



CETAMA
1961-2011
50 ans

**SEMINAIRE CETAMA
ANALYSES ET MESURES POUR LE NUCLEAIRE :
LES ENJEUX ET LES TENDANCES FUTURES
24 AU 26 MAI 2011
LE CORUM - MONTPELLIER**



Année internationale de la
CHIMIE
2011

Chimie analytique et société : l'ISAB Ile-de-France

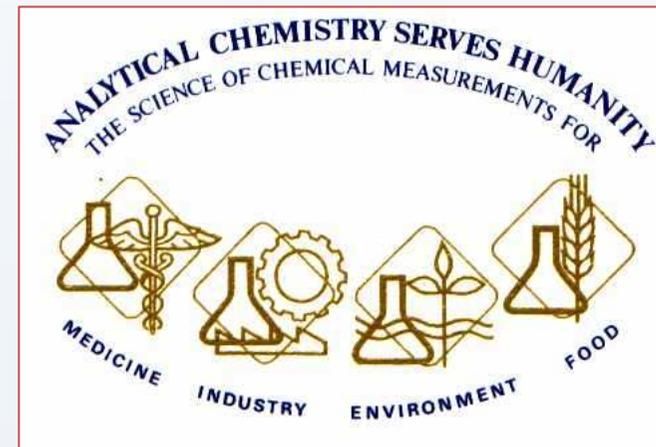


*Marie-Claire HENNION
Directrice du GIS ISAB IdF
Lab. Sciences Analytiques, Bioanalytiques
et Miniaturisation
UMR 7195, EPSCI ParisTech, Paris
Marie-claire.hennion@espci.fr*

Les sciences analytiques et bioanalytiques sont au cœur des enjeux sociétaux actuels

Aucun domaine socio-économique ne peut s'affranchir d'analyses chimiques

- Santé publique
- Protection de l'environnement
- Qualité et sécurité alimentaire (implique l'environnement, l'agriculture, la pêche, production alimentaire, emballages,...)
- Sécurité des personnes
- Sécurité des biens manufacturés
- Fraudes et contrefaçons
- Dopage
- Conquête spatiale
- Patrimoine historique, archéologie
-

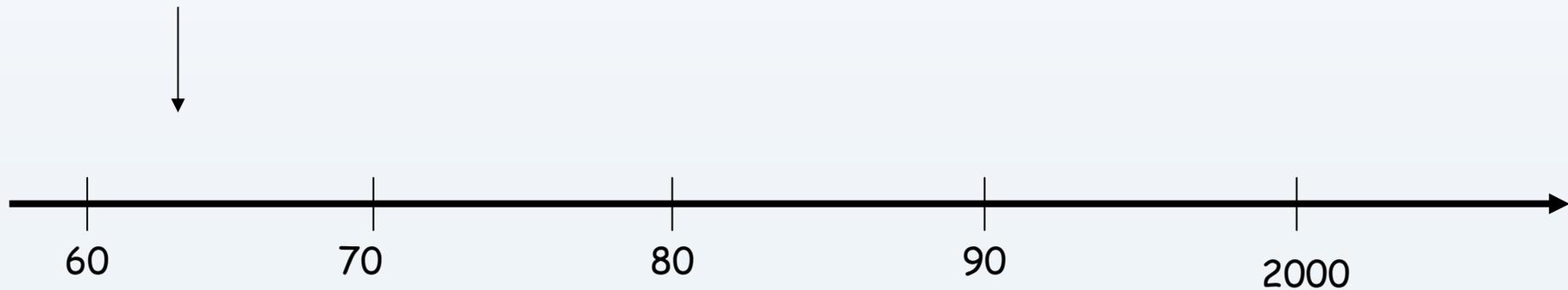


- ❑ Compréhension des processus de transformation et de migration des composés dans l'environnement...
- ❑ Recherche de nouveaux médicaments, de diagnostics...
- ❑ Sciences de la vie : « divers omiques », identification de marqueurs de maladie, de plus en plus de collectes d'information in vivo
- ❑ Nouvelles énergies (biomasse, nucléaire du futur...)
- ❑ Nouveaux matériaux
- ❑ Les procédés industriels doivent être de plus en plus performants et sans risque chimique (de plus en plus d'analyses sur sites) et doivent s'inscrire dans le cadre du développement durable (connaissance de l'impact environnemental des activités, rejets et productions industrielles fortement dépendantes d'analyse)

Période G. Charlot

Chimie des solutions et électrochimie

Analyse au niveau du ppm (mg/L)



Une science en évolution qui marche de pair avec les avancées dans l'instrumentation

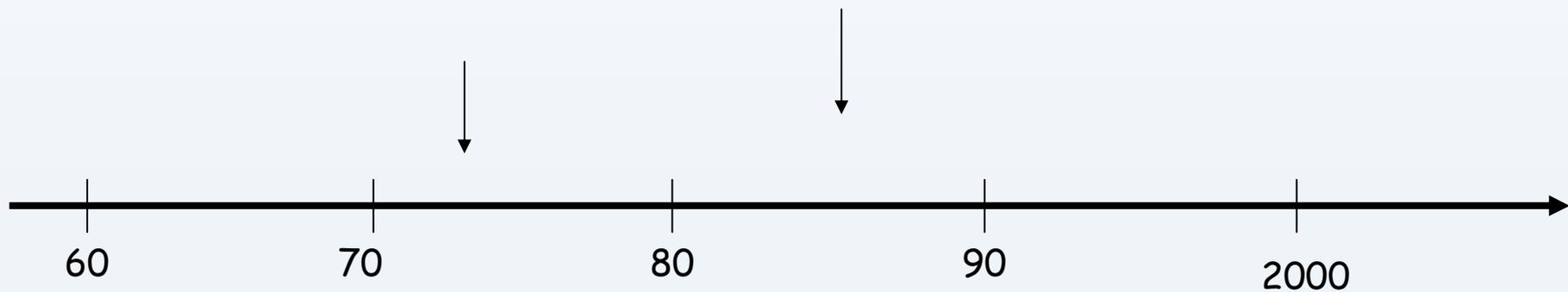
Chromatographie gaz sur capillaires

Introduction de la chromatographie en phase liquide

Révolution dans l'analyse des composés organiques

L'absorption atomique remplace l'électrochimie pour le dosage des inorganiques

Analyses au niveau du ppb $\mu\text{g/L}$



Une science en évolution qui marche de pair avec les avancées dans l'instrumentation

Révolution dans l'analyse des inorganiques avec la spectrométrie d'émission atomique par plasma couplée à la spectrométrie de masse (ICP/MS)

Introduction de l'électrophorèse capillaire

Spectrométrie de masse : interfaces API, MALDI-TOF...

Développements analytiques avec utilisation des outils biologiques (immunoessais, bioessais, biocapteurs...)

Forte demande en analyse des éléments biologiques

Analyses au niveau du ppt (ng/L).



