras espaceur contenant un groupement photoclivable (nitrobenzyl). Ensuite, après une période d'interaction SiNWs-cellule définie, le détachement des cellules sera réalisé. Les changements induits sur les substrats enzymatiques modifiés par l'enzyme endogène ou les cibles capturées seront examinés par spectrométrie de masse sans utilisation de matrices organiques (SALDI-MS). En effet, grâce à la présence de ce groupement photoclivable, le substrat enzymatique modifié ou le complexe formé entre la sonde et la cible seront libérés par un mécanisme de photodissociation permettant la détection par spectrométrie de masse (voir le schéma de principe dans la **figure1**). Cette coupure se fera directement dans le spectromètre de masse. Celui-ci utilise un laser à 355 nm et la photodissociation se fait à 365 nm. Dans une étude très récente, nous avons prouvé la faisabilité de cette méthode de formation d'ions. En effet, un peptide modèle, immobilisé sur les nanofils de silicium, a été clivé et l'ion produit détecté par MS.<sup>10</sup>

Les avantages de notre outil sont les suivants :

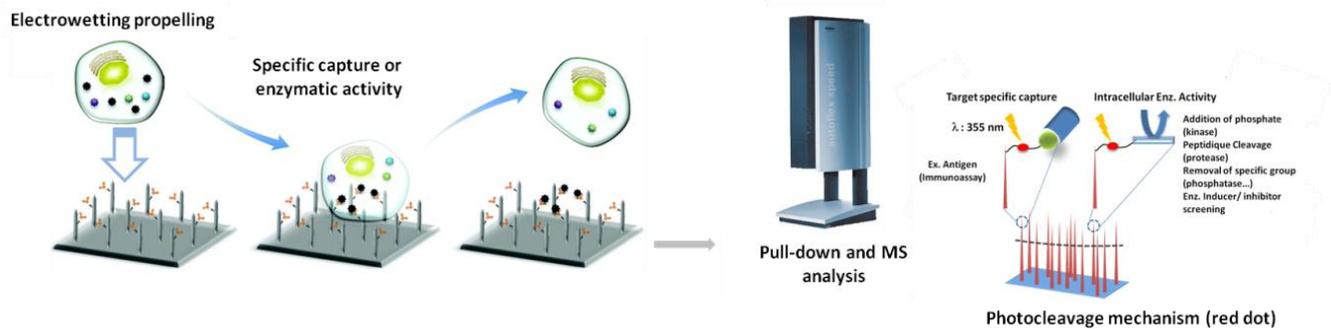
1) Les SiNWs ont un rapport surface / volume élevé, permettant l'immobilisation d'une grande quantité de sondes. En outre, leur fabrication est simple et peu coûteuse.

2) Des SiNWs de différentes dimensions, formes et densités peuvent être obtenus. De plus, leur taille nanométrique (même gamme de biomolécules) et leur forme (antenne, cylindre, aiguille) amélioreront l'intégrité, la mobilité et l'accessibilité de la sonde (substrat enzymatique ou nanobodies) améliorant ainsi la reconnaissance moléculaire avec la molécule cible.

3) Les SiNWs sont capables de pénétrer la membrane cellulaire sans affecter la viabilité des cellules ou de la fonction. L'étude de la pénétration de la membrane cellulaire par ces nano-outils est devenue récemment un champ intense de recherche afin de mieux comprendre les différents mécanismes régissant ce phénomène. Plusieurs méthodes ont déjà été développées par plusieurs groupes de recherche. Il a été montré qu'une force de quelques nN est nécessaire pour effectuer la pénétration cellulaire. Parmi les méthodes existantes qui seront envisagées, on trouve : l'électromouillage, la supergravité (centrifugation), la pénétration par adhésion (interaction couche adhésive-membrane cellulaire), la projection de cellule par impression jet d'encre et l'électroporation assistée par nanoobjet.<sup>11-14</sup>

4) Une plus grande sensibilité, spécificité et vitesse de l'analyse MS sans l'utilisation de matrice organique. Ces interfaces permettront la formation d'ions prévisible grâce au mécanisme simple du photoclivage. Une bonne reproductibilité du spectre et une intensité de réponse prévisible des signaux sont attendues. Les traitements semi-quantitatifs des signaux deviennent alors faisables.

5) Plateforme polyvalente. En plus des mesures d'activités enzymatiques et la détection de cibles spécifiques cytosoliques, la délivrance intracellulaire de médicaments par photoclivage sera également envisagée avec un contrôle spatio-temporel.



**Figure 1 :** Principe de la pénétration des cellules par les nanofils, suivi de la capture de la cible ou de l'activité enzymatique (gauche) et le principe du photoclivage pour la formation d'ions et leur détection par spectrométrie de masse.

Les sondes que nous envisageons d'utiliser pour la capture spécifique sont les nanobodies (VHH) qui seront fournis par la société Hybrigenics. L'avantage de ces nanobodies est double. D'une part leur dimension,  $\sim 2.5$  nm et d'autre part leur bonne résistance au pH acide. En effet, il est à noter qu'à l'intérieur d'une cellule le pH est de l'ordre de 3-4.

### Références :

- 1 Liesener, A. and Karst, U. Monitoring enzymatic conversions by mass spectrometry: a critical review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, 382, 1451-1464.
- 2 Kovarik, M. L. and Allbritton, N. L. Measuring enzyme activity in single cells. *Trends Biotechnol.* 2011, 29, 222-230.
- 3 Elnathan, R., Kwiat, M., Patolsky, F. and Voelcker N. H. Engineering vertically aligned semiconductor nanowire arrays for applications in the life sciences. *NanoToday*, 2014, 9, 172-196.
- 4 Shalek, A. K., Robinson, J. T., Karp, E. S., Lee, J. S., Ahn, D. R., Yoon, M. H., Sutton, A., Jorgolli, M., Gertner, R. S., Gujral, T. S., MacBeath, G., Yang, E. G. and Park, H. Vertical silicon nanowires as a universal platform for delivery biomolecules into living cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107, 1870-1875.
- 5 Chiappini, C., De Rosa, E., Martinez, J. O., Liu, X., Steele, J., Stevens, M. M. and Tasciotti, E. et Biodegradable silicon nanoneedles delivering nucleic acids intracellularly induce localized *in vivo* neovascularization. *Nature Materials*, 2015, 14, 532-540.
- 6 Chiappini, C., Campagnolo, P., Almeida, C. S., Abassi-Ghadi, N., Chow, L. W., Hanna, G. B. and Stevens M. M. Mapping local cytosolic enzymatic activity in human esophageal mucosa with porous silicon nanoneedles. *Adv. Funct. Mater.*, 2010, 27, 5147-5152.
- 7 Duan, X., Gao, R., Xie, P., Cohen-Karni, T., Qing, Q., Choe, H. S., Tian, B., Jiang, X. and Lieber, C. M. Intracellular recordings of action potentials by an extracellular nanoscale field-effect transistor. *Nat. Nanotechnol*, 2012, 7, 174-179.
- 8 McKnight, T. E., Melechko, A. V., Hensley, D. K., Mann, D. G. J., Griffin, G. D. and M. L. Tracking Gene Expression after DNA Delivery Using Spatially Indexed Nanofiber Arrays. *Nano Lett.*, 2004, 4, 1213-1219.
- 9 Rostgaard, K. R., Frederiksen, R. S., Liu, Y. C. C., Berthing, T., Madsen, M. H., Holm, J., Nygård, J., and Martinez, K. L. Vertical nanowire arrays as a versatile platform for protein detection and analysis. *Nanoscale*, 2013, 5, 10226-10235.

10 I. Kurylo, M. Dupré, S. Cantel, C. Enjalbal, H. Drobecq, S. Szunerits, O. Melnyk, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Characterization of peptide attachment on silicon nanowires by X-Ray photoelectron spectroscopy and mass spectrometry. *Analyst*, 2017,142, 969-978.

11 Lee, G., Yoo, J., Leslie, B. J. and Ha, T. Single molecule analysis reveals three phases of DNA degradation by an exonuclease. *Nat. Chem. Biol.*, 2011, 7, 367-374.

12 Na, Y. R., Kim, S. Y., Gaublomme, J. T., Shalek, A. K., Jorgolli, M., Park, H. and Yang E. G. Probing enzymatic activity inside living cells using a nanowire-cell "sandwich" assay. *Nanoletters*, 2013, 13, 153-158.

13 Xie, X., Xu, A., Angle, M. R., Tayebi, N., Verma, P. and Melosh, N. A. Mechanical Model of Vertical Nanowire Cell Penetration. *NanoLetters*, 2013, 13, 6002-6008.

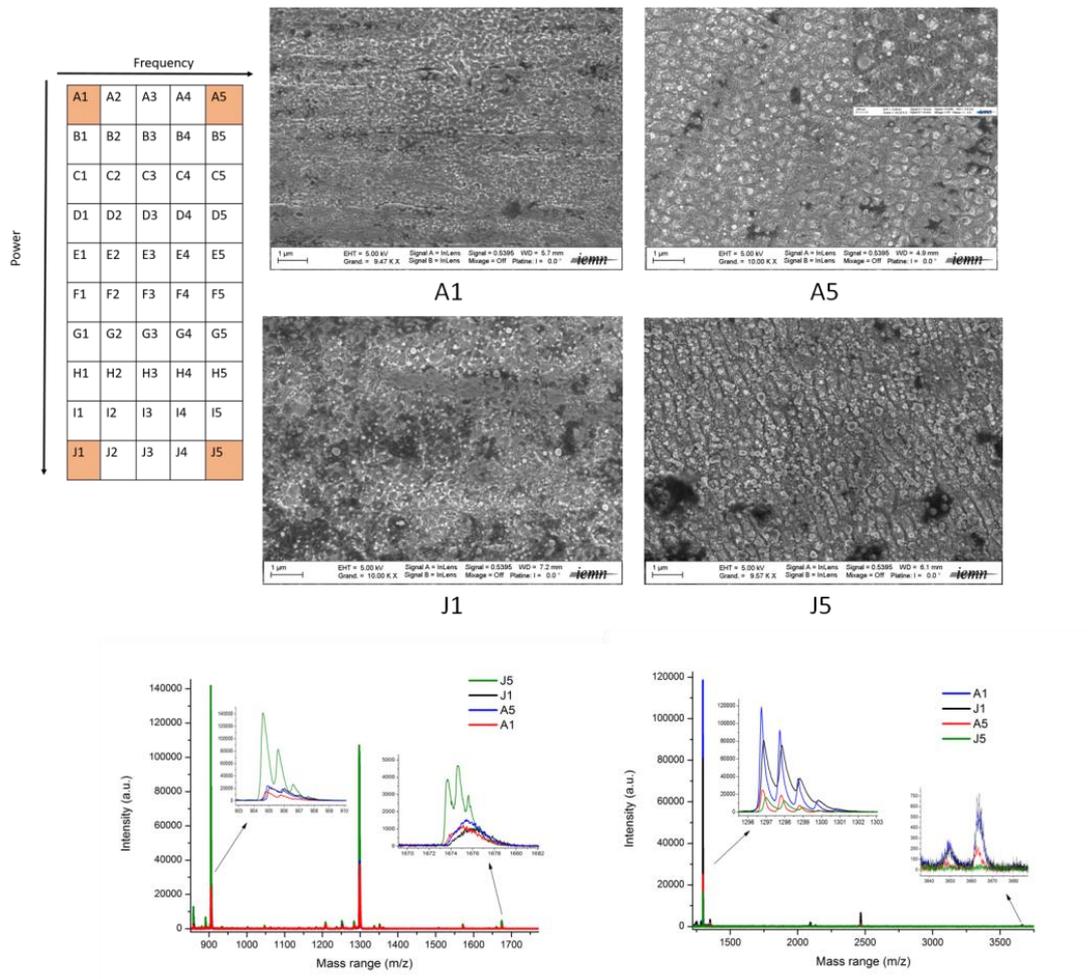
14 Rems, L. and Miklavcic, D. Electroporation of cells in complex materials and tissue. *J. Appl. Phys.*, 2016, 119, 201101-201120.

