

## Axe transversal 7 : Miniaturisation.

La miniaturisation (lab-sur-puces, microsystèmes séparatifs pour l'analyse totale ( $\mu$ TAS), bioessais sur micropuces...) constitue une voie idéale pour réaliser des analyses à partir de microéchantillons, rapides, peu coûteuses, ne consommant que très peu de réactifs et solvants et très adaptables à une utilisation *in situ* ou *in vivo*.

Les microsystèmes analytiques peuvent intégrer l'essentiel des grandes familles technologiques des sciences analytiques (électrophorèse, chromatographie, méthodes d'hybridation, d'amplification enzymatique), et les améliorer en termes d'ergonomie (systèmes portables tout-intégrés "sample to result") et/ou de performance (diminution des temps de réaction, augmentation de sensibilité). Ils permettent également de mettre en jeu des concepts spécifiques et nouveaux (p.ex nanocapteurs, biosenseurs à lecture électrique directe, biologie digitale). Ils doivent tirer profit de tous les développements récents (nouvelles phases stationnaires ou d'extraction qu'il faudra synthétiser *in situ*, de micro et nano particules, nanoélectrodes, etc). On a besoin de méthodes de criblage rapide et à très haut débit d'activateurs/inhibiteurs d'enzymes ou de fonctions cellulaires.

Des orientations vers l'analyse ciblée de composés d'intérêt environnemental, de composés radioactifs ou de biomarqueurs de pathologies associées à des mutations, conformations anormales, phénomènes agrégatifs, ou défauts de glycosylation de peptides ou protéines constituent l'un des contextes biomédicaux majeur des recherches actuellement menées. De études de toxicité environnementale, de molécules ou nanoparticules présentes dans l'air vis à vis de la barrière pulmonaire par exemple, sont d'actualité et peuvent bénéficier des potentialités de la miniaturisation pour construire des modèles d'études (cell on chip). Dans le domaine des géosciences, réduire la taille des échantillons est le seul moyen d'améliorer la résolution (spatiale et temporelle) dans le décryptage des signaux et archives environnementaux.

Les verrous sont souvent dus à l'intégration de tous les éléments de la méthodologie dans un système global, automatisé et pour certaines applications portable ou autonome. Un enjeu majeur est le traitement de l'échantillon pour l'analyse de traces où la détection sans marquage préalable, qui soulève des défis en termes d'intégration multi-échelles (partir d'un échantillon de relativement grand volume, afin de maximiser la quantité totale de molécules d'intérêt, et concentrer ces molécules dans des volumes micrométriques afin de bénéficier à plein des avantages de la miniaturisation et maximiser la sensibilité (voir axe 2). Cet enjeu est un verrou particulièrement important pour les applications environnementales, pour lesquelles les contaminants d'intérêt sont souvent présents à l'état de traces dans de gros volumes (analyse de l'eau, de l'air, bactéries, virus, nanoparticules, molécules toxiques), mais aussi pour un certain nombre d'applications de diagnostic non-invasif (exemple: recherche de cellules tumorales circulantes pour le suivi de traitement en cancérologie, recherche dans le sang de biomarqueurs précoces de la maladie d'Alzheimer).

Cette thématique sera en interaction avec l'Equipex Microfluidique (IPGG porté par le PRES PSL\*), et pourra bénéficier de la plateforme construite dans le cadre de cet Equipex.

## Axe transversal 8 : spectrométrie de masse et imagerie

Ce domaine très vaste, riche de nombreuses spécialités, est un axe transverse à tous les domaines d'application, dans lequel les équipes du GIS Analytics ont acquis individuellement des niveaux d'excellence, reconnus à l'échelle internationale, en particulier en matière de développements analytiques innovants par spectrométrie de masse « organique », identification et quantification de molécules, analyse structurale de protéines, de complexes protéiques, de complexes organométalliques et par spectrométrie de masse « inorganique », quantification élémentaire d'ultra-traces et analyse isotopique. Une des thématiques prioritaires concerne la **spéciation des éléments**, ces derniers pouvant exister sous différentes formes d'espèces chimiques moléculaires (la spéciation gouverne la réactivité, et donc, dans la biosphère, la toxicité). Dans ce cadre l'information structurale et moléculaire doit être complétée par des informations sur la concentration des éléments et leur isotopie pour étudier la répartition de ces éléments parmi les différentes espèces dans les milieux environnementaux, biologiques ou industriels. La connaissance de la spéciation des éléments est en effet primordiale pour comprendre les mécanismes de solubilité, mobilité, distribution, transport et toxicité des différentes espèces. L'acquisition de cette connaissance reste un défi mais est fondamentale au regard de la santé publique et de l'évaluation des risques. Un axe de recherche particulièrement innovant dans ce cadre concerne l'étude du fractionnement isotopique des éléments en fonction des espèces auxquelles ils sont liés. En effet, lors de processus physique, chimique ou biologique les isotopes d'un élément sont distribués entre les différentes espèces moléculaires et l'étude de ce fractionnement isotopique est un outil puissant pour étudier les changements dans les conditions environnementales ou biologiques. L'association de l'étude de la spéciation des éléments avec celle du fractionnement isotopique permet ainsi de comprendre l'origine, le transport et le comportement de toxiques dans différents milieux.