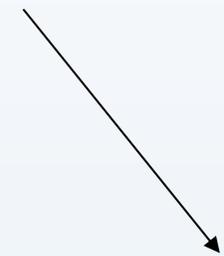
Sciences séparatives +
couplage SM : plus de 50%
du marché instrumental

Une science en évolution qui marche de pair avec les avancées dans l'instrumentation

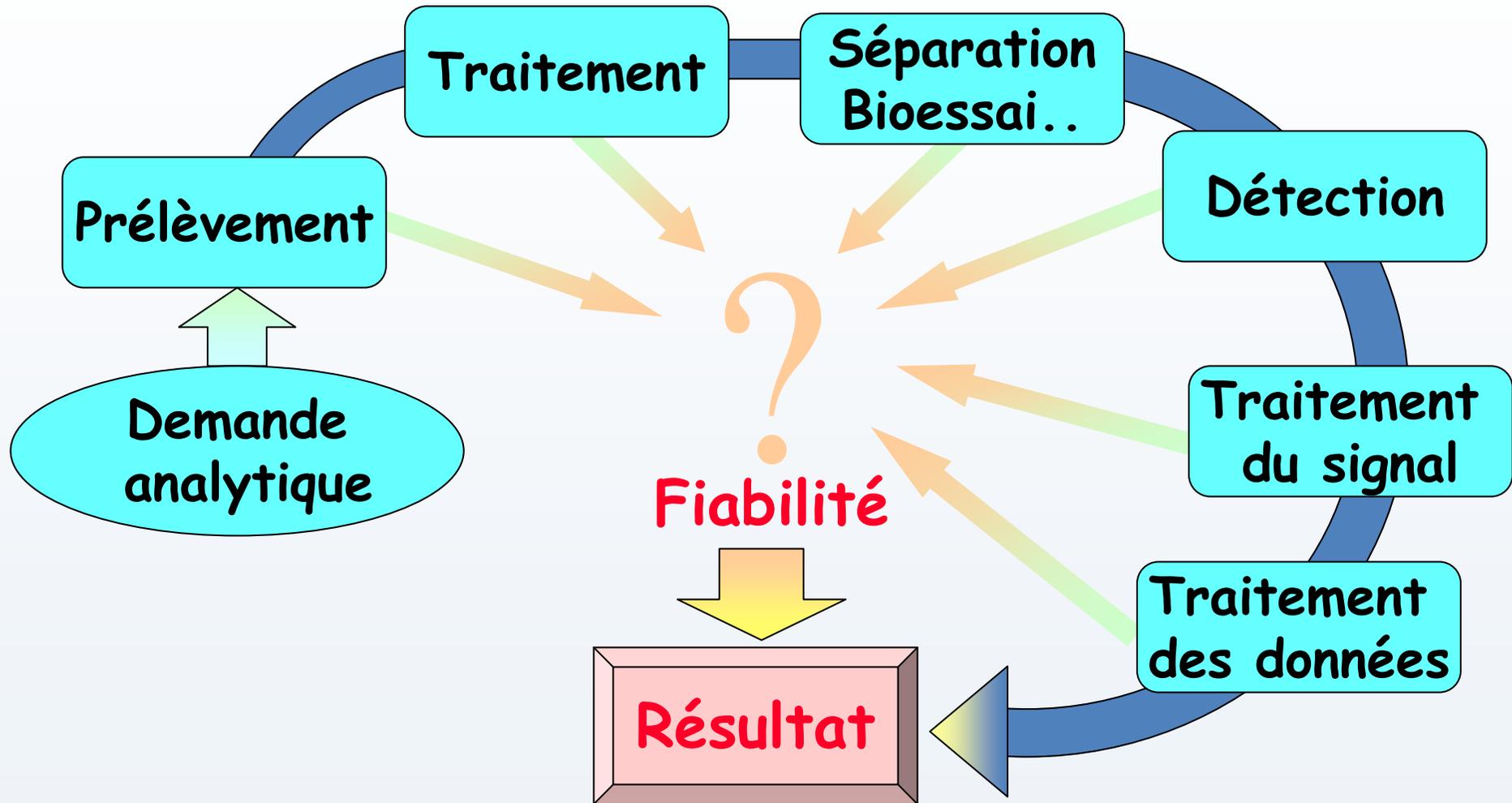
Miniaturisation dans tous les domaines

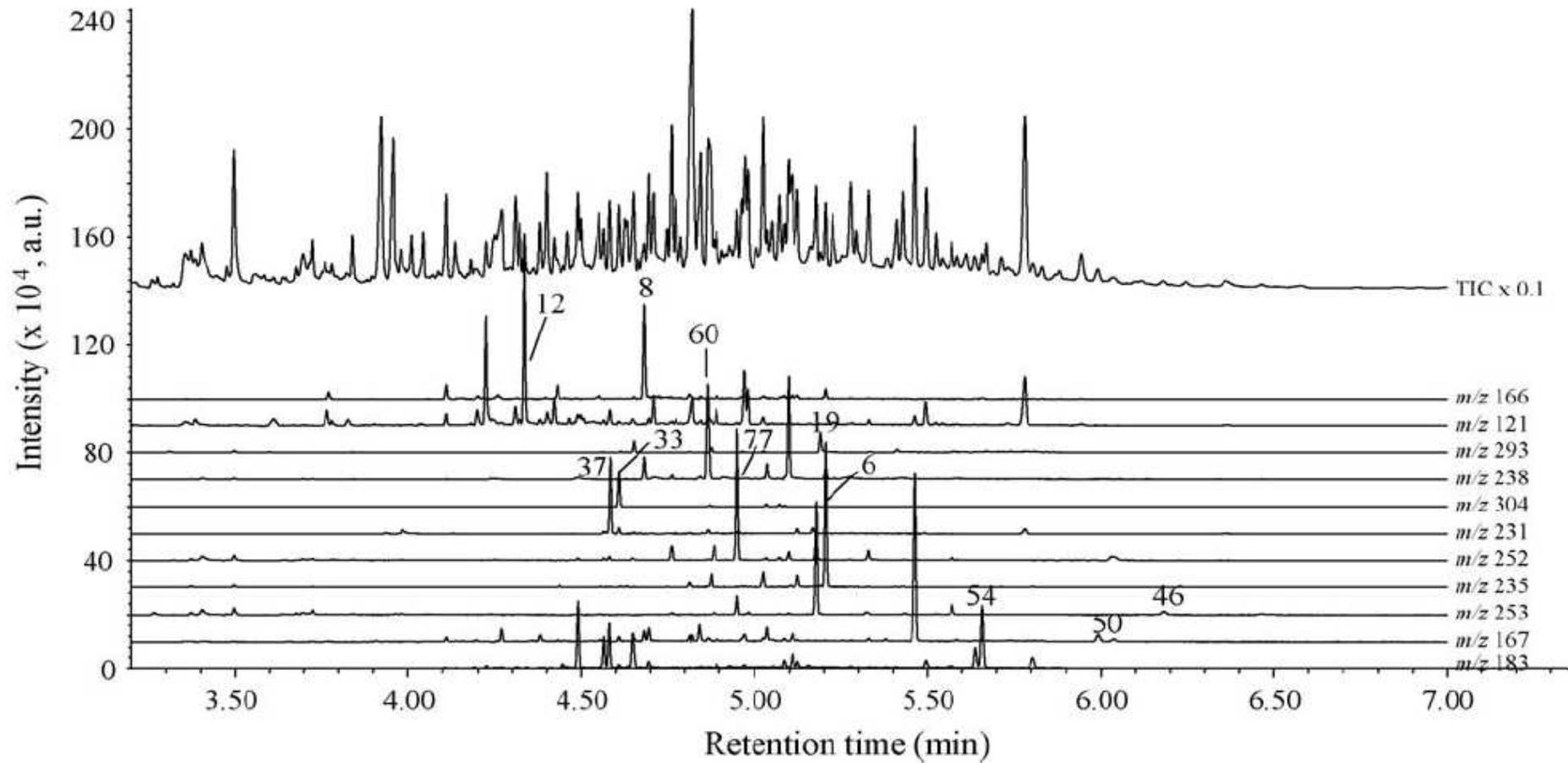
Implantation croissante de la chimie bioanalytique (diagnostic rapide...)