### 5.1.3. "Black metal" pour la LDI-MS - Equipex LEAF

---

Ici, nous envisageons de micro-nanostructurer directement les plaques MALDI commerciales (inox) par ablation laser grâce à la plateforme LEAF (Equipex LEAF (Laser procEssing pLAtform for multiFunctional electronics on Flex, <http://leaf-equipex.iemn.univ-lille1.fr/>). En effet, actuellement, quand une analyse en spectrométrie de masse est requise, une des méthodes de choix d'ionisation des analytes est le MALDI.

Ici, nous proposons de développer une surface d'inox micro et nanostructurée permettant à la fois d'analyser les petits composés sans ajout de matrice organique et des plus grosses molécules comme les protéines en ajoutant de la matrice organique si besoin. Cette surface permettra donc à la fois l'ionisation de petits et de gros composés. De plus, il a été montré que la présence de micro-nanostructures en présence de matrice organique, améliorerait la qualité du signal sur bruit de fond obtenu en spectrométrie de masse pour les grosses molécules. Un autre avantage est que cette surface métallique structurée aura une bonne résistance mécanique et pourra être réutilisée après un nettoyage adéquat. Dans la **figure 1**, sont représentés les clichés en MEB de 4 surfaces d'acier micro-nanostructurées par ablation laser réalisées en variant la fréquence et la puissance du laser (ici femtoseconde). Les spectres de masses obtenus pour des peptides de masses allant de 904 à 3700 Da. Il s'agit de résultats préliminaires. D'autres paramètres sont encore à étudier comme le taux de recouvrement lors du passage du faisceau laser et sa vitesse de balayage qui ont une grande influence sur les structures obtenues.



**Figure 1:** Images en microscopie électronique de 4 surfaces d'acier micro-nanostructurées par ablation laser en fonction de la fréquence et de la puissance utilisées. J5 = plus hautes fréquence et puissance; J1 = plus basses fréquence et puissance.

### 5.2.1 Surface "SLIPS" contre l'encrassement de protéines de lait des lignes de production de l'industrie laitière.

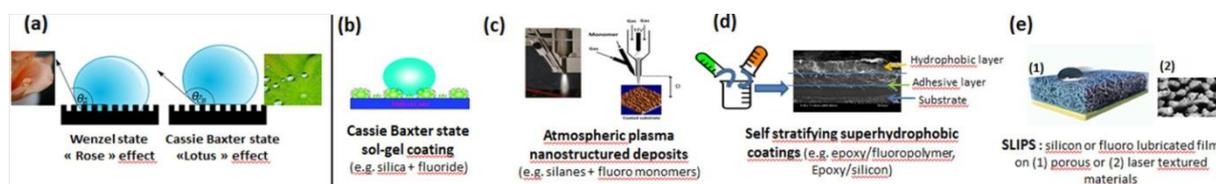
Ce projet a déjà commencé et est réalisé en collaboration avec l'INRA et l'unité des matériaux et transformations (UMET-UMR CNRS 8207) et l'université de British Columbia au Canada. Un projet ANR (ECONOMICS) a été retenu cette année pour financement. Porteur : M. Jimenez (Prof. Université de Lille1)

Dans le domaine de l'industrie alimentaire, notamment l'industrie laitière, l'application d'un traitement thermique lors est capital. En effet, il en va de l'innocuité des produits laitiers et la santé des consommateurs. Un traitement thermique insuffisant peut avoir de graves conséquences en cas de durée non conforme du chauffage du lait. En revanche, une surchauffe peut entraîner une baisse de qualité du produit et des coûts énergétiques élevés. En parallèle, des dépôts dits d'encrassement sur l'acier inoxydable (matériau des lignes de production) sont observés. Ces dépôts sont la conséquence d'une adhésion et d'une cohésion d'espèces minérales et protéiques sur l'inox des échangeurs thermiques. Une des solutions est alors de pratiquer un nettoyage de type "cleaning in place (CIP)" mécanique et/ou chimique intenses et fréquents afin d'éviter le risque de contamination des produits laitiers. Ceci a pour conséquence l'augmentation des coûts et un fort impact écologique du fait du rinçage excessif

(gaspillage de l'eau) et l'utilisation de produits chimiques décapants (pollution). En effet, la recherche alimentaire NIZO 2 (organisme de recherche sous contrat dans le domaine de l'alimentaire et de la nutrition) attribue 80% du coût de production aux conséquences de l'encrassement et du nettoyage dans les industries laitières. Dans ce contexte, trois voies peuvent être envisagées pour réduire l'encrassement: (i) l'optimisation des conditions du procédé (hydrodynamique, rampe de température, etc.), (ii) la modification de surface d'acier inoxydable et (iii) le remplacement de l'acier inoxydable par des matériaux composites conducteurs.

Dans ce projet, nous nous intéresserons à la deuxième voie qui consiste à concevoir de nouvelles surfaces en acier inoxydable pour inhiber l'encrassement ou pour améliorer le nettoyage. Les pré-requis sont une bonne stabilité (mécanique/chimique) des surfaces, elles doivent également présenter des propriétés "anti-fouling", une bonne résistance au débit du lait (pression sur les parois de l'échangeur de chaleur), aux procédures CIP et à l'utilisation de produits chimiques.

Sur la base des travaux antérieurs réalisés, des surfaces omniphobes seront développées afin de permettre aux produits laitiers de rester dans un état de Cassie Baxter (état de glisse) plutôt que dans l'état de Wenzel (état d'empalement) de façon à limiter l'encrassement. Pour ce faire, 4 technologies éco-responsables innovantes seront étudiées (**Figure 1**). Il s'agira de (i) revêtements sol-gel superhydrophobes, (ii) de dépôts superhydrophobes par plasma froid atmosphérique (iii) de revêtements auto-stratifiants qui consistent en la formation, en une seule étape, de structuration sous la forme de revêtement complexes multicouches directement sur l'acier et finalement (iv) de surfaces poreuses (micro-nanostructurées) qui seront imbibées d'huile (surface SLIPS). Pour ces dernières, les surfaces d'inox pourront être micro et nanostructurées grâce à un laser femtoseconde. Les premiers résultats sur substrats SLIPS ont été publiés récemment (partie 3).



**Figure1:** Stratégies envisagées pour limiter/éviter l'encrassement des surfaces d'inox par les agrégats protéiques/minéraux.

### 5.3. Développement de capteurs optiques utilisant des nanostructures

#### 5.3.1 Microrésonateur optique en silicium poreux pour la détection de COVs et application au diagnostic médical (Collaboration avec le laboratoire FOTON, J. Charrier).

Ce projet a obtenu un financement de la mission interdisciplinaire du CNRS "défi instrumentation aux limites" en 2017 et également retenu pour financement par l'ANR (projet MIDVOC). Porteur : J. Charrier (McF Université de Rennes)

L'analyse de l'haleine est l'une des formes les plus anciennes de diagnostic médical puisque son utilisation remonte à l'antiquité. En effet, les odeurs ressenties dans les haleines exhalées (HE) peuvent être associées à

certaines maladies comme par exemple l'odeur douce de l'acidocétose diabétique, l'odeur rance de *C. difficile* présente dans les selles, l'odeur de poisson associée à une maladie du foie, l'odeur d'urine des maladies rénales, la senteur de raisin des infections par *Pseudomonas* ou encore de l'odeur d'égout des patients atteints d'abcès pulmonaires, causée par la prolifération des bactéries anaérobies.<sup>1-4</sup> Le système olfactif humain a récemment démontré qu'il était capable de discriminer pas moins d'1 milliards de stimulus olfactifs différents.<sup>5</sup> La composition de l'HE reflète la composition en composés volatiles (COVs) de la circulation sanguine, et sa composition peut-être directement corrélée à leur concentration artérielle. Ces COVs, estimés à plus de 3000, représentent moins de 100 ppm du volume total respiratoire. Environ 35 biomarqueurs de maladie présents dans l'HE ont été recensés au nombre desquels nous trouvons les cétones, l'ammoniac, le CO<sub>2</sub>, certains alcanes, les alcènes, le monoxyde d'azote, les aldéhydes....<sup>6</sup> La comparaison entre les profils de COVs des patients sains et malades peut aboutir au diagnostic de troubles métaboliques mais également de maladies chroniques comme l'asthme, l'insuffisance rénale et certains cancers. A titre d'exemple, des taux anormaux de sulfure d'hydrogène, d'acétone, de toluène, d'ammoniac, de monoxyde d'azote et de pentane ont été corrélés avec certaines maladies comme l'halitose, le diabète, le cancer du poumon, l'insuffisance rénale, l'asthme et certaines maladies cardiaques, respectivement. Il est aussi à noter également que des capteurs de monoxyde d'azote pour la surveillance de l'asthme ont été commercialisés avec succès.<sup>7,8</sup>

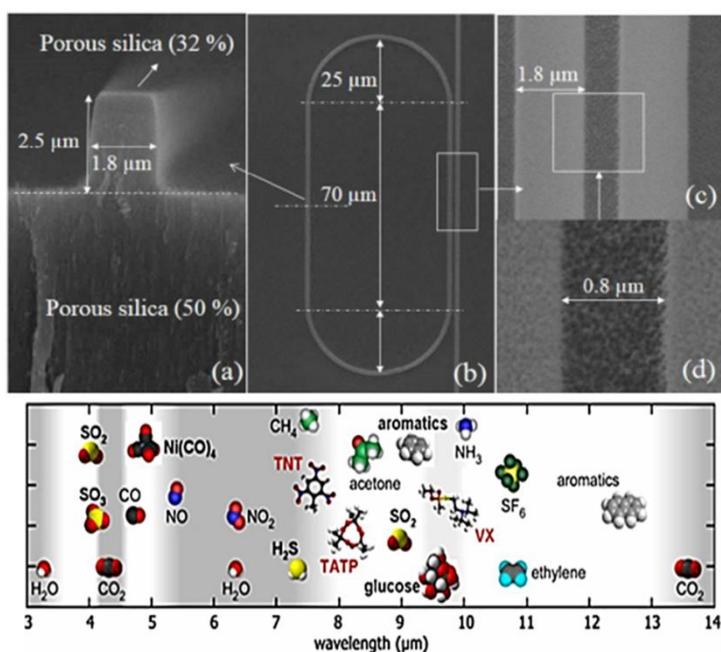
Le diagnostic médical par l'analyse de l'haleine exhalée correspond au «saint graal» de la médecine prédictive car elle est non-invasive, permet une mesure en temps réel et un diagnostic et un statut métabolique au plus près du patient.

