

<b>TITRE (Français)</b>	<b>ADSORPTION DES PROTEINES SUR LES NANOMATERIAUX. BIOCHIMIE ET PHYSICO-CHIMIE D'UN NOUVEAU STRESS</b>
<b>TITRE (English)</b>	<b>PROTEIN ADSORPTION ON NANOMATERIALS. BIOCHEMISTRY AND PHYSICAL CHEMISTRY OF A NEW STRESS</b>
<b>AUTEUR</b>	Stéphanie DEVINEAU
<b>UNIVERSITE</b>	Université Paris Sud
<b>DATE</b>	4 Octobre 2013
<b>LABORATOIRE</b>	UMR 3299 CEA/CNRS
<b>DIRECTION DE THESE</b>	Serge PIN et Jean Philippe RENAULT
<b>PARRAINAGE</b>	

Les nanoparticules sont utilisées dans de nombreux produits de consommation courante, or les connaissances sur la toxicité des nanomatériaux manufacturés sont encore aujourd'hui lacunaires. Lorsqu'elles entrent en contact avec le milieu biologique, les nanoparticules se couvrent d'une couche de protéines adsorbées. Celle-ci leur confère une nouvelle « identité biologique » qui contrôle la réponse cellulaire et leur devenir dans l'organisme. Nous avons étudié l'adsorption de la myoglobine, de l'hémoglobine et des protéines d'un extrait cellulaire sur les nanoparticules de silice pour déterminer les paramètres physico-chimiques et thermodynamiques de l'adsorption ainsi que les modifications de structure, de dynamique et d'activité des protéines adsorbées. Un enrichissement en résidus basiques, regroupés en clusters de charge, favorise l'adsorption des protéines grâce à la formation d'interactions électrostatiques avec la surface chargée de la silice, indépendamment de la charge globale de la protéine. A l'inverse, un enrichissement en résidus aromatiques est défavorable à l'adsorption car ces résidus forment des interactions  $\pi$ - $\pi$  qui rigidifient la structure de la protéine.

L'étude de la structure, réalisée par dichroïsme circulaire, spectroscopie UV-visible, d'absorption X, infrarouge, fluorescence et microcalorimétrie, montre une perte partielle de structure importante des protéines adsorbées associée à une grande hétérogénéité de conformation, sans modification majeure de la structure de l'hème. Deux sites d'adsorption de la myoglobine sur les nanoparticules ont été identifiés à l'aide d'une technique de cartographie de surface par irradiation. L'étude de la dynamique de la myoglobine adsorbée par diffusion élastique et inélastique de neutrons a permis de montrer que l'adsorption s'accompagnait d'une diminution importante de la flexibilité de la protéine. Malgré la perte de structure, l'hémoglobine adsorbée présente une plus grande affinité pour l'oxygène et une plus faible coopérativité, sans dissociation du tétramère. Cet effet est reproductible lors de l'adsorption de l'hémoglobine humaine, de l'hémoglobine pontée DCL et de l'hémoglobine mutée S. Aussi importantes soient-elles, les modifications de structure et d'activité observées sont entièrement réversibles après désorption dans des conditions douces. L'adsorption des hémoprotéines sur les nanoparticules représente véritablement un nouveau type de stress avec résilience pour les protéines en termes de relations entre structure, dynamique et activité.

*Nanoparticles have been used in many consumer products. However, knowledge of the toxicity of manufactured nanomaterials is still incomplete. When they enter a biological medium, nanoparticles are covered by a corona of adsorbed proteins. It gives them a new "biological identity" that controls the cellular response and their fate in the organism. We studied the adsorption of myoglobin, hemoglobin and proteins from a cellular extract on silica nanoparticles to determine the physical chemical and thermodynamics parameters of adsorption and the modifications of the structure, the dynamics and the activity of adsorbed proteins. The enrichment of basic residues, gathered in charge clusters, favors the adsorption of proteins by the formation of electrostatic interactions with the charged surface of silica, independently of the global charge of the protein. On the contrary, the enrichment in aromatic residues is unfavorable to protein adsorption because these residues form  $\pi$ - $\pi$  interactions that rigidify the protein structure.*

*The structural study, based on circular dichroism, fluorescence, infrared, UV-visible spectroscopy, X-ray absorption and microcalorimetry, shows a substantial partial structure loss of adsorbed proteins together with a high conformational heterogeneity without major modifications of the heme structure. Two adsorption sites of myoglobin on nanoparticles were identified by a footprinting technique under irradiation. The study of adsorbed myoglobin dynamics by elastic and inelastic neutron scattering highlighted the important decrease of protein dynamics that occurs upon adsorption. Despite the structure loss, adsorbed hemoglobin shows an increase of its oxygen affinity and a decrease of its cooperativity, without dissociation of the tetramer. This effect can be reproduced with human hemoglobin, cross-linked DCL hemoglobin and mutant S hemoglobin. Despite the extent of structural and activity changes, all these modifications are entirely reversible upon desorption in soft conditions. The adsorption of hemoproteins on silica nanoparticles depicts a new sort of stress with resilience for proteins in terms of structure, dynamics and activity relationship.*

\* L'ensemble ne doit pas dépasser le bas de cete page.