Systèmes analytiques plus sophistiqués pour les mélanges complexes (protéomique...), l'analyse d'ultra-traces...



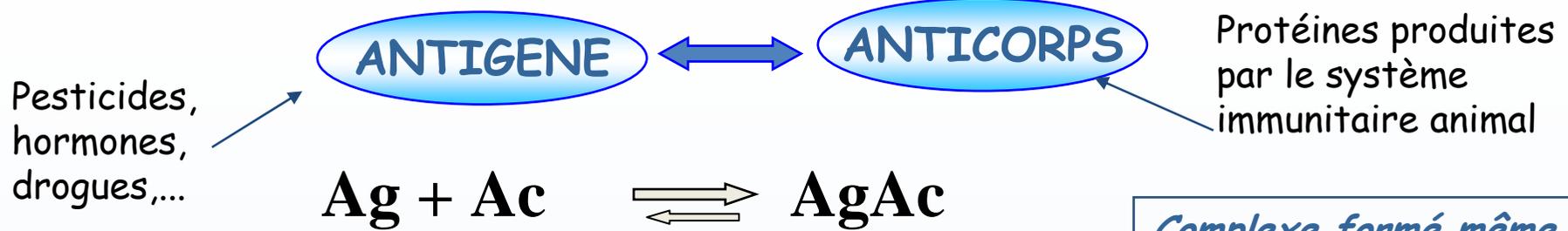
Etapes d'une méthode analytique pour l'analyse moléculaire





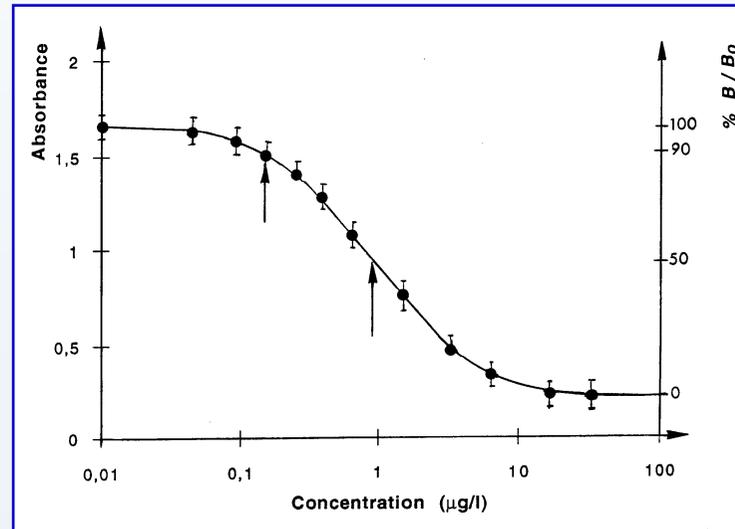
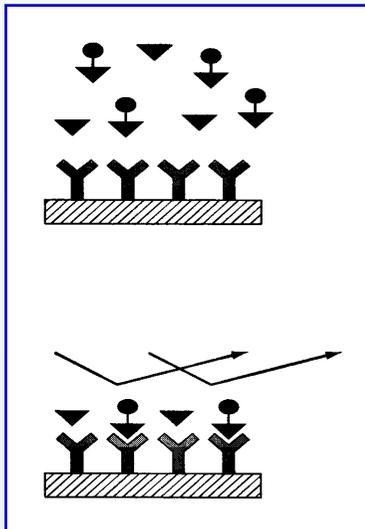
Analyse de 82 pesticides dans les eaux de surface en moins de 7 minutes

- ❑ Outils biologiques : anticorps, récepteurs, enzymes, ADN, etc. pour mesurer tout type de composé organique
- ❑ Introduits dans le système analytique à différents niveaux (préconcentration, séparation ou détection)
- ❑ Mesures directes ou dosage (formats microplaques 96 puits) à des concentrations très faibles : immunodosages, bioessais divers (inhibition enzymatique...)
- ❑ Biocapteurs : glucose et de nombreuses autres applications médicales, agroalimentaires et environnementales
- ❑ Réponse au besoins de rapidité, faibles coûts, méthodes faciles à utiliser sur le terrain



$$K = \frac{[Ag - Ac]}{[Ag][Ac]} \quad K = 10^9 - 10^{12} \quad \Rightarrow$$

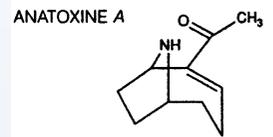
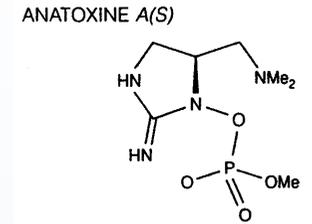
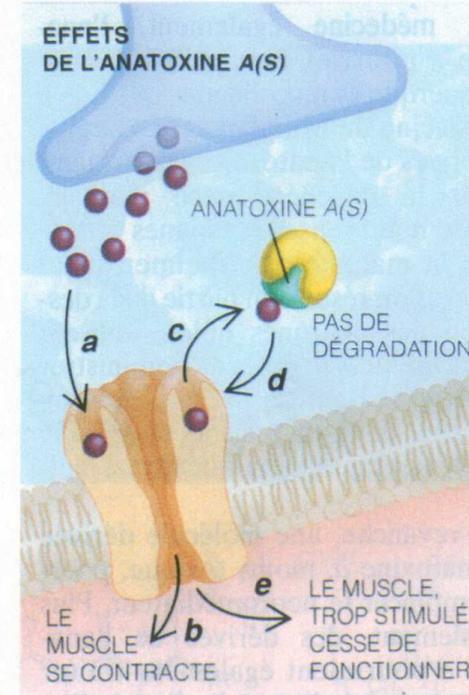
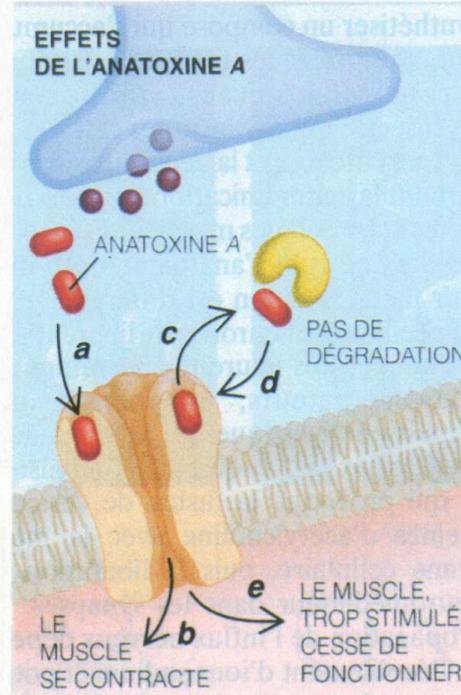
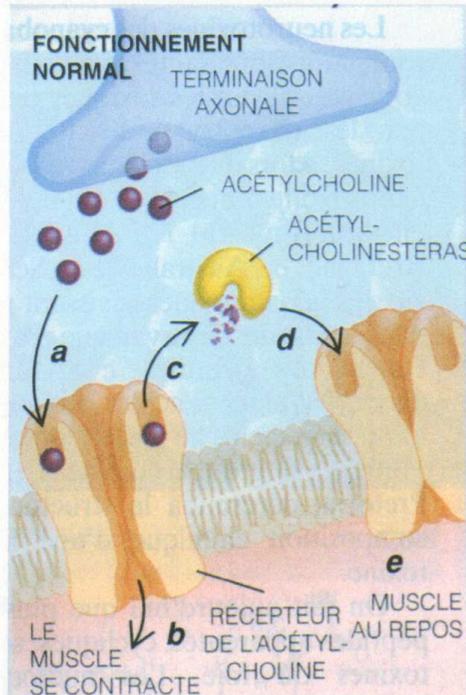
Complexe formé même pour de très faibles concentrations en Ag et Ac