Parmi les techniques d'analyse de l'HE les plus utilisées et les plus performantes nous trouvons, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC / MS), la spectroscopie de masse à flux d'ions triés (SIFT-MS) et la spectrométrie de masse par réaction de transfert de protons (PTR-MS). Cependant, la nécessité d'équipements analytiques coûteux, un degré d'expertise requis élevé pour faire fonctionner ces instruments et un temps de réponse relativement long pour obtenir des résultats limitent leur champ applicatif et ne permettent pas de réaliser du diagnostic médical "point of care", c'est à dire au plus près du patient. En effet, décentraliser le diagnostic en dehors des laboratoires d'analyses pour les effectuer dans les cabinets médicaux par exemple est l'un des axes important de développement d'outils diagnostiques. Les tests rapides sont l'un des enjeux de cette décentralisation. Grâce à leur souplesse et leur facilité d'utilisation, ces tests réalisables en moins de 10 minutes favorisent une prise en charge rapide des patients et la prescription immédiate de traitements adaptés. Actuellement, le développement d'outils d'analyse d'haleine de haute précision est en pleine effervescence. L'intégration de nouvelles technologies dans ces dispositifs de test rapide a permis l'émergence de nouvelles techniques d'analyse de l'HE alternatives à la GC/MS. On peut ainsi trouver les capteurs électriques utilisant les oxydes métalliques, les capteurs à effet de champ, les capteurs piézoélectriques, les capteurs à ondes acoustiques de surface (SAW), les capteurs électrochimiques et les capteurs optiques.<sup>9</sup> Le concept d'e-nose a fait également son apparition. Il s'agit de détecter non plus un composé unique mais un profil ou une empreinte de plusieurs composés, typique d'une maladie. La plupart des systèmes e-nose utilisés utilisent des résistors ou des transistors à effet de champ. Cependant, la détection optique reste de loin une des méthodes les plus fiables avec la GC/MS. En effet, les

COVs présentent de larges caractéristiques d'absorption pouvant couvrir plusieurs dizaines de nombres d'ondes dans le moyen infrarouge (MIR) permettant, sans aucune ambiguïté, d'obtenir un profil de COVs. A titre d'exemple, l'oxyde nitrique, dont un taux anormal dans l'HE, peut correspondre à l'asthme absorbera à 5,45  $\mu\text{m}$ , tandis que l'ammoniac (maladie rénale) entre 9-10  $\mu\text{m}$  et que l'éthane (cancer du poumon) à 3,4  $\mu\text{m}$ ...

La spectroscopie MIR représente donc une alternative prometteuse pour la diagnostic médical, pouvant atteindre de grandes sensibilité et spécificité. Dans ce projet, le capteur optique intégré envisagé utilisera des longueurs d'onde de 2 à 8  $\mu\text{m}$  pour détecter des composés organiques volatils biomarqueurs de maladies. Ainsi, la "signature" des composés contenus dans l'haleine exhalée ainsi que leur concentration pourront être déterminées.

Ces capteurs seront fabriqués à partir de couches en silicium poreux (PSi) afin de bénéficier des pores ouverts permettant une détection en volume et d'obtenir une détection très sensible. Afin d'assurer une détection sélective des COVs, deux types de fonctionnalisation du PSi seront considérés: une approche inorganique, utilisant des particules d'oxyde de métal (pouvant être déposées par la méthode "electroless" ou par métallisation). La seconde approche, quant à elle, utilisera des monocouches organiques auto-assemblées greffées sur le microrésonateur optique. Dans la **figure 1** sont représentés des clichés en microscopie électronique du microrésonateur en PSi déjà réalisé et en dessous les longueurs d'onde d'absorption de certains COVs absorbants dans le MIR.



**Figure 1:** Image en microscopie électronique d'un microrésonateur optique fait en silicium poreux et les longueurs d'onde d'absorption de certains COVs dans le MIR.

Le projet consistera en la conception, la fonctionnalisation, la réalisation technologique et la caractérisation de ces capteurs. Ce capteur optique pourra être utilisé pour développer des dispositifs d'analyse d'haleine en médecine prédictive de type "point-of-care". La détection sensible et spécifique de ces COVs reposera à la fois sur leur signature d'absorption spectrale dans le MIR et sur leurs interactions avec une surface fonctionnalisée sélective.

**Références :**

1 Fens, N. et al. Exhaled breath analysis by electronic nose in airways disease. Established issues and key questions. *Clin. Exp. Allergy* 2013, 43, 705–715; Patel, K. Noninvasive tools to assess liver disease. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 2010, 26, 227–233;

2 Probert, C.S. et al. Volatile organic compounds as diagnostic biomarkers in gastrointestinal and liver diseases. *J. Gastrointest. Liver Dis.* 2009, 18, 337–343,

3 Phillips, M. et al. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J. Chromatogr. B*, 1999, 729, 75–88;

4 Schubert, J. et al. Breath analysis in critically ill patients: Potential and limitations. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 2004, 4, 619–629.

5 Bushdid, C. et al. Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli. *Science*, 2014, 343, 1370–1372.

6 Wang, C. and Sahay, P. Breat analysis using laser spectroscopic techniques : Breath biomarkers, spectral fingerprints and detection limits. *Sensors*, 2009, 9, 8230-8262.

7 Pijnenburg MW. et al. Daily ambulatory exhaled nitric oxide measurements in asthma. *Pediatr Allergy Immu.*, 2006, 17(3), 189–193.

8 Selby A. et al. Are exhaled nitric oxide measurements using the portable NIOX MINO repeatable? *Resp. Res.*, 2010, 11(43), 1–9.

9Turner, A.P.F. and Magan, N. Electronic noses and disease diagnostics. *Nature reviews - Microbiology*, 2004, 2, 161-166.

### 5.3.2. Graphène pour la détection d'ADN circulants par la technologie SEEC (société Nanolane, plateforme de diagnostic de pathologies génétique Lille2).

Un autre projet consistant à développer un test rapide de diagnostic médical basé sur une détection optique sans marqueur a été initié grâce à notre collaboration avec la société Nanolane. Nous proposons de développer des tests génétiques pour le diagnostic prénatal (Trisomies) et de cancer en détectant les ADN circulants grâce à la ellipsométrie exaltée de contraste de surface (SEEC).

Le cancer touche annuellement plus de 14 millions de personnes et cause la mort de plus de 8 millions de patients. Un des facteurs clés pour augmenter le taux de survie du patient est le diagnostic précoce de la maladie. En effet, celui-ci permet un traitement plus efficace, plus ciblé et mieux vécu par le patient. A titre d'exemple, le taux de guérison des patients après un cancer du sein, des ovaires et de l'intestin pourrait atteindre 90% avec un diagnostic précoce [<http://www.cancerresearchuk.org/>]. Concernant le diagnostic prénatal, il est également nécessaire de procéder à des analyses génétiques rapides et non invasives afin d'éviter un stress familial dû au retard des résultats et aux risques de fausse-couche lorsqu'une amniocentèse est réalisée.

D'un point de vue économique, le marché du diagnostic du cancer atteindra près de 13,1 milliards de dollars en 2020 avec un développement attendu élevé pour la médecine personnalisée (<http://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/cancer-diagnostics.asp>). Quant au marché du diagnostic

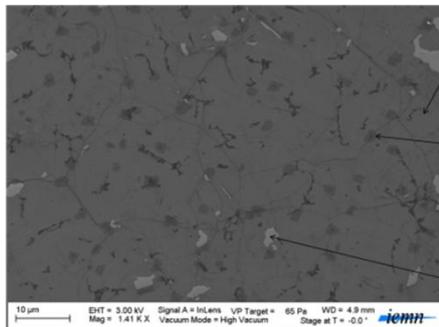
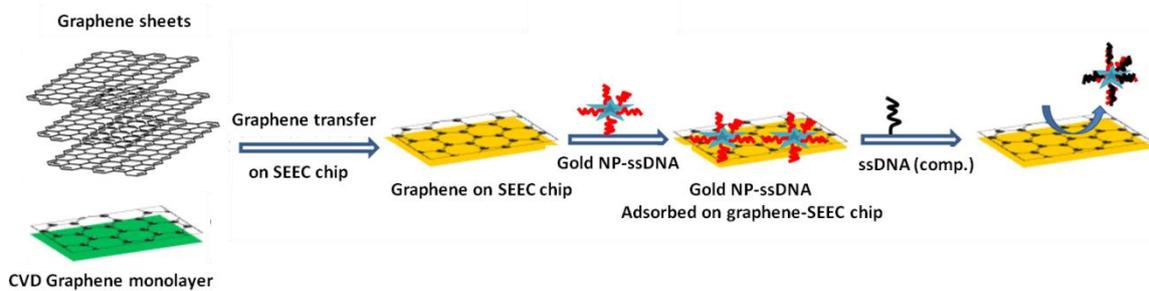
prénatal, il était en 2010 de 5,35 milliards de dollars avec une croissance annuelle prévue de 4,35% permettant d'atteindre un marché de 5,89 milliards de dollars d'ici 2018.

Depuis la découverte à la fin des années 90 de molécules d'ADN et d'ARN foetaux cellulaires circulants (cffDNA et cffRNA) dans le plasma sanguin maternel, de nouvelles possibilités de diagnostic prénatal non invasif (DPNI) sont apparues.<sup>1</sup> Par exemple, les DPNI, qui ne nécessitent que des échantillons de sang prélevés par simple prise de sang, permettrait d'éviter les fausses couches liées aux procédures des techniques invasives actuelles (à savoir l'amniocentèse).

Ces dernières années ont vu la montée en puissance des nouvelles technologies qui ont permis de nouvelles possibilités de diagnostic génétique. De nombreuses sociétés ont développé leur propre système de séquençage nouvelle génération (NGS). Pour n'en citer que quelques-unes nous avons la société Ion Torrent PGM qui propose un système basé sur l'utilisation de transistor à effet de champ sensible aux ions (IS-FET) et la société Illumina qui utilise la méthode de sanger améliorée permettant un séquençage à moins de 1000 dollars.

Nous proposons le développement d'un équipement de diagnostic génétique innovant basé sur le couplage d'un procédé inédit de suivi de l'hybridation de brins d'ADN et d'une technique d'analyse optique sans marquage développée par la société Nanolane (Microscopie SEEC) pour la détection d'ADN circulants en temps-réel.

Le principe de la détection est présenté dans la **figure 1**. La stratégie consiste dans un premier temps à déposer des couches de graphène sur les surfaces SEEC, surface multicouches permettant d'exalter le contraste en ellipsométrie. Une fois le graphène déposé, des particules d'or (20-40 nm) portant un brin d'ADN monocaténaire (ADNss) sont déposées. Ces particules d'or conjuguées à l'ADNss font alors office de sonde. L'ADNss interagira alors avec le graphène par des interactions de type empilement de liaisons  $\pi$  ( $\pi$  stacking). Lors de l'hybridation avec son ADN complémentaire, la formation d'un duplexe (double hélice d'ADN) conduira au départ des particules d'or de la surface. Cette disparition sera visualisée par SEEC. Ce procédé permettra la détection sensible de l'hybridation d'ADN (disparition des particules d'or). Si un ADN non-complémentaire est injecté, aucun duplexe ADN-ADN ne sera formé. Dans ce cas, les particules d'or resteront sur le graphène. Des résultats préliminaires ont été obtenus montrant la faisabilité de la méthode (**figure 2**). En effet, en injectant un brin d'ADN complémentaire à celui fixé sur la particule d'or et présent sur la surface SEEC, nous observons le départ des particules d'or (microscopie électronique). Par contre, quand un brin non-complémentaire est injecté, les particules d'or sont toujours présentes. La validation de la technique par SEEC est en cours.

