

THÈSE - MICROFLUIDIQUE, MEMBRANES BIOLOGIQUES ET PROTÉINES TRANSMEMBRANAIRES

École doctorale de Physique : ED n°47

Laboratoire d'accueil :

Laboratoire LEGI
1023 rue de la piscine
Domaine Universitaire
38400 Saint Martin d'Hères

Direction de la thèse :

Directeur : Christophe BAUDET
Co-directeur : Benjamin CROSS

Contacts scientifiques :

christophe.baudet@hmg.inpg.fr
benjamin.cross@hmg.inpg.fr

Collaborations :

Eva PEBAY-PEYROULA et Michel VIVAUDOU
Institut de Biologie Structurale, Grenoble

Description du projet

Ce projet concerne la formation de membranes biologiques pour l'étude de l'insertion de protéines transmembranaires et la mesure de leur activité. La technique basée sur les membranes suspendues a fait ses preuves *in vitro* et son intégration, en termes de formation et de mesures, dans des microsystèmes est un challenge actuel qui ouvrirait des perspectives intéressantes dans le domaine des biotechnologies et de la biologie tels que le criblage des médicaments et l'étude de cellules artificielles en réseau.

État de l'art

Depuis les travaux précurseurs de Mueller^{1,2} dans les années 60, les membranes biologiques suspendues sont un outil privilégié pour l'étude *in vitro* de processus biologiques liés aux transferts transmembranaires. Les développements récents des nanotechnologies dans le domaine fluide permettent d'envisager la miniaturisation et l'intégration de ces systèmes d'études *in vitro*. Récemment des membranes suspendues ont été formées en utilisant des gouttelettes d'eau recouvertes de phospholipides³ ouvrant de nouvelles possibilités sur la formation de membranes biologiques en utilisant des techniques de microfluidique digitale, en gouttes, dont deux spécificités sont particulièrement intéressantes pour l'étude des transferts transmembranaires :

- La possibilité d'intégration de la mesure de l'activité des protéines transmembranaires.

1. Mueller, P., Rudin, D. O., Tien, H. T. and Wescott, W. C., *Reconstitution of cell membrane structure in vitro and its transformation into an excitable system*, Nature, 194, 979-980, 1962

2. M. Montal and P. Mueller, *Formation of Bimolecular Membranes from Lipid Monolayers and a Study of Their Electrical Properties*, PNAS, 69, 12, 3561-3566, 1972

3. Matthew A. Holden, David Needham, and Hagan Bayley, *Functional Bionetworks from Nanoliter Water Droplets*, J. AM. CHEM. SOC. 2007, 129, 8650-8655

- La possibilité de créer un réseau de membranes formées par un ensemble de gouttelettes. Réseau qui pourra être dynamique par ajout ou retrait de gouttelettes.

Objectifs de la thèse :

Nous proposons la mise en place d'une approche originale pour la création de membranes suspendues au sein d'un réseau de microgouttelettes en associant des techniques de microfluidique, des nanotechnologies et de la biologie. Pour cela, les objectifs de la thèse proposée ici sont :

- Comprendre les mécanismes de formation d'une membrane biologique par le rapprochement par électromouillage de deux gouttelettes recouvertes de phospholipides ; en particulier on s'intéressera aux influences de la structure des phospholipides mis en jeu, de leur concentration surfacique ou encore de la dynamique de drainage du film nanométrique interstitiel.
- Proposer et réaliser des microsystèmes originaux : intégration des mesures électriques de l'activité d'une protéine transmembranaire en s'appuyant sur les collaborations développées avec la centrale de nanofabrication Nanofab. Il s'agit d'un challenge expérimental puisque l'enjeu est la mesure d'un courant continu de l'ordre du pA traversant des membranes de quelques nanomètres formés par des gouttes de volume dans la centaine de nL.
- Étudier les phases d'insertion et l'activité de protéines transmembranaires dans les membranes formées en collaboration avec Éva PÉBAY-PÉROULA et Michel VIVAUDOU de l'institut de Biologie Structurale et en interaction avec le postdoc recruté sur ce projet.
- Explorer les réseaux de membranes dans le but d'y imiter un processus biologique (réplication d'ADN, synthèse protéique par exemple).

La thèse proposée s'intégrera dans le projet NanoBioDrop soutenu par le programme pluridisciplinaire du CNRS «Interface et Prise de risques » et le RTRA « Nanosciences ».

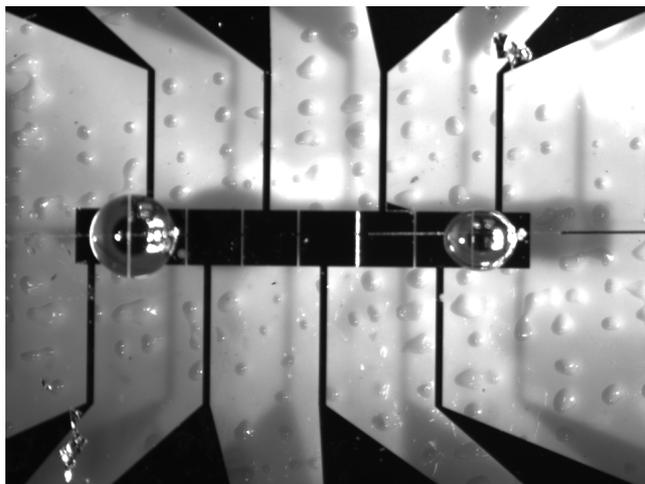


FIGURE 1: Un échantillon réalisé pour le déplacement de gouttelettes d'eau par électromouillage et l'étude de la formation de membranes biologiques.

Connaissance et compétences requises

Formation : Physique, Mécanique, Biophysique, Nanosciences, Sciences des Matériaux.

Compétences souhaitées : Physique des surfaces, nanofabrication, techniques de mesures électriques et optiques

Goût pour la biologie et pour le travail dans une communauté pluridisciplinaire.