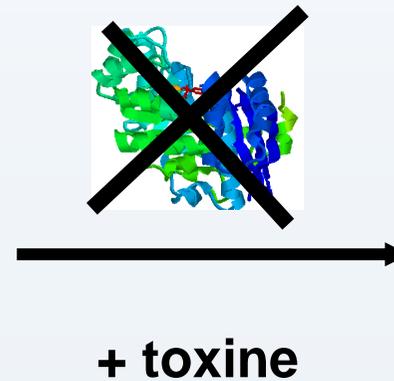
- Anticorps
- Analytes marqués
- Support
- Analytes

*Immunoessais :
4,6 Mds € dans le
diagnostic clinique*

Bioessais basés sur le mode d'action des composés : ex de l'inhibition enzymatique



Composé A incolore



Réaction catalysée par l'enzyme

Composé B coloré

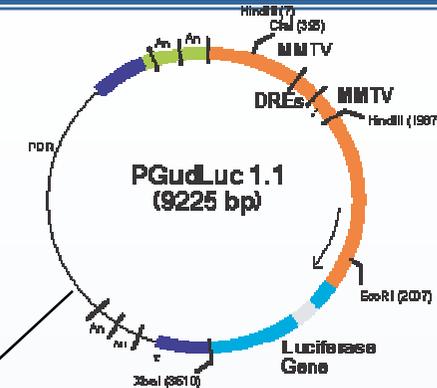
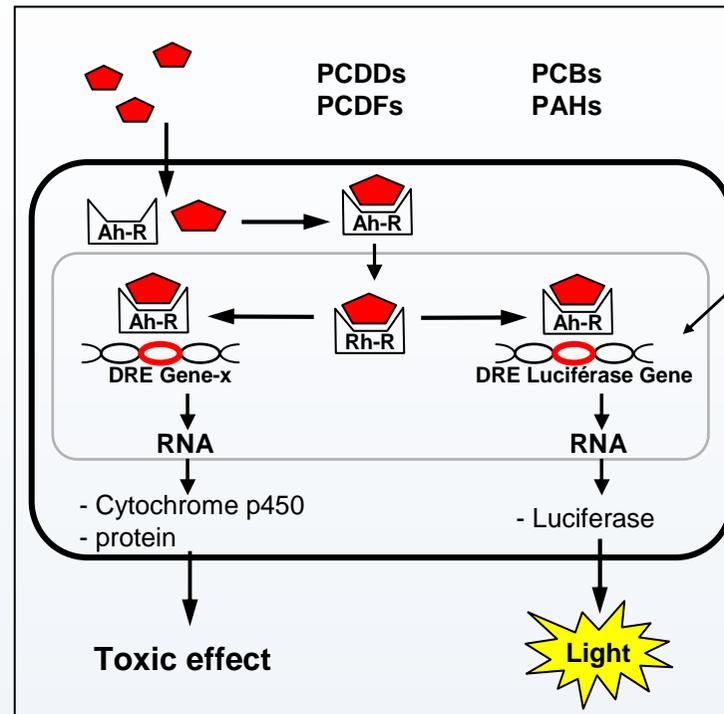
Toxicité des dioxines

-liaison au récepteur Ah-R

-transport du complexe dans le noyau,

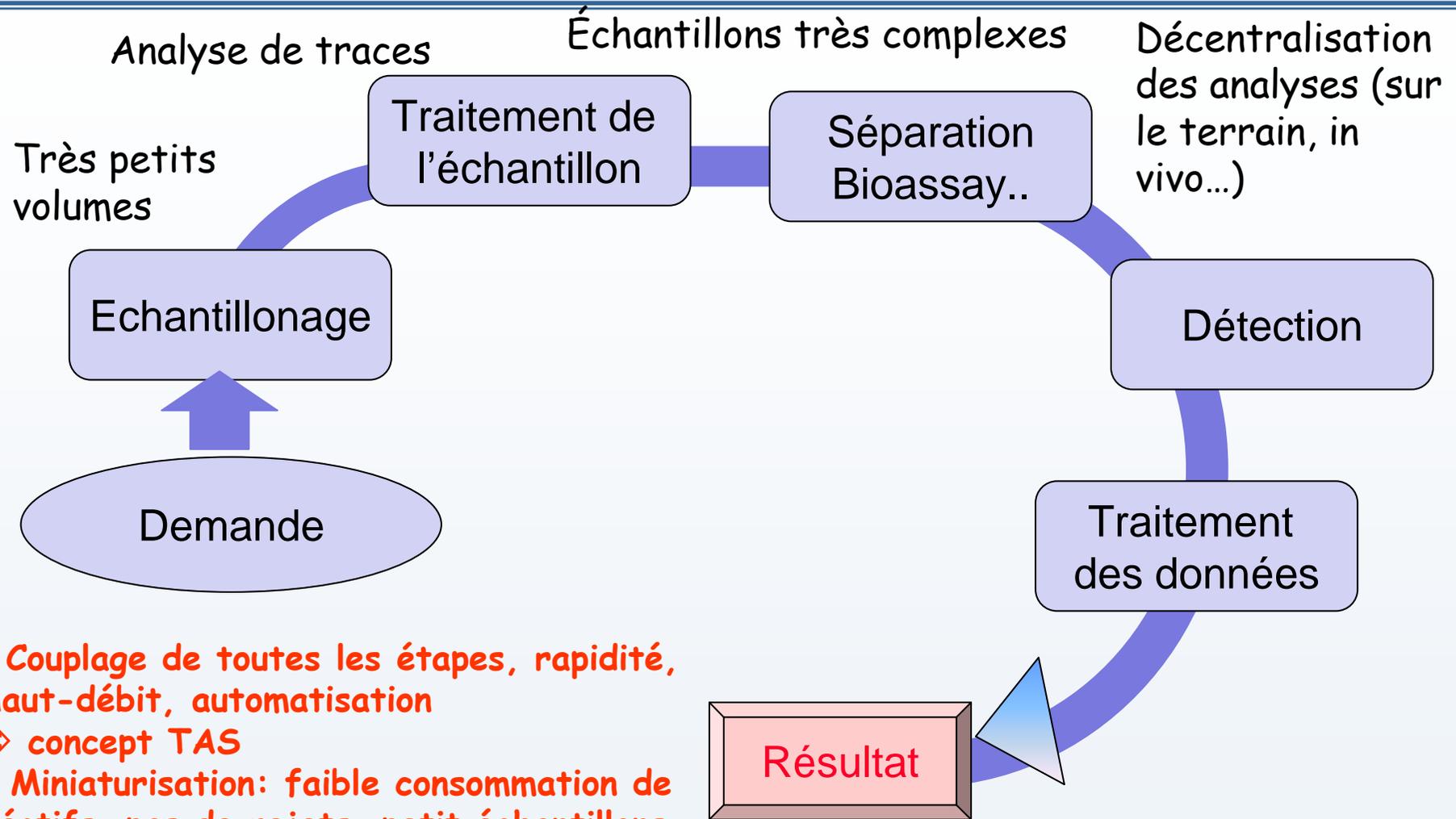
-liaison avec un séquence spécifique de l'ADN