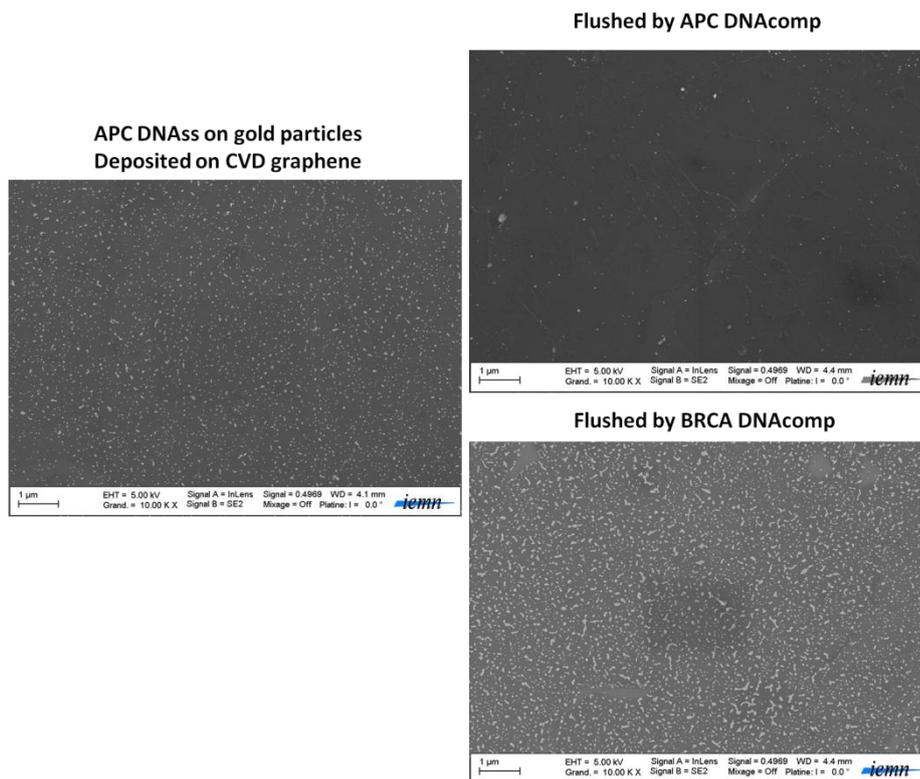


SEM image of CVD Graphene monolayer on SEEC chip



Visualization of gold particles (40 nm) via SEEC technique

**Figure 1:** Schéma de principe de la méthode de détection de l'hybridation ADN-ADN ainsi que des images en microscopie électronique d'un feuillet de graphène déposé sur des surfaces SEEC et une image en SEEC d'un réseau de particules d'or (40 nm) obtenu par lithographie et métallisation.



**Figure 2 :** Premier tests effectués avec des particules d'or couplées à l'ADNs APC déposées sur du graphène (Images en microscopie électronique). Des séquences d'ADN complémentaire (APC DNComp, haut) ou non complémentaire (BRCA, bas) sont mises en contact avec les particules.

Grâce à sa sensibilité, la microscopie SEEC permettra d'observer tout échantillon de taille nanométrique (même en dessous de la limite de diffraction) dans l'air ou dans le liquide. Les premiers résultats ont été obtenus récemment, ce qui est prometteur pour la suite du projet.

Cet outil diagnostique sera:

- **Rapide (< 20min)** contre plusieurs heures actuellement (ex : 2h30 pour un test NGS Illumina)  
**A haut-débit (jusqu'à 120 analyses/jour)** encore 5-15 jours ouvrables pour 1 résultat (SeraCare de Cerba).
- **A faible coût (< 50€)** contre plusieurs centaines € aujourd'hui (375\$ pour un test PCR Myriad Gen).
- **Multiplexage** (analyse simultanée de plusieurs pathologies génétiques)
- **Non invasive** (analyse à partir d'une simple goutte de sang).
- **Précis**: détection spécifique de l'ADNc pour la détermination de la caractéristique tumorale pertinente au choix des thérapies ciblées.
- **Quantitatif**: dénombrement de l'ADNc pour l'évaluation de la progression tumorale pertinente au choix du traitement du cancer du patient.
- **Portable** (idéal pour le diagnostic «Point of Care»). À l'IEMN, un système microfluidique ad hoc peut être conçu grâce à la plate-forme de micro-nanofabrication pour transporter des échantillons, des réactifs et des tampons.

La capacité de la technologie à être dimensionnée sous un format d'équipements dits 'Point of Care' et sa facilité d'utilisation en feront un outil très pertinent de diagnostic précoce de maladie grave. L'adaptabilité de la technique et la capacité d'analyse multiplexe permettra d'étendre le champ du diagnostic à de nombreux types de pathologies génétiques au-delà du cancer : trisomies, hémochromatose, thromphilie, maladie de Huntington...

D'autres tests de diagnostic seront envisagés en utilisant notamment les "aptamers" comme sondes spécifiques.

#### **Références :**

<http://www.cancerresearchuk.org/>

<http://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/cancer-diagnostics.asp>

1 Lo et al., 2007 Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection. *Nat. Med.*, 2007, 13, 218-223.

#### **5.4. Capteurs pour les neurosciences - Culture et étude d'organoïdes (minicerveau) dans un système de type laboratoire sur puce.**

---

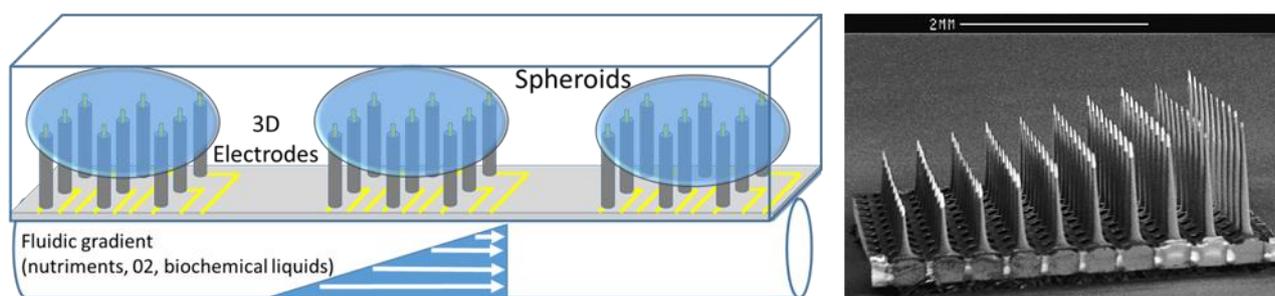
Cette nouvelle thématique est conduite en collaboration avec plusieurs équipes de l'IEMN, le centre de recherche Jean-Pierre Aubert (JParc-Inserm UMR S1172), l'université de Mons (équipe de mécanobiologie) et le groupe SEPIA (CEA-Fontenay aux roses). Projet soumis à l'ANR, non retenu.

Dans le domaine des neurosciences et de la neurologie, la modélisation des mauvaises conformations des protéines (en particulier la protéine Tau), dans un contexte de réseau neuronal 3D complexe, est une nécessité afin

d'identifier les mécanismes responsables de la propagation de ces pathologies. Ce projet vise à comparer les caractéristiques physiopathologiques des systèmes organotypiques obtenus à partir de tranches de cerveau de souris humanisés avec celles, *in vitro*, d'organoïdes générés à partir de cellules souches neurales de souris ou de cellules souches humaines pluripotentes induites (IPSCs). Pour ce faire, une solution originale intégrant un réseau d'électrodes 3D au sein d'un dispositif microfluidique dédié à la culture sur le long terme d'organoïdes est proposé. Cette approche donnera l'occasion d'étudier la propagation de Tau, par voie stéréotypique, d'une zone du cerveau à une autre tout en développant une alternative à l'expérimentation animale.

Le développement d'une telle plateforme intégrée est difficile et nécessite l'implication d'équipes multidisciplinaires. Cette plateforme permettra simultanément (i) de surveiller les activités neuronales électriques sur le long terme au sein d'organoïdes cérébraux, (ii) d'appliquer des agents biologiques, physiques ou chimiques sur des zones bien définies du réseau neuronal, (iii) de maintenir la viabilité cellulaire et les différentes fonctions en alimentant en nutriments et oxygène l'intérieur des organoïdes cérébraux (utilisation de "nanopaille").

Ce système sera utilisé dans un premier temps pour étudier la question physiopathologique de la propagation de la pathologie Tau (maladie d'Alzheimer). En parallèle, le microsystème sera optimisé pour le criblage de molécules médicament pouvant bloquer cette propagation des agrégats Tau au reste du réseau.



**Figure 1:** Schéma de principe du dispositif à microélectrodes verticales pour l'étude des minicerveaux sur le long terme. À droite, une puce de type "Utah ARRAY" possédant des longueurs variables pour sonder différentes zones en profondeur.

Un autre aspect de ce projet est de détecter, par SALDI-MS, la présence de peptides A $\beta$ -amyloïdes (A $\beta$  1-42 par ex.) sécrétés par un organoïde issu de cellules iPSC de patients atteints d'Alzheimer. Le but étant de venir regarder l'influence de certains médicaments sur les dépôts amyloïdes, par exemple les inhibiteurs ciblant les enzymes  $\beta$ -secrétase et  $\gamma$ -secrétases. Si le médicament a un effet positif, on aura une baisse de la dégradation de la protéine APP générant ces peptides.

## Références

---

- <sup>1</sup> R. G. Treuting and S. M. Arnold. Orientation habits of metal whiskers. *Acta Met.*, 1957, 5, 598.
- <sup>2</sup> R. S. Wagner and W. C. Ellis. Vapor-liquid-solid mechanism of single crystal growth. *Appl. Phys. Lett.*, 1964, 4, 89.
- <sup>3</sup> C. N. R. Rao, F. L. Deepak, G. Gundiah and A. Govindaraj. Inorganic nanowires. *Progress in Solid State Chemistry*, 2003, 31, 5-147.
- <sup>4</sup> W. Ostwald. *Lehrbuch der Allgemeinen Chemie*, 1896, vol.2, part 1. Leipzig, Germany.
- <sup>5</sup> S. Krylyuk, A. V. Davydov and I. Levin. Tapering control of Si nanowires grown from SiCl<sub>4</sub> at reduced pressure. *ACS Nano*, 2011, 5, 656-664.
- <sup>6</sup> N. Dendane, O. Melnyk, T. Xu, B. Grandidier, R. Boukherroub, D. Stiévenard and Y. Coffinier. Direct characterization of native chemical ligation of peptides on silicon nanowires. *Langmuir*, 2012, 28, 13336-13344.
- <sup>7</sup> D. E. Perea, J. E. Allen, S. J. May, B. W. Wessels, D. N. Seidman and L. J. Lauhon, *Nano Lett.*, 2006, 6, 181.
- <sup>8</sup> T. Ishiyama, S. Nakagawa and T. Wakamatsu. Growth of epitaxial silicon nanowires on a Si substrate by a metal-catalyst-free process. *Sci. Rep.*, 2016, 6, 1-8.
- <sup>9</sup> F. Oehler, P. Gentile, T. Baron, M. Den Hertog, J. Rouvière and P. Ferret. The morphology of silicon nanowires grown in the presence of trimethylaluminium. *Nanotechnology*, 2009, 20, 245602.
- <sup>10</sup> D. E. Perea, J. E., Allen, S. J. May, B. W. Wessels, D. N. Seidman and L. J. Lauhon. Three-dimensional nanoscale composition mapping of semiconductor nanowires. *Nano Lett.*, 2006, 6, 181-185.
- <sup>11</sup> T. Xu, J. P. Nys, B. Grandidier, D. Stiévenard, Y. Coffinier, R. Boukherroub, R. Larde, E. Cadel and P. Pareige. Growth of Si nanowires on micropillars for the study of their dopant distribution by atom probe tomography. *J. Vac. Sci. Technol. B Microelectron. Nanometer Struct.*, 2008, 26, 1960-1963.
- <sup>12</sup> C. Yang, Z. H. Zhong and C. M. Lieber. Encoding Electronic Properties by Synthesis of Axial Modulation-Doped Silicon Nanowires. *Science*, 2005, 310, 1304-1307.
- <sup>13</sup> B. Tian, X. Zheng, T. J. Kempa, Y. Fang, N. Yu, G. Yu, J. Huang and C. M. Lieber. Coaxial silicon nanowires as solar cells and nanoelectronic power sources. *Nature*, 2007, 449, 885-889.
- <sup>14</sup> B. Tian, P. Xie, T. J. Kempa, D. C. Bell and C. M. Lieber. Single-crystalline kinked semiconductor nanowire superstructures. *Nature Nanotech.*, 2009, 4, 824-829.
- <sup>15</sup> S. Szunerits, Y. Coffinier and R. Boukherroub. "Diamond nanowires: A recent success story for biosensing." published in *Nanosensor Technology*. Springer series on chemical sensors and biosensors, Springer, Heidelberg 2015.
- <sup>16</sup> S. Szunerits, Y. Coffinier, E. Galopin, J. Brenner and R. Boukherroub. Preparation of boron-doped diamond nanowires and their application for sensitive electrochemical detection of tryptophan. *Electrochem. Commun.* 2010, 12, 438-441.
- <sup>17</sup> Y. Coffinier, E. Galopin, S. Szunerits and R. Boukherroub. Preparation of superhydrophobic and oleophobic diamond nanograss array. *J. Mater. Chem.*, 2010, 20, 10671-10675.
- <sup>18</sup> Q. Wang, P. Subramanian, M. Li, W. S. Yeap, K. Haenen, Y. Coffinier, R. Boukherroub and S. Szunerits. Non-enzymatic glucose sensing on long and short diamond nanowire electrodes. *Electrochem. Commun.*, 2013, 34, 286-290.