La recherche de cet axe transverse nécessite des **développements à la fois instrumentaux et méthodologiques** sachant que la plupart des matrices concernées sont extrêmement complexes et les éléments potentiellement présents à l'état de traces. Au niveau instrumental, l'objectif consiste à développer le **couplage des dispositifs séparatifs, en particulier miniaturisés, avec les spectromètres de masse moléculaire et élémentaire**, ce qui permettra la séparation des espèces d'intérêt sur de faibles volumes d'échantillons. Les études porteront également sur **l'innovation dans les combinaisons ou les architectures sources d'ions-analyseur-collecteur ainsi que sur la miniaturisation**, voire le développement de concepts en rupture comme des micro-systèmes à porosité contrôlée sélectifs en masse.

Par ailleurs, la spectrométrie de masse se développe considérablement dans le **domaine de l'imagerie bio-médicale**. Elle représente en effet la seule méthode capable d'imager sur un tissu (biopsie de patient, par exemple) plusieurs dizaines voire centaines de molécules biologiques simultanément. Les « profilages » métaboliques ou protéiques obtenus par ce moyen à l'échelle de quelques microns voire inférieure sont particulièrement précieux en toxicologie où la localisation tissulaire d'un toxique xénobiotique peut être corrélée aux signaux métaboliques correspondant à la réaction de l'organisme au toxique. De nouvelles méthodes restent à optimiser pour réaliser l'imagerie *in vivo* (à pression atmosphérique) là où elle se cantonnait jusqu'à présent à de l'analyse *ex vivo*.

Enfin, tous ces axes de développement méthodologiques doivent pouvoir s'appuyer sur des travaux fondamentaux concernant le comportement des espèces analysées par spectrométrie de masse dans la mesure où les signaux détectés sur les spectres dépendent étroitement de leurs propriétés physicochimiques (notion de réactivité des ions selon leur énergie interne, d'activation/dissociation, etc.).

## Axe transversal 9 : Traitement des données, chimiométrie.

Les techniques analytiques modernes génèrent une quantité de données et d'information sans cesse croissante qui nécessite le développement et l'intégration d'outils de traitement des données utilisables soit en ligne soit dans une phase post-analyse. Cette situation est particulièrement critique dans le domaine des techniques analytiques multidimensionnelles et dans celui des nouvelles approches de la bioanalyse qui tirent parti des derniers développements en sciences séparatives et spectrométrie (Masse haute résolution, RMN) afin d'extraire un maximum de signaux issus des échantillons biologiques. La miniaturisation va conduire aussi à une augmentation de la production de données et permet de nouveaux couplages analytiques, inédits jusqu'alors sous cette forme (chip-MS, chip-Fluorescence -2D ou -3D, etc.).

La priorité des études concerne le développement de méthodes modernes chimiométriques permettant soit de déterminer des marqueurs, soit de construire des « empreintes analytiques » globales. Plusieurs techniques instrumentales d'analyse, jusque-là utilisées de façon monodimensionnelle, ont évolué et peuvent fournir des signaux multivoies. L'étude de ces signaux qui varient dans l'espace ou dans le temps implique donc le développement de techniques nouvelles de traitement de données multivoies, faisant appel aux analyses multivariées. On peut par exemple traiter une séquence d'images (3 dimensions), en dépliant chaque image sous la forme d'un vecteur dont le nombre d'éléments est égal au nombre de pixels et en juxtaposant ensuite ces vecteurs pour avoir une matrice à 2 dimensions (2-voies). Une autre approche consiste à travailler en particulier sur l'analyse simultanée de différents signaux, soit par Analyse des Produits Externes, soit par Analyse des Tableaux Multiples, afin d'extraire le maximum d'information des signaux obtenus lors des différentes études, et d'élaborer des « empreintes analytiques » permettant de caractériser des produits. Un des enjeux actuels est d'exploiter correctement des données générées par des couplages chromatographiques où la position des pics varie souvent de façon incontrôlée, ce qui requiert de recalibrer les pics avant de procéder à une analyse chimiométrique de l'ensemble. Ceci est particulièrement important dans le cas des méthodes séparatives multidimensionnelles en mode "comprehensive".

Un autre enjeu très important est la détection de facteurs influents. La méthode ANOVA-PCA a été développée récemment dans le domaine de "proteomics" pour la détection de "biomarkers" dans des matrices de données très grandes. Nous étendons la méthode afin de l'utiliser de façon prédictive pour classer de nouveaux échantillons dans des groupes prédéfinis.