-altération de l'expression des gènes régulés



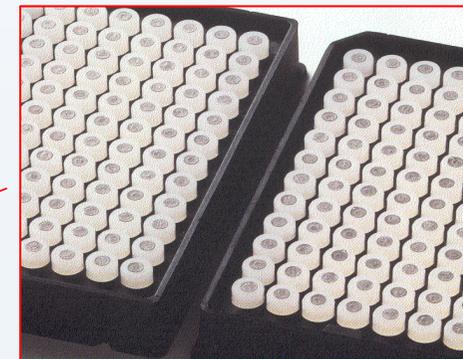
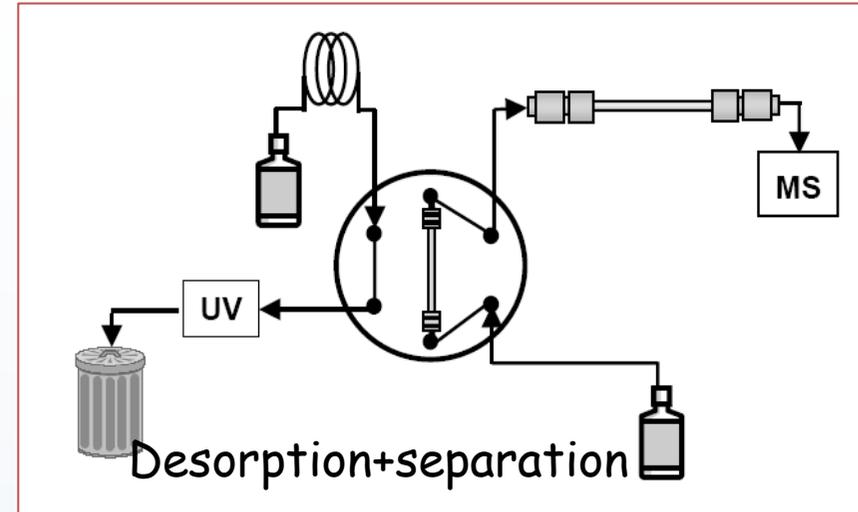
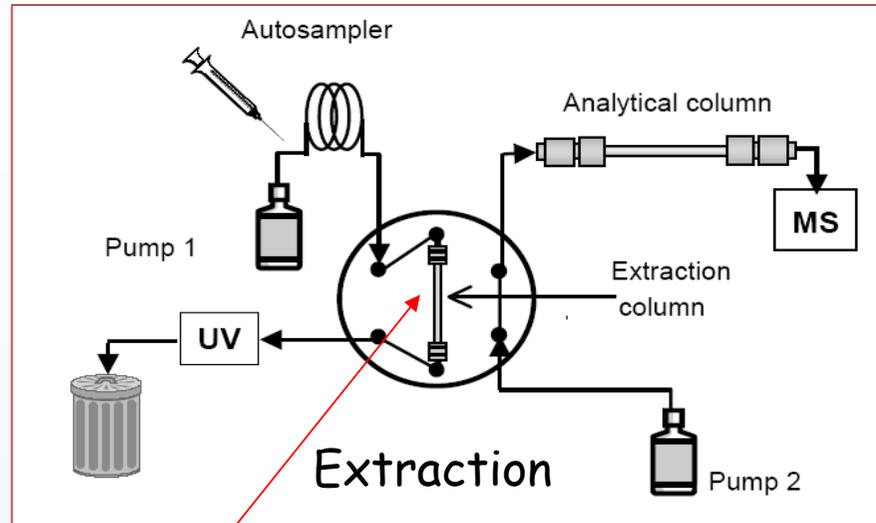
Utilisation de cellules génétiquement modifiées contenant la séquence spécifique de l'ADN et un gène de luciférase. Même action mais avec émission de lumière mesurable en présence de luciférine.

CALUX bioassay (Chemically Activated LUCiferase gene eXpression)



- Couplage de toutes les étapes, rapidité, haut-débit, automatisation
 ⇒ concept TAS
- Miniaturisation: faible consommation de réactifs, pas de rejets, petit échantillons
 ⇒ concept μ TAS