- 
- <sup>19</sup> Y. Coffinier, E. Galopin, S. Szunerits and R. Boukherroub. Preparation of superhydrophobic and oleophobic diamond nanoglass array. *J. Mater. Chem.*, 2010, 20, 10671-10675.
- <sup>20</sup> P. Subramanian, S. Kolagatla, S. Szunerits, Y. Coffinier, K. Haenen, R. Boukherroub and A. Schechter. AFM and Raman investigation of Boron-doped diamond nanowires electrodes and single diamond nanowires of different doping levels. *J. Phys. Chem. C*, 2017, 121, 3397-3403.
- <sup>21</sup> M. Wei, C. Terashima, M. Lv, A. Fujishima and Z. Z. Gu. Boron-doped diamond nanoglass array for electrochemical sensors. *Chem. Commun.*, 2009, 3624-3626.
- <sup>22</sup> Y. Coffinier, R. Boukherroub and S. Szunerits. "Carbon-Based Nanostructures for Matrix-Free Mass Spectrometry" published in *Carbon Nanoparticles and Nanostructures*, Springer international publishing Switzerland, 2016
- <sup>23</sup> L. Marcon, A. Addad, Y. Coffinier, and R. Boukherroub. Cell micropatterning on superhydrophobic diamond nanowires. *Acta Biomaterialia*, 2012, 9, 4585-4591.
- <sup>24</sup> Q. Wang, A. Vasilescu, P. Subramanian, A. Vezeanu, V. Andrei, Y. Coffinier, M. Li, R. Boukherroub and S. Szunerits. Simultaneous electrochemical detection of tryptophan and tyrosine using boron-doped diamond and diamond nanowire electrodes. *Electrochem. Commun.*, 2013, 35, 84-87.
- <sup>25</sup> P. Subramanian, Y. Coffinier, D. Steinmüller-Nethl, J. Foord, R. Boukherroub and S. Szunerits. Diamond Nanowires decorated with metallic nanoparticles: a novel electrical interface for the immobilization of histidinylated biomolecules. *Electrochimica Acta*, 2012, 110, 4-8.
- <sup>26</sup> P. Subramanian, A. Motorina, W. S. Yeap, K. Haenen, Y. Coffinier, V. Zaitsev, J. Niedziolka-Jonsson, R. Boukherroub and S. Szunerits. Impedimetric immunosensor based on diamond nanowires modified with nickel nanoparticles. *Analyst*, 2014, 139, 1726-1731.
- <sup>27</sup> Y. Coffinier, S. Szunerits, H. Drobecq, O. Melnyk and R. Boukherroub. Diamond nanowires for highly sensitive matrix-free mass spectrometry analysis of small molecules. *Nanoscale*, 2012, 4, 231-238.
- <sup>28</sup> S. Szunerits, Y. Coffinier and R. Boukherroub. Diamond nanowires: A novel platform for electrochemistry and matrix-free mass spectrometry. *Sensors*, 15, 2015, 12573-12593.
- <sup>29</sup> Q. Wang, Y. Coffinier, M. Li, R. Boukherroub and S. Szunerits. Light-triggered release of biomolecules from diamond nanowire electrodes. *Langmuir*, 2016, 32, 6515-6523.
- <sup>30</sup> H. V. Jansen, M. J. de Boer, K. Ma, M. Gironès, S. Unnikrishnan, M. C. Louwerse and M. C. Elwenspoek. *J. Micromech. Microeng.*, 2010, 20, 075027.
- <sup>31</sup> H. Savin, P. Repo, G. von Gastrow, P. Ortega, E. Calle, M. Garín and R. Alcubilla. Black silicon solar cells with interdigitated back-contacts achieve 22.1% efficiency. *Nature Nanotech.*, 2015, 10, 624-628.
- <sup>32</sup> J. Kim and C. Kim. Nanostructured surfaces for dramatic reduction of flow resistance in droplet-based microfluidics. *Proc. IEEE Int. Conf. MEMS*, 2002, 479-482.
- <sup>33</sup> D. Dimova-Malinovska, M. Sendova-Vassileva, N. Tzenov and M. Kamenova. Preparation of thin porous silicon layers by stain etching. *Thin Solid Films*, 1997, 297, 9-12.
- <sup>34</sup> X. Li and P. W. Bohn. Metal-assisted chemical etching in HF/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produces porous silicon. *Appl. Phys. Lett.*, 2000, 77, 2572.

- 
- <sup>35</sup> K. Peng, Y. Yan, S. Gao and J. Zhu. Dendrite-assisted growth of silicon nanowires in electroless metal deposition. *Advanced functional materials*, 2003, 13, 127-132.
- <sup>36</sup> G. Piret, H. Drobecq, Y. Coffinier, O. Melnyk and R. Boukherroub. Matrix-free laser desorption/ionization mass spectrometry on silicon nanowire arrays prepared by chemical etching of crystalline silicon. *Langmuir*, 2010, 26, 1354–1361.
- <sup>37</sup> T. P. N. Nguyen, Y. Coffinier, V. Thomy and R. Boukherroub. Fabrication of silicon nanostructures using metal-assisted etching in NaBF<sub>4</sub>. *Physica status solidi A*, 2013, 210, 2178-2182.
- <sup>38</sup> M. Dupré, C. Enjalbal, S. Cantel, J. Martinez, N. Megouda, T., Hadjersi, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Comparative study of different silicon-based nanostructures for laser desorption ionization mass spectrometry detection of peptides mixtures. *Anal. Chem.*, 2012, 84, 10637-44.
- <sup>39</sup> N. Megouda, T. Hadjersi, Y. Coffinier, S. Szunerits and R. Boukherroub. Investigation of morphology, reflectance and photocatalytic activity of nanostructured silicon surfaces. *Microelectronic Engineering*, 2016, 159,94-101.
- <sup>40</sup> Z. Huang, T. Shimizu, S. Senz, Z. Zhang, X. Zhang, W. Lee, N. Geyer and U. Gösele. Ordered arrays of vertically aligned [110] silicon nanowires by suppressing the crystallographically preferred <100> etching directions. *Nano Lett.*, 2009, 9, 2519-2525.
- <sup>41</sup> Z. Huang, N. Geyer, P. Werner, J. de Boor and U. Gosele. Metal-assisted chemical etching of silicon : a review. *Adv. Mater.*, 2011, 23, 285-308.
- <sup>42</sup> M. Aizawa, A. M. Cooper, M. Malac and J. M. Buriak. Silver nano-inclusions on germanium. *Nano Lett.*, 2005, 5, 815-819.
- <sup>43</sup> Y. Yasukawa, H. Asoh and S. Ono. Site-selective chemical etching of GaAs through a combination of self-organized spheres and silver particles as etching catalyst. *Electrochem. Commun.*, 2008, 10, 757-760.
- <sup>44</sup> Y. Coffinier and R. Boukherroub. "Surface modification of semiconducting silicon nanowires for biosensing applications" published in *Semiconducting silicon nanowires for biomedical applications* by Jefferey L. Coffey, Woodhead publishing, 2014.
- <sup>45</sup> Y. Coffinier and R. Boukherroub. "Surface chemistry of porous silicon" published in *Porous silicon: From formation to application* by Ghenadii Korotcenkov, Taylor & Francis group, 2016.
- <sup>46</sup> Y. Coffinier, C. Olivier, A. Perzyna, B. Grandidier, X. Wallart, J. O. Durand, O. Melnyk, and D. Stiévenard. Semicarbazide-Functionalized Si (111) surfaces for the site-specific immobilization of peptides. *Langmuir*, 2005, 21, 1489-1496.
- <sup>47</sup> C. Olivier, A. Perzyna, Y. Coffinier, B. Grandidier, D. Stiévenard, O. Melnyk, and J.O. Durand. Detecting the chemoselective ligation of peptides to silicon with the use of Cobalt-carbonyl labels. *Langmuir*, 2005, 22, 7059-7065
- <sup>48</sup> Y. Coffinier, S. Szunerits, B. Marcus, R. Desmet, O. Melnyk, L. Gengembre, E. Payen, D. Delabouglise and R. Boukherroub. Covalent linking of peptides onto oxygen-terminated boron-doped diamond surfaces. *Diamond and related materials*, 2007, 16, 892-898