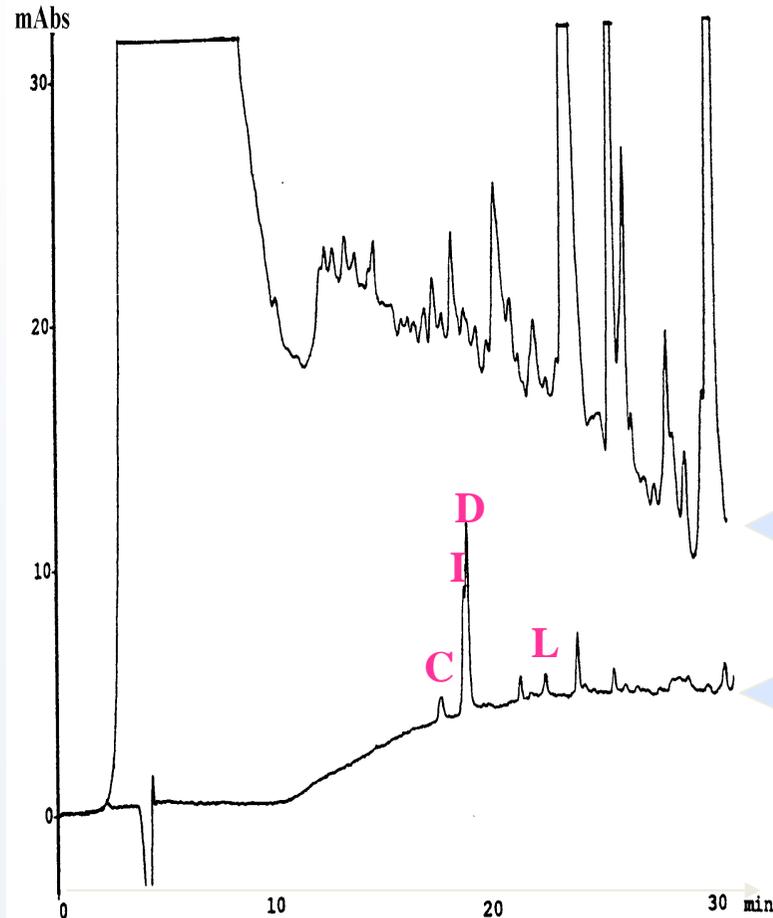
extraction/LC couplée en ligne



Analyse de traces : utilisation d' anticorps greffés pour l'extraction + microLC

*Eau de Seine
5 ml - non dopée*

*Chlortoluron 50 ng/l
Isoproturon 220 ng/l
Diuron 200 ng/l
Linuron 40 ng/l*

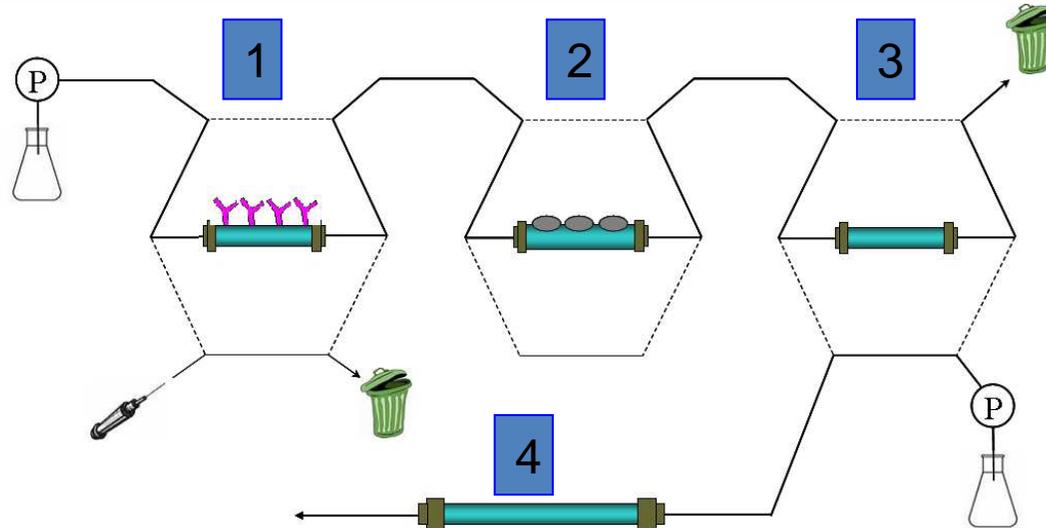


C18 (5 × 1mm)

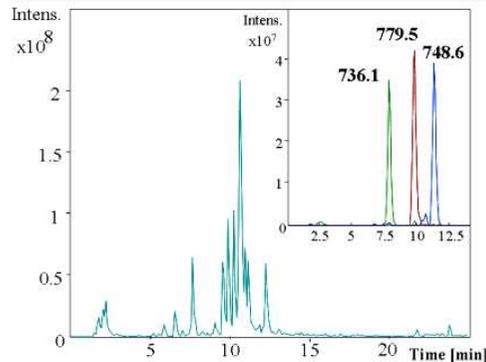
IS (10 × 1 mm)

Column : Si C18 (250 × 1 mm i.d.)
Flow rate : 50 µl/min





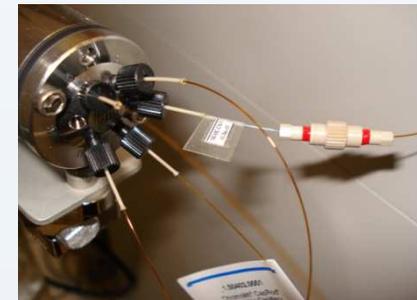
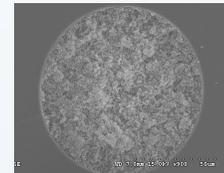
1. Extraction sélective du biomarqueur via des anticorps immobilisés
2. Digestion des protéines en peptides via des enzymes immobilisés
3. Dessalages et reconcentration sur une précolonne
4. nanoLC-MS and identification

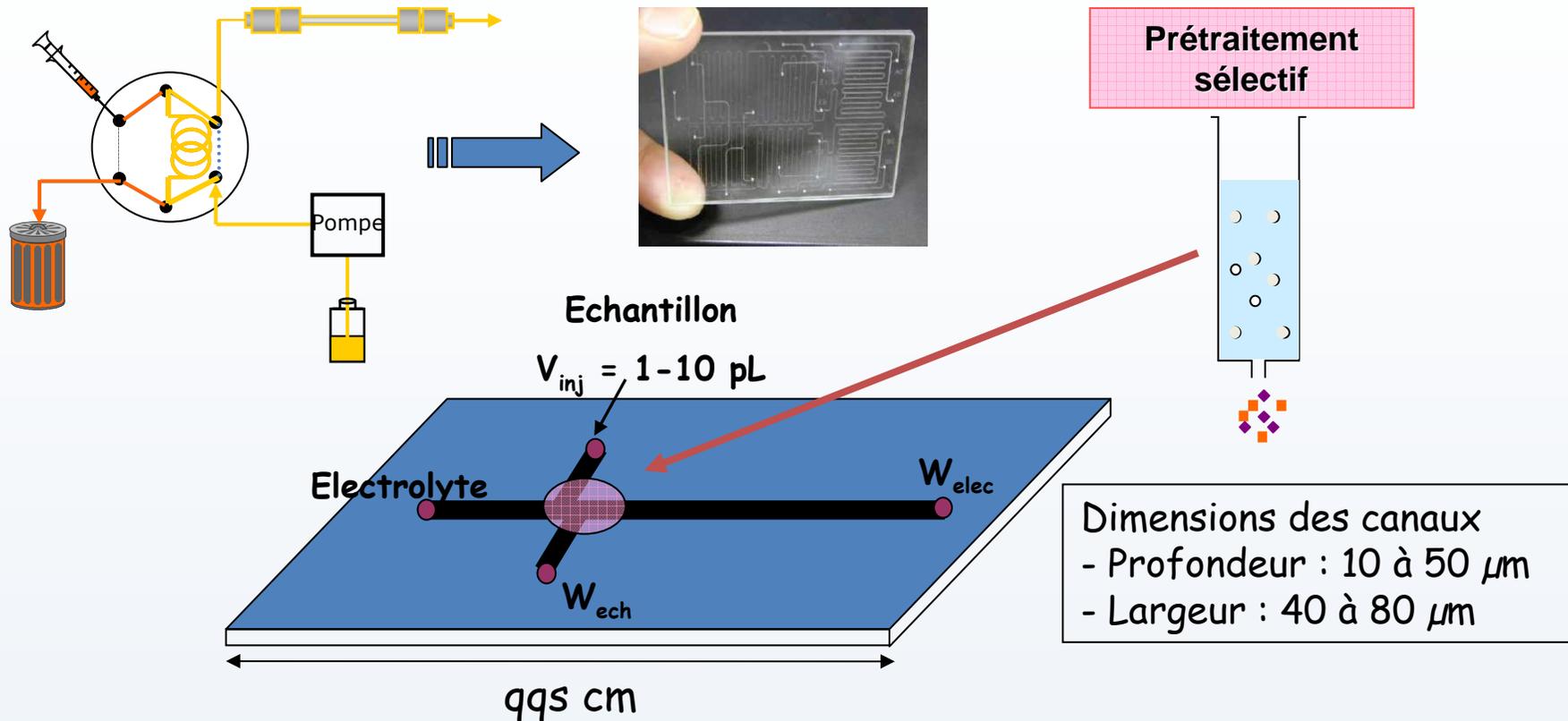


Total Analytical System pour l'analyse d'un biomarqueur, dimensions 100 μ m (nanoLC) : concept du « Lab-on-valve »

Volume d'échantillon: 100-300 nL

Temps total d'analyse : 30 min





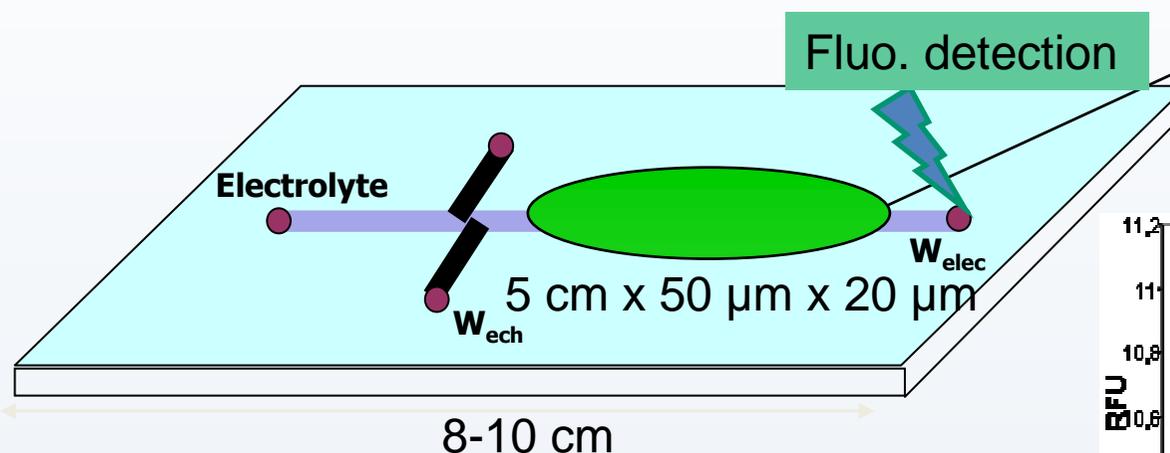
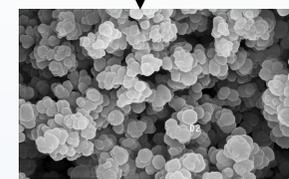
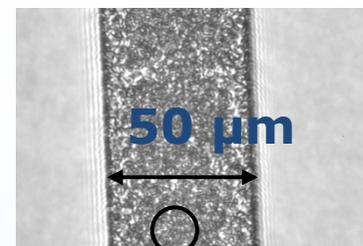
- Rapidité \Rightarrow Haut Débit
- V_{inj} très faible \Rightarrow fluides biologiques
- $V_{réactifs}$ très faible, peu de rejets
- Méthode de terrain

Dimensions des canaux
 - Profondeur : 10 à 50 μm
 - Largeur : 40 à 80 μm

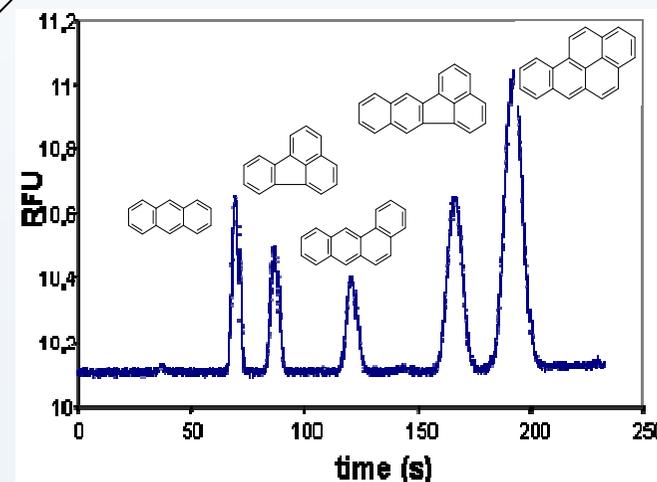
Nécessité de synthétiser in situ des phases d'extraction ou séparatives



Synthèse in situ de monolithe organique par photopolymérisation directement dans le canal de séparation

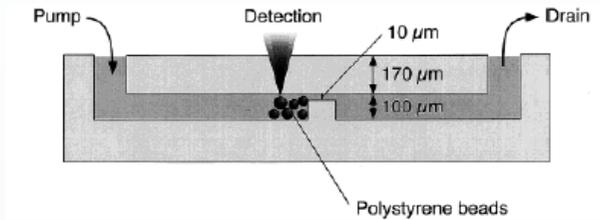


G. Proczek et al., Electrophoresis, 30 (2009) 515-524



Separation of PAHs on organic monolith (AMPS-HA-BDDA)

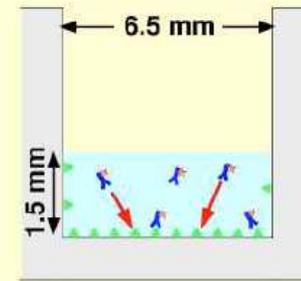
Autre avantage de la miniaturisation : rapidité des réactions



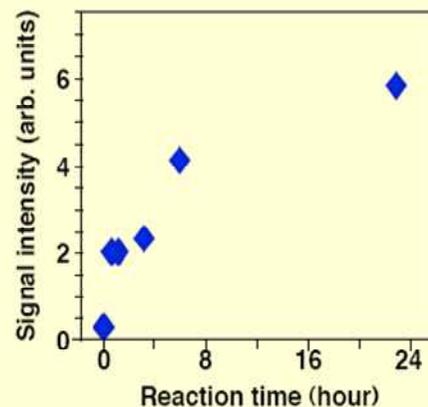
Detection of a human secretory immunoglobulin, (important role in local immunity)

Results : Total analysis time 1 h (versus 24 h)

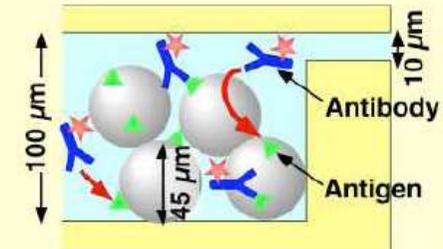
Sensitivity : 1 μg/ml in saliva (normal concentration around 200 μg/ml)



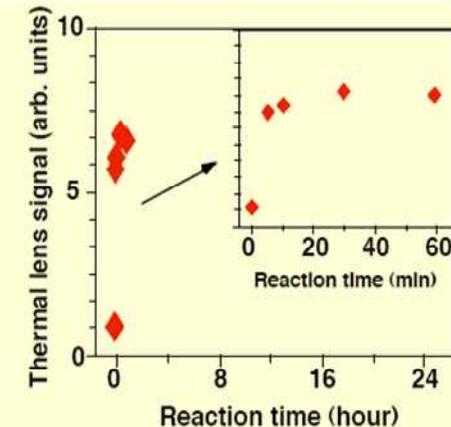
Diffusion distance ~ 1 mm
(Reaction time ~ 15 hour)