- 
- <sup>49</sup> Y. Coffinier, S. Szunerits, C. Jama, R. Desmet, O. Melnyk, B. Marcus, L. Gengembre, E. Payen, D. Delabouglise and R. Boukherroub. Peptide immobilization on amine-terminated boron-doped diamond surfaces. *Langmuir*, 2007, 23, 4494-4497;
- <sup>50</sup> Y. Coffinier, R. Boukherroub, X. Wallart, J. P. Nys, J. O. Durand, D. Stievenard and B. Grandidier. Covalent functionalization of silicon nitride surfaces by semicarbazide group. *Surface Science*, 2007, 601, 5492-5498.
- <sup>51</sup> I. Alves, I. Kurylo, Y. Coffinier, A. Siriwardena, V. Zaitsev, E. Harté, R. Boukherroub and S. Szunerits. Plasmon waveguide resonance for sensing glycan–lectin interactions. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 873, 71-79.
- <sup>52</sup> S. Cosnier and A. Senillou. An electrogenerated poly(pyrrole-benzophenone) film for the photografting of proteins. *Chem. Commun.*, 2003, 3, 414-415.
- <sup>53</sup> T. Konry, A. Novoa, Y. Shemer-Avni, N. Hanuka, S. Cosnier, A. Lepellec and R. S. Marks. *Anal. Chem.*, 2005, 77, 1771-1779.
- <sup>54</sup> G. Dorman and G. D. Prestwich. Using photolabile ligands in drug discovery and development. *Trends Biotechnol.*, 2000, 18, 64-77.
- <sup>55</sup> G. Dorman and G. D. Prestwich. Benzophenone photophores in biochemistry. *Biochemistry* 1994, 33, 5661-5673.
- <sup>56</sup> L. Marcon, M. Wang, Y. Coffinier, F. Le Normand, O. Melnyk, R. Boukherroub and S. Szunerits. Photochemical Immobilization of Proteins and Peptides on Benzophenone-Terminated Boron-Doped Diamond Surfaces. *Langmuir*, 2010, 26, 1075 -1080.
- <sup>57</sup> S. Kumbhat, K. Sharma, R. Gehlot, A. Solanki and V. Joshi. Surface plasmon resonance based immunosensor for serological diagnosis of dengue virus infection. *J. Pharmaceut. and Biomed. Anal.*, 2010, 52, 255-259.
- <sup>58</sup> T. Minamiki, T. Minami, Y. Sasaki, S. I. Wakida, R. Kurita, O. Niwa and S. Tokito. Label-Free Detection of Human Glycoprotein (CgA) Using an Extended-Gated Organic Transistor-Based Immunosensor. *Sensors*, 2016, 16, 2033.
- <sup>59</sup> D. L. Jeanmaire and R. P. Van Duyne. Surface raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *J. Electroanal. Chem.*, 1977, 84, 1-20.
- <sup>60</sup> S. Schlücker. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy : Concepts and chemical applications. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, 53, 4756-4795.
- <sup>61</sup> E. Galopin, J. Barbillat, Y. Coffinier, S. Szunerits, G. Patriarche and R. Boukherroub. Silicon Nanowires Coated with Silver Nanostructures as Ultrasensitive Interfaces for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2009, 1, 1396-1403.
- <sup>62</sup> S. Amdouni, Y. Coffinier, S. Szunerits, M. A. Zaïbi, M. Oueslati and R. Boukherroub. Catalytic activity of silicon nanowires decorated with silver and copper nanoparticles. *Semicond. Sci. Technol.*, 2015, 31, 014011.
- <sup>63</sup> N. Megouda, Y. Coffinier, S. Szunerits, T. Hadjersi, O. ElKechaib and R. Boukherroub. Photocatalytic activity of silicon nanowires under UV and visible light irradiation. *Chem. Commun.*, 2011, 47, 991-993.
- <sup>64</sup> O. Fellahi, A. Barras, G. H. Pan, Y. Coffinier, T. Hadjersi, M. Maamache, S. Szunerits and R. Boukherroub. Reduction of Cr(VI) to Cr(III) using silicon nanowire arrays under visible light irradiation. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 304, 441-447.

- 
- <sup>65</sup> A. Hamdi, L. Boussekey, P. Roussel, A. Addad, R. Boukherroub, H. Ezzaouia and Y. Coffinier. Hydrothermal preparation of MoS<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/Si nanowires composite with enhanced photocatalytic performance under visible light. *Material & Design*, 2016, 109, 634-643.
- <sup>66</sup> Y. Battie, O. Ducloux, P. Thobois, Y. Coffinier and A. Loiseau. Evaluation of sorted semi-conducting carbon nanotube films for gas sensing applications. *Comptes rendus Physique*, 2010, 11,397-404.
- <sup>67</sup> H. Alhmoud, B. Delalat, X. Ceto, R. Elnathan, A. Cavallara, K. Vasilev and N. H. Voelcker. Antibacterial properties of silver dendrite decorated silicon nanowires. *RSC Adv.*, 2016, 6, 65976-65987.
- <sup>68</sup> O. Fellahi, R. K. Sarma, M. R. Das, R. Saikia, L. Marcon, Y. Coffinier, T. Hadjersi, M. Maamache and R. Boukherroub. The antimicrobial effect of silicon nanowires decorated with silver and copper nanoparticles. *Nanotechnology*, 2013, 24, 495101-495108.
- <sup>69</sup> B. L. Ellis, P. Knauth and T. Djenizian. Three-dimensional self-supported metal oxides for advanced energy storage. *Adv. Mater.*, 2014, 26, 3368-3397.
- <sup>70</sup> R. R. Devarapalli, S. Szunerits, Y. Coffinier, M. V. Shelke and R. Boukherroub. Glucose Derived Porous Carbon Coated Silicon Nanowires as Efficient Electrodes for Aqueous Micro-Supercapacitors. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2016, 8, 4298-4302.
- <sup>71</sup> R. N. Wenzel. Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Ind. Eng. Chem.*, 1936, 28, 988.
- <sup>72</sup> A. Cassie and S. Baxter. Wettability of porous surfaces. *Trans. Faraday Soc.*, 1944, 40, 546.
- <sup>73</sup> A. Tuteja, W. Choi, M. Ma, J. M. Mabry, S. A. Mazzella, G. C. Rutledge, G. H. McKinley and R. E. Cohen. Designing superoleophobic surfaces. *Science*, 2007, 318, 1618-1622.
- <sup>74</sup> V. Senez, V. Thomy and R. Dufour. *Nanotechnologies for synthetic super non-wetting surfaces*, John Wiley & Sons EDITIONS, 2014
- <sup>75</sup> T. P. N. Nguyen, P. Brunet, Y. Coffinier and R. Boukherroub. Quantitative Testing of Robustness on Superomniphobic Surfaces by Drop Impact. *Langmuir*, 2010, 26, 18369-73.
- <sup>76</sup> R. Dufour, M. Harnois, Y. Coffinier, V. Thomy, R. Boukherroub and V. Senez. Engineering Sticky Superomniphobic Surfaces on Transparent and Flexible PDMS Substrate. *Langmuir*, 2010, 26, 17242-17247.
- <sup>77</sup> A. Tuteja, W. Choi, J. M. Mabry, G. H. McKinley and R. E. Cohen. Robust omniphobic surfaces. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2008, 105, 18200-18205.
- <sup>78</sup> W. Wu, X. Wang, D. Wang, M. Chen, F. Zhou, W. Liu and Q. Xue. Alumina nanowire forests via unconventional anodization and super-repellency plus low adhesion to diverse liquids. *Chem. Commun.*, 2009, 1043-1045.
- <sup>79</sup> F. Lapierre, P. Brunet, Y. Coffinier, V. Thomy, R. Blossey and R. Boukherroub. Electrowetting and droplet impalement experiments on superhydrophobic multiscale structures. *Faraday Discuss.*, 2010, 146, 125-139.
- <sup>80</sup> F. Lapierre, V. Thomy, Y. Coffinier, R. Blossey and R. Boukherroub. Reversible Electrowetting on Superhydrophobic Double-Nanotextured Surfaces. *Langmuir*, 2009, 25, 6551-6558.
- <sup>81</sup> T. P. N. Nguyen, R. Boukherroub, V. Thomy and Y. Coffinier. Micro-Nanostructured silicon based superomniphobic surfaces. *J. Colloid Interface Sci.*, 2014, 416, 280-288.

- 
- <sup>82</sup> G. Perry, Y. Coffinier, V. Thomy and R. Boukherroub. Sliding droplets on superomniphobic zinc oxide nanostructures. *Langmuir*, 2012, 28, 389-395.
- <sup>83</sup> T. S. Wong, S. H. Kang, S. K. Y. Tang, E. J. Smythe, B. D. Hatton, A. Grinthal and J. Aizenberg. Bioinspired self-repairing slippery surfaces with pressure-stable omniphobicity. *Nature*, 2011, 447, 443-447.
- <sup>84</sup> P. Kim, T. S. Wong, J. Alvarenga, M. J. Kreder, W. E. Adorno-Martinez and J. Aizenberg. Liquid-Infused Nanostructured Surfaces with Extreme Anti-Ice and Anti-Frost Performance. *ACS Nano*, 2012, 8, 6569-6577.
- <sup>85</sup> A. K. Epstein, T. S. Wong, R. A. Belisle, E. M. Boggs and J. Aizenberg. Liquid-infused structured surfaces with exceptional anti-biofouling performance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, 109, 13182-13187.
- <sup>86</sup> J. Yin, M. L. Mei, Q. Li, R. Xia, Z. Zhang and C. H. Chu. Self-cleaning and antibiofouling enamel surface by slippery liquid-infused technique. *Sci. Rep.*, 6, 25924.
- <sup>87</sup> S. Zouaghi, T. Six, S. Bellayer, S. Moradi, S. Hatzikiriakos, T. Dargent, V. Thomy, Y. Coffinier, C. André, G. Delaplace, M. Jimenez. Antifouling biomimetic stainless steel for heat-exchangers in dairy industry. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, 9, 26565-26573.
- <sup>88</sup> A. E. Kirby and A. R. Wheeler. Digital microfluidic: An emerging sample preparation platform for mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 2013, 85, 6178-6184.
- <sup>89</sup> N. Verplanck, E. Galopin, J.-C. Camart, V. Thomy, Y. Coffinier and R. Boukherroub. Reversible Electrowetting on Superhydrophobic Silicon Nanowires. *Nano Lett.*, 2007, 7, 813.
- <sup>90</sup> P. Brunet, F. Lapierre, V. Thomy, Y. Coffinier and R. Boukherroub. Extreme Resistance of Superhydrophobic Surfaces to Impalement: Reversible Electrowetting Related to the Impacting/Bouncing Drop Test. *Langmuir*, 2008, 24, 11202-11208.
- <sup>91</sup> F. Lapierre, M. Jonsson-Niedziolka, Y. Coffinier, R. Boukherroub and V. Thomy. Droplet transport by ElectroWetting: Lets get rough! *Microfluidics and Nanofluidics*, 2013, 15, 327-336.
- <sup>92</sup> F. Lapierre, Y. Coffinier, R. Boukherroub and V. Thomy. Electro-(de)wetting on superhydrophobic surfaces. *Langmuir*, 2013, 29, 13346-13351.
- <sup>93</sup> M. Jönsson-Niedziółka, F. Lapierre, Y. Coffinier, S. J. Parry, F. Zoueshtiagh, T. Foat, V. Thomy and R. Boukherroub. EWOD driven cleaning of bioparticles on hydrophobic and superhydrophobic surfaces. *Lab Chip*, 2011, 11, 490-496.
- <sup>94</sup> Y. Koc, A. J. deMello, G. McHale, M. I. Newton, P. Roach and N. J. Shirtcliffe. Nano-scale superhydrophobicity: suppression of protein adsorption and promotion of flow-induced detachment. *Lab Chip*, 2008, 8, 582-586.
- <sup>95</sup> S. L. S. Freire and B. Tanner. Additive-Free Digital Microfluidics. *Langmuir*, 2013, 29, 9024-9030.
- <sup>96</sup> V. V. Luk, C. H. G. Mo and A. Wheeler. Pluronic Additives: A Solution to sticky problems in digital microfluidics. *Langmuir*, 2008, 24, 6382-6389.
- <sup>97</sup> S. H. Au, P. Kumar and A. R. Wheeler. A new angle on pluronic additives: Advancing droplets and understanding in digital microfluidics. *Langmuir*, 2011, 27, 8586-8594.
- <sup>98</sup> S. K. Fan, H. Yang and W. Hsu. Droplet-on-a-wristband: Chip-to-chip digital microfluidic interfaces between replaceable and flexible electrowetting modules. *Lab Chip*, 2011, 11, 343-347.