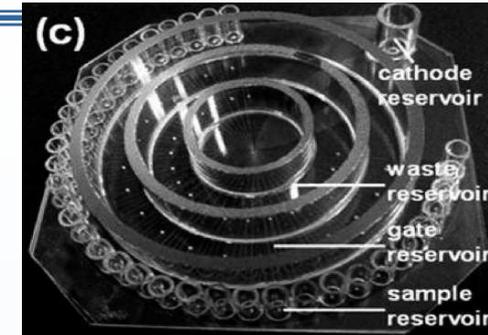
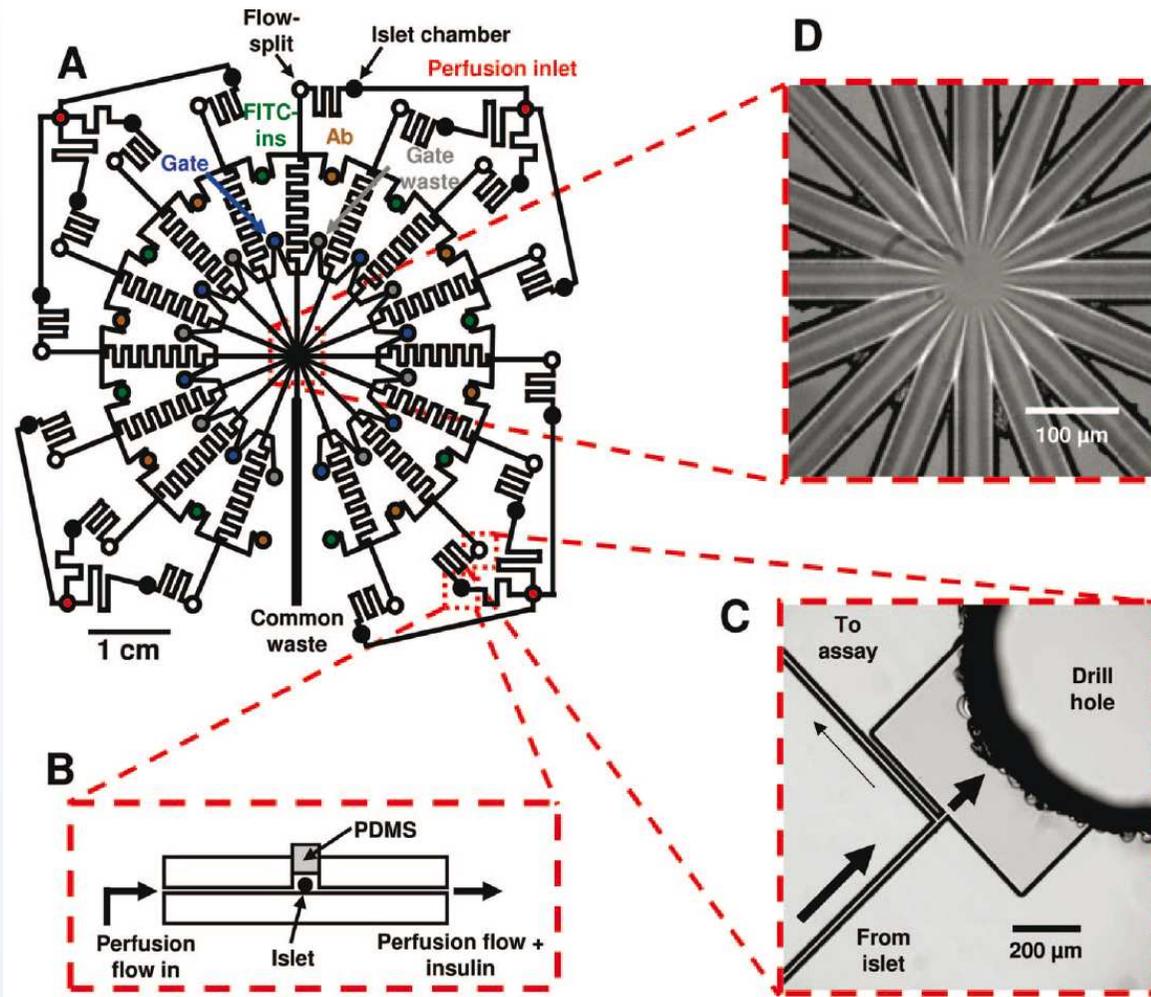
Microchip
(Microspace)



Diffusion distance ~ 10 μm
(Reaction time ~ 10 min)



Microchip pour des immunoessais + séparation à haut débit



High throughput CE immunoassays: application to the quantitative monitoring of insulin secretion from single pancreatic islets

Serial IA at 10 s intervals on all 15 channels (=5400 IA per hour)

- ❑ Juillet 2000 : rapport de l'Académie des Sciences "la chimie analytique : mesure et société" fruit des réflexions d'un groupe de travail animé par C. Amatore
- ❑ "la chimie analytique est partout..." mais...où?
- ❑ Conclusion : "la chimie analytique est bien une discipline apte à répondre aux questionnements de la société, mais elle doit être plus clairement définie, plus visible et réorganisée pour répondre aux enjeux et aux défis. Son expansion indispensable est considérée comme une nécessité sociétale"
- ❑ Ce rapport avait préconisé une structuration des sciences analytiques en formant des "lieux de compétences"

- ❖ **Lieu de rassemblement d'équipes** spécialisées dans une large palette de méthodes analytiques
- ❖ **Lieu d'interdisciplinarité**
- ❖ **Lieu d'écoute**, pour la prise en compte des questionnements de la société
- ❖ **Lieu de transfert de technologie**
- ❖ **Lieu de transfert de connaissance** avec la volonté de faire connaître les développements les plus modernes de la discipline, en couplage étroit avec les universités et écoles d'ingénieurs
- ❖ **Lieu de compétences et d'expertise** destiné à conseiller les organismes nationaux et internationaux

Les recommandations visaient à la création de 4 à 5 centres d'études spécialisés, répartis sur le territoire français, dédiés à certains champs individualisés de la discipline et fonctionnant en réseaux, en s'appuyant sur les quelques laboratoires performants de chaque région..

UMR 7195
Laboratoire Sciences Analytiques, Bioanalytiques, et Miniaturisation
Laboratoire Colloïdes et matériaux divisés

UMR 7195
Groupe « Méthodes de Séparations Electrocinétiques capillaires »

UMR 8640
Equipes « Activation moléculaire et réactivités électrochimiques »
Groupe « Microfluidique, organisation chimique et nanotechnologies » et « Chimie des systèmes »

UMR 171
Equipe recherche CNRS du Centre de Recherche et de Restauration des Musées de France

UMR 7591 : *Equipes « Systèmes Biomacromoléculaires-transport d'électrons » et « Approche électrochimique de la réactivité enzymatique et nouvelles méthodologies analytiques »*

UMR 7195
Equipes « électrochimie et liquides ioniques », Colloïdes inorganiques » et « Modélisation et dynamiques multiéchelles »

Département de Physico Chimie
CEA Saclay

UMR 8587
Laboratoire Analyse et Modélisation pour la Biologie et l'Environnement

UMR 8612
Laboratoire des Protéines et nanotechnologies en Sciences séparatives



*Techniques séparatives
Traces et ultratracés
Bioanalyse et bioessais
Miniaturisation
Electrogravure
Colloïdes /diagnostic*

*Techniques séparatives
électrocinétiques
capillaires
Traces et ultratracés
Mesure de constantes*

*Nouvelles méthodologies
en biophysique chimique,
électrochimie et
microfluidique*

*analyses non-destructives
analyses in situ
traces et ultratracés,
spéciation*

*Biocapteurs électrochimiques et
Nouvelles méthodologies
électroanalytiques pour
l'analyse biologique*

*Synthèse/étude
/fonctionnalisation de
nanoparticules
Electrochimie analytique
Modélisation*

*Analyse inorganique
Spectrométrie de masse
Traces et ultratracés,
Spéciation
Analyse à distance*

*Spectrométrie de masse
Imagerie analytique
et nouvelles méthodologies
analytiques*

*Nanotechnologies en
sciences séparatives
Développement d'outils de
diagnostic de pathologie*



- ❑ Extension du GIS avec une réponse à l'appel à projet DIM de la région IdF : environ 30 lab/équipes, 700 chercheurs, 100 personnels techniques, 300 doct/postdoc
 - ❑ Programme
 1. Analyse à distance et analyse non destructible
 2. Méthodes séparatives avancées pour les mélanges complexes (produits naturels et biomolécules)
 3. Détection de traces et d'ultratraces, spéciation
 4. Analyse in situ et in vivo (capteurs, bioessais, biocapteurs...)
 5. spectrométrie de masse et imagerie pour l'analyse
 6. Analyse de surfaces
 7. Caractérisation de nanoobjets
- Axe transversal 1 : Miniaturisation**
- Axe transversal 2 : Traitement des données, modélisation**