- 
- <sup>99</sup> G. Perry, V. Thomy, M. R. Das, Y. Coffinier and R. Boukherroub. Inhibiting protein biofouling using graphene oxide in droplet-based microfluidic microsystems. *Lab Chip*, 2012, 12, 1601.
- <sup>100</sup> G. Piret, E. Galopin, Y. Coffinier, R. Boukherroub, D. Legrand and C. Slomianny. Culture of mammalian cells on patterned superhydrophilic/superhydrophobic silicon nanowire arrays. *Soft Matter*, 2011, 7, 8642.
- <sup>101</sup> J. Yang, F. Lu, L.W. Kostiuk and D.Y. Kwok. *J. Micromech. Microeng.*, 2003, 13, 963-970.
- <sup>102</sup> A. Mansouri and L. W. Kostiuk. Giant streaming currents measured in a gold sputtered glass microchannel array. *Chem. Phys. Lett.*, 2016, 646, 81-86.
- <sup>103</sup> S. Pennathur, J. C. T. Eijkel and A. van der Berg. Energy conversion in microsystems: is there a role for micro/nanofluidics? *Lab Chip*, 2007, 7, 1234-7.
- <sup>104</sup> F. Fouché, T. Dargent, Y. Coffinier, A. Treizebré, A. Vlandas, V. Senez. Superhydrophobic surfaces' influence on streaming current based energy harvester *Journal of Physics: Conference Series*. 2016, 773, 012022-4.
- <sup>105</sup> M. Karas, D. Bachmann and F. Hillenkamp. Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules. *Anal. Chem.*, 1985, 57, 2935-2939.
- <sup>106</sup> M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr and F. Hillenkamp. Matrix-assisted ultraviolet laser desorption of nonvolatile compounds. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, 1987, 78, 53-68.
- <sup>107</sup> M. Karas F. and Hillenkamp. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. *Anal. Chem.*, 1988, 60, 2299-2301.
- <sup>108</sup> L. Cohen, E. P. Go and G. Siuzdak. Small-molecule desorption/ionization mass analysis, in MALDI MS. 2007 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. p. 299-337.
- <sup>109</sup> C. H. Feng and C. Y. Lu. A new matrix for analyzing low molecular mass compounds and its application for determination of carcinogenic areca alkaloids by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 2009, 649, 230-235.
- <sup>110</sup> A. Woldegiorgis, F. V. Kieseritzky, E. Dahlstedt, J. Hellberg, T. Brinck and J. Roeraade. Polymer-assisted laser desorption/ionization analysis of small molecular weight compounds. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2004, 18, 841-852.
- <sup>111</sup> A. Tholey and E. Heinzle. Ionic (liquid) matrices for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry - applications and perspectives. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, 386, 24-37.
- <sup>112</sup> K. Tanaka, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida and T. Yoshida. Detection of high mass molecules by laser desorption time-of-flight mass spectrometry. *Second Japan-China Joint Symposium on Mass Spectrometry*. Osaka, Japan. 1987, 185-188.
- <sup>113</sup> J. Sunner, E. Dratz and Y. C. Chen. Graphite surface-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of peptides and proteins from liquid solutions. *Anal. Chem.*, 1995, 67, 4335-4342.
- <sup>114</sup> J. Wei, J. M. Buriak and G. Siuzdak. Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon. *Nature* 1999, 399, 243-246.
- <sup>115</sup> K. P. Law and J. R. Larkin. Recent advances in SALDI-MS techniques and their chemical and bioanalytical applications. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011, 399, 2597-2622.

- 
- <sup>116</sup> R. A. Picca, C. D. Calvano, N. Cioffi and F. Palmisano. Mechanism of nanophase-induced desorption in LDI-MS. A short review. *Nanomaterials*, 2017, 7, 75.
- <sup>117</sup> Y. E. Silina and D. A. Volmer. Nanostructured solid substrates for efficient laser desorption/ionization mass spectrometry (LDI-MS) of low molecular weight compounds. *Analyst*, 2013, 138, 7053-7065.
- <sup>118</sup> C. Y. Shi and C. H. Deng. Recent advances in inorganic materials for LDI-MS analysis of small molecules. *Analyst*, 2016, 141, 2816-2826.
- <sup>119</sup> Y. Coffinier and R. Boukherroub. "Mass spectrometry" publié dans *Porous Silicon Handbook* par Leigh Canham, 2014 (Springer Handbook).
- <sup>120</sup> G. B. Yagnik, R. L. Hansen, A. R. Korte, M. D. Reichert, J. Vela and Y. J. Lee. Large scale nanoparticle screening for small molecule analysis in laser desorption ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 2016, 88, 8926-8930.
- <sup>121</sup> H. W. Tang, K. M. Ng, W. Lu and C.M. Che. Ion desorption efficiency and internal energy transfer in carbon-based surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: desorption mechanism(s) and the design of SALDI substrates. *Anal. Chem.*, 2009, 81, 4720-4729.
- <sup>122</sup> M. Najam-ul-Haq, M. Rainer, C. W. Huck, P. Hausberger, H. Kraushaar and G. N. K. Bonn. Nanostructured diamond-like carbon on digital versatile disc as a matrix-free target for laser desorption/ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2008, 80, 7467-7472.
- <sup>123</sup> Q. H. Min, X. X. Zhang, X. Q. Chen, S. Y. Li and J. J. Zhu. N-doped graphene: an alternative carbon-based matrix for highly efficient detection of small molecules by negative ion MALDI-TOF MS. *Anal. Chem.*, 2014, 86, 9122-9130.
- <sup>124</sup> Y. K. Kim, H. K. Na, S. J. Kwack, S. R. Ryoo, Y. Lee, S. Hong, S. Hong, Y. Jeong and D. H. Min, Synergistic effect of graphene oxide/MWCNT films in laser desorption/ionization mass spectrometry of small molecules and tissue imaging. *ACS Nano*, 2011, 5, 4550-4561.
- <sup>125</sup> M. Yang and T. Fujino. Gold nanoparticles loaded on zeolite as inorganic matrix for laser desorption/ionization mass spectrometry of small molecules. *Chem. Phys. Lett.*, 2014, 592, 160-163.
- <sup>126</sup> Y. Coffinier, I. Kurylo, H. Drobek, S. Szunerits, O. Melnyk, V. N. Zaitsev, and R. Boukherroub. Decoration of silicon nanostructures with copper particles for simultaneous selective capture and mass spectrometry detection of His-tagged model peptide. *Analyst*, 2014, 139, 5155-5163.
- <sup>127</sup> H. N. Abdelhamid and H. F. Wu. Synthesis of a highly dispersive sinapinic acid@graphene oxide (SA@GO) and its applications as a novel surface assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for proteomics and pathogenic bacteria biosensing. *Analyst*, 2015, 140, 1555-1565.
- <sup>128</sup> C. Fleith, S. Cantel, G. Subra, A. Mehdi, J. Ciccione, J. Martinez and C. Enjalbal. Laser desorption ionization mass spectrometry of peptides on a hybrid CHCA organic-inorganic matrix. *Analyst*, 2014, 139, 3748-3754.
- <sup>129</sup> A. R. Korte, S. A. Stopka, N. Morris, T. Razunguzwa and A. Vertes. Large-scale metabolite analysis of standards and human serum by laser desorption/ionization mass spectrometry from silicon nanopost arrays. *Anal. Chem.*, 2016, 88, 8989-8996.
- <sup>130</sup> G. Luo, Y. Chen, G. Siuzdak and A. Vertes. Surface modification and laser pulse length effects on internal energy transfer in DIOS. *J. Phys. Chem. B*, 2005, 109, 24450-24456.

- 
- <sup>131</sup> J. A. Stolee, B. N. Walker, V. Zorba, R. E. Russo and A. Vertes. Laser-nanostructure interactions for ion production. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2012, 14, 8453-8471.
- <sup>132</sup> G. Luo, Y. Chen, H. Daniels, R. Dubrow, and A. Vertes. Internal energy transfer in laser desorption/ionization from silicon nanowires. *J. Phys. Chem. B*, 2006, 110, 13381-13386.
- <sup>133</sup> E. P. Go, J. V. Apon, G. Luo, A. Saghatelian, R. H. Daniels, V. Sahi, R. Dubrow, B. F. Cravatt, A. Vertes and G. Siuzdak. Desorption/ionization on silicon nanowires. *Anal. Chem.*, 2005, 77, 1641-1646.
- <sup>134</sup> M. Dupré, Y. Coffinier, R. Boukherroub, S. Cantel, J. Martinez and C. Enjalbal. Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry of Protein Tryptic Digests On Nanostructured Silicon Plates. *J. Proteomics*, 2012, 75, 1973-1990.
- <sup>135</sup> T. P. N. Nguyen, Y. Coffinier and R. Boukherroub. Synthesis and functional coating of nanostructured silicon as an effective substrate for laser desorption/ionization mass spectrometry. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2016, 16, 7994-7998.
- <sup>136</sup> T. W. Hutchens and T. T. Yip. New desorption strategies for the mass spectrometric analysis of macromolecules. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1993, 7, 576-580.
- <sup>137</sup> M. Merchant and S. R. Weinberger. Recent advancements in surface-enhanced laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry. *Electrophoresis*, 2000, 21, 1164-1177.
- <sup>138</sup> N. Tang, P. Tornatore and S. R. Weinberger. Current developments in SELDI affinity technology. *Mass Spectrom. Rev.*, 2004, 23, 34-44.
- <sup>139</sup> V. Seibert, A. Wiesner, T. Buschmann and J. J. Meuer. Surface-enhanced laser desorption ionization time of-flight mass spectrometry (SELDI TOF-MS) and ProteinChip® technology in proteomics research. *Pathol. Res. Pract.* 2004, 200, 83-94.
- <sup>140</sup> Y. Coffinier, N. Nguyen, H. Drobecq, O. Melnyk, V. Thomy and R. Boukherroub. Affinity surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for peptide enrichment. *Analyst*, 2012, 137, 5527-5532.
- <sup>141</sup> I. Kurylo, A. Hamdi, A. Addad, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Comparison of Ti based coatings on silicon nanowires for phosphopeptides' enrichment and their laser assisted desorption/ionization mass spectrometry detection. *Nanomaterials*, 2017, 7, 272-291.
- <sup>142</sup> I. S. Hosu, M. Sobaszek, M. Ficek, R. Bogdanowicz, H. Drobecq, O. Melnyk, A. Barras, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Carbon nanowalls, a new versatile carbon based interfaces for laser desorption/ionization-mass spectrometry detection of small compounds in real samples. *Nanoscale*, 2017, 9, 9701 - 9715.
- <sup>143</sup> A. Achour, B. E. Belkerk, K. Ait Aissa, S. Vizireanu, E. Gautron, M. Carette, P.-Y. Jouan, G. Dinescu, L. L. Brizoual, Y. Scudeller and M. A. Djouadi. Thermal properties of carbon nanowall layers measured by a pulsed photothermal technique. *Appl. Phys. Lett.*, 2013, 102, 061903-7.
- <sup>144</sup> M. Sobaszek, K. Siuzdak, J. Ryl, M. Sawczak, S. Gupta, S. B. Carrizosa, M. Ficek, B. Dec, K. Darowicki, and R. Bogdanowicz. Diamond Phase (sp<sup>3</sup>-C) Rich Boron-Doped Carbon Nanowalls (sp<sup>2</sup>-C): Physicochemical and Electrochemical Properties. *J. Phys. Chem. C*, 2017, 121, 20821-20833.

- 
- <sup>145</sup> Y. Zhao, G. Deng, X. Liu, L. Sun, H. Li, Q. Cheng, K. Xi and D. Xu. MoS<sub>2</sub>/Ag nanohybrid: A novel matrix with synergistic effect for small molecule drugs analysis by negative-ion matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 2016, 937, 87-95.
- <sup>146</sup> Y. K. Kim, L. S. Wang, R. Landis, C. S. Kim, R. W. Vachet and V. M. Rotello. A layer by layer assembled MoS<sub>2</sub> thin film as an efficient platform for laser desorption/ionization mass spectrometry analysis of small molecules. *Nanoscale*, 2017, 9, 10854-10860.
- <sup>147</sup> A. Hamdi, I. S. Hosu, A. Addad, R. Hartkoorn, H. Drobecq, O. Melnyk, H. Ezzaouia, R. Boukherroub and Y. Coffinier. MoS<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/SiNW surface as an effective substrate for LDI-MS detection of glucose and glutathione in real sample. *Talanta*, 2017, 171, 101-107.
- <sup>148</sup> G. Piret, D. Kim, H. Drobecq, Y. Coffinier, O. Melnyk, P. Schmuki and R. Boukherroub. Surface-assisted laser desorption–ionization mass spectrometry on titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanotube layers. *Analyst*, 2012, 137, 3058-3063.
- <sup>149</sup> M. Lorey, B. Adler, H. Yan, R. Soliymani, S. Ekström, J. Yli-Kauhaluoma, T. Laurell and M. Baumann. Mass-Tag enhanced immuno-laser desorption/ionization mass spectrometry for sensitive detection of intact protein antigens. *Anal. Chem.*, 2015, 87, 5255-5262.
- <sup>150</sup> R. Lemaire, J. Stauber, M. Wisztorski, C. Van Camp, A. Desmons, M. Deschamps, G. Proess, I. Rudlof, A. S. Woods, R. Day, M. Salzet, and I. Fournier. Tag-Mass: Specific molecular imaging of transcriptome and proteome by mass spectrometry based on photocleavable tag. *J. Proteome Res.*, 2007, 6, 2057-2067.
- <sup>151</sup> J. M. Gerdes and H. Waldmann. Direct mass spectrometric monitoring of solid phase organic syntheses. *J. Comb. Chem.*, 2003, 5, 814-820.
- <sup>152</sup> Meng, J. C., Averbuj, C., Lewis, W. G., Siuzdak, G., Finn, M. G. Cleavable linkers for porous silicon-based mass spectrometry. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, 43, 1255-1260.
- <sup>153</sup> I. Kurylo, M. Dupré, S. Cantel, C. Enjalbal, H. Drobecq, S. Szunerits, O. Melnyk, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Characterization of peptide attachment on silicon nanowires by X-Ray photoelectron spectroscopy and mass spectrometry. *Analyst*, 2017, 142, 969-978.
- <sup>154</sup> G. Luo, Y. Chen, G. Siuzdak and A. Vertes. Surface modification and laser pulse length effects on internal energy transfer in DIOS. *J. Phys. Chem. B*, 2005, 109, 24450-6.
- <sup>155</sup> B. N. Walker, J. A. Stolee, D. L. Pickel, S. T. Retterer and A. Vertes. Tailored silicon nanopost arrays for resonant nanophotonic ion production. *J. Phys. Chem. C.*, 2010, 114, 4835-4840.
- <sup>156</sup> Y. S. Xiao, S. T. Retterer, D. K. Thomas, J. Y. Tao and L. He. Impacts of surface morphology on ion desorption and ionization in desorption ionization on porous silicon (DIOS) mass spectrometry. *J. Phys. Chem. C.*, 2009, 113, 3076-3083.
- <sup>157</sup> A. Gorecka-Drzazga, J. Dziuban, W. Drzazga, A. Kraj and J. Silberring. Desorption/ionization mass spectroscopy on array of silicon microtips. *J. Vac. Sci. Technol. B*, 2005, 23, 819-823.
- <sup>158</sup> J. A. Stolee, B. N. Walker, Y. Chen and A. Vertes. Nanophotonic Ion Sources., in *International Symposium on High Power Laser Ablation 2010*, ed. C. R. Phipps. 2010, 1278, 98-110.

- 
- <sup>159</sup> N. J. Morris, H. Anderson, B. Thibeault, A. Vertes, M. J. Powella and T. T. Razunguzwa. Laser desorption ionization (LDI) silicon nanopost array chips fabricated using deep UV projection lithography and deep reactive ion etching. *RSC Adv.*, 2015, 5, 72051.
- <sup>160</sup> S. Li, S. Lamant, J. Carlier, M. Toubal, P. Campistron, X. Xu, G. Vereecke, V. Senez, V. Thomy and B. Nongaillard. High-Frequency Acoustic for Nanostructure Wetting Characterization. *Langmuir*, 2014, 30, 7601-7608.
- <sup>161</sup> J. Guo, B. Wena, R. Melnik, S. ShanYao and T. Li. Geometry and temperature dependent thermal conductivity of diamond nanowires: A non-equilibrium molecular dynamics study. *Phys. E.*, 2010, 43, 155-160.
- <sup>162</sup> O. Zagorodko, J. Spadavecchia, Y. A. Serrano, I. Larroulet, A. Pesquera, A. Zurutuza, R. Boukherroub and S. Szunerits. Highly sensitive detection of DNA hybridization on commercialized graphene-coated surface plasmon resonance interfaces. *Anal. Chem.*, 2014, 86, 11211-11216.
- <sup>163</sup> K. Fuchs. The conductivity of thin metallic films according to the electron theory of metals. *Math. Proc. Camb. Philos. Soc.*, 1938, 34, 100-108.
- <sup>164</sup> S. H. Kim, J. Kim, D. W. Moon and S. Y. Han. Commercial silicon-on-insulator (SOI) wafers as a versatile substrate for laser desorption/ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2013, 24, 167-170.
- <sup>165</sup> A. Hamdi, I. S. Hosu, L. Boussekey, R. Hartkoorn, H. Drobecq, O. Melnyk, H. Ezzaouia, R. Boukherroub and Y. Coffinier. Nanostructured silicon membrane for LDI-MS detection of antibiotics and peptides. En préparation.
- <sup>166</sup> X. He, Q. Chen, Y. Zhang and J. M. Lin. Recent advances in microchip-mass spectrometry for biological analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 2014, 53, 84-97.
- <sup>167</sup> D. Gao, H. Liu, Y. Jiang and J. M. Lin. Recent advances in microfluidics combined with mass spectrometry: technologies and applications. *Lab Chip*, 2013, 13, 3309-3322.
- <sup>168</sup> A. Oedit, P. Vulto, R. Ramautar, P. W. Lindenburg and T. Hankemeier. Lab-on-chip hyphenation with mass spectrometry: strategie for bioanalytical applications. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2015, 31, 79-85.
- <sup>169</sup> K. P. Nichols, S. Azoz, H. J. Gardeniers. Enzyme kinetics by directly imaging a porous silicon microfluidic reactor using desorption/ionization on silicon mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 2008, 80, 8314-8319.
- <sup>170</sup> F. Lapierre, G. Piret, H. Drobecq, O. Melnyk, Y. Coffinier, V. Thomy and R. Boukherroub. High sensitive mass spectrometry analysis of peptides using EWOD/matrix-free LDI-MS device. *Lab Chip*, 2011, 11, 1620-1628.
- <sup>171</sup> F. Lapierre, M. Harnois, Y. Coffinier, R. Boukherroub and V. Thomy. Split and flow: reconfigurable capillary connection for digital microfluidic devices. *Lab Chip*, 2014, 14, 3589-3593.
- <sup>172</sup> X. Dong, J. Cheng, J. Li and Y. Wang. Graphene as a novel matrix for the analysis of small molecules by MALDI-TOF MS. *Anal. Chem.*, 2010, 82, 6208-6214.
- <sup>173</sup> Y. C. Chen, J. Shiea and J. Sunner. Rapid determination of trace nitrophenolic organics in water by combining solid-phase extraction with surface-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2000, 14, 86-90.
- <sup>174</sup> G. A. Breaux, K. B. Green-Church, A. France and P. A. Limbach. Surfactant-aided, matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of hydrophobic and hydrophilic peptides. *Anal. Chem.*, 2000, 72, 1169-1174.

- 
- <sup>175</sup> T. R. Northen, O. Yanes, M. T. Northen, D. Marrinucci, W. Uritboonthai, J. Apon, S. L. Golledge, A. Nordström and G. Siuzdak. Clathrate nanostructures for mass spectrometry. *Nature*, 2007, 449, 1033-1037.
- <sup>176</sup> J. Gao, S. Zhong, Y. Zhou, H. He, S. Peng, Z. Zhu, X. Liu, J. Zheng, B. Xu, H. Zhou. Comparative evaluation of small molecular additives and their effects on peptide/protein identification. *Anal. Chem.*, 2017, 89, 5784-5792.
- <sup>177</sup> T. M. Guinan, O. J. Gustafsson, G. McPhee, H. Kobus, and N. H. Voelcker. Silver Coating for High-Mass-Accuracy Imaging Mass Spectrometry of Fingerprints on Nanostructured Silicon. *Anal. Chem.*, 2015, 87, 11195-11202.
- <sup>178</sup> M. Kurita, R. Arakawa and H. Kawasaki. Silver nanoparticle functionalized glass fibers for combined surface-enhanced Raman scattering spectroscopy (SERS)/surface-assisted laser desorption/ionization (SALDI) mass spectrometry via plasmonic/thermal hot spots. *Analyst*, 2016, 141, 5835-5841.
- <sup>179</sup> X. Zhang, J. Zhao, A. V. Whitney, J. W. Elam and R. P. Van Duyne. Ultrastable substrates for surface-enhanced Raman spectroscopy: Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> overlayers fabricated by atomic layer deposition yield improved anthrax biomarker detection. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 10304-10309.
- <sup>180</sup> D. T. Snyder, C. J. Pulliam, Z. Ouyang and R. G. Cooks. Miniature and Fieldable mass spectrometers: Recent advances. *Anal. Chem.*, 2016, 88, 2-9.
- <sup>181</sup> A. E. Kirby, N. M. Lafreniere, B. Seale, P. I. Hendricks, R. G. Cooks and A. R. Wheeler. Analysis on the Go: Quantitation of drugs of abuse in dried urine with digital microfluidics and miniature mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 2014, 86, 6121-6129.
- <sup>182</sup> Hendricks, P. I.; Dagleish, J. K.; Shelley, J. T.; Kirleis, M. A.; McNicholas, M. T.; Li, L.; Chen, T. C.; Chen, C. H.; Duncan, J. S.; Boudreau, F.; Noll, R. J.; Denton, J. P.; Roach, T. A.; Ouyang, Z.; Cooks, R. G. *Anal. Chem.* 2014, 86, 2900–2908.
- <sup>183</sup> L. Li, T. C. Chen, Y. Ren, P. I. Hendricks, R. G. Cooks and Z. Ouyang. Mini 12, miniature mass spectrometer for clinical and other applications--introduction and characterization. *Anal. Chem.*, 2014, 86, 2909-2916.
- <sup>184</sup> S. Wright, A. Malcolm, C. Wright, S. O'prey, E. Crichton, N. Dash, R. W. Moseley, W. Zaczek, P. Edwards, R. J. Fussell and R. R. Syms. A microelectromechanical systems-enabled, miniature triple quadrupole mass spectrometer. *Anal. Chem.*, 2015, 87, 3115-3122.