

# Anne Varenne

Interview - Seconde partie

## Responsable de l'équipe de recherche SEISAD

*Le Cercle : Nous revoici avec Madame Varenne que nous remercions chaleureusement pour cette interview ! Maintenant que nous en savons plus sur votre parcours, pourriez-vous nous présenter vos travaux de recherche menés au sein de l'équipe SEISAD ?*



Anne Varenne

Source : Assises franco-colombiennes de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. Colifri.com

Mes travaux de recherche, autour des **sciences analytiques**, ont toujours été aux interfaces avec les autres disciplines de la chimie ainsi que de la biologie, pour des applications vers les sciences de la vie et de la santé, ainsi que l'environnement. Je suis responsable de l'équipe de recherche « Synthèse, Electrochimie, Imagerie et Systèmes Analytiques pour le Diagnostic » (SEISAD) de l'unité Institute of Chemistry for Life and Health Sciences (iCLEHS, Chimie ParisTech PSL, UMR 8060 CNRS). L'équipe développe des projets visant à **élaborer des processus et des outils pour le diagnostic précoce de signaux pathologiques ou de contamination environnementale**, en utilisant des méthodologies chimiques et biochimiques. Pour cela, nous travaillons à différents niveaux, allant **de la recherche fondamentale et de la compréhension des phénomènes aux applications et développements méthodologiques**. Ces deux niveaux sont menés de façon **indissociable et synergique** pour des applications dans les domaines des **sciences de la vie** et de **l'environnement**.

### Sur quoi portent vos projets actuels ?

Au sein de l'équipe, nous travaillons sur ces thématiques de recherche de façon **transversale**, pour répondre aux **besoins de diagnostic, imagerie et thérapie**. Pour la partie analytique (avec mes collègues Fanny d'Orlyé et Laura Trapiella), nos travaux de recherche évoluent en fonction des financements dont nous sommes les heureux lauréats. La ligne directrice est la suivante :

- développement de méthodologies électrocinétiques pour la séparation et/ou la caractérisation physico-chimique de mélanges de composés, dans des matrices complexes : optimisation des étapes de traitement de l'échantillon (développé par un processus électrocinétique pour une meilleure intégration), séparation et détection, ainsi que le couplage de ces différentes étapes<sup>1</sup> ; développement de méthodologies électrocinétiques pour la caractérisation physico-chimique en solution de différents composés/nanoplateformes/agents de reconnaissance moléculaire<sup>2</sup> ;
- conception, optimisation et caractérisation de nouveaux « outils » (objets nanométriques, biologiques, ligands innovants ....) pour améliorer les étapes du diagnostic<sup>3</sup> ;
- études des interactions entre les « outils » (nanoplateformes, objets de reconnaissance moléculaire) et leur cible (spécifique) ou des composés interférents (non spécifiques) dans les matrices. Elles sont effectuées par des méthodologies électrocinétiques (quantification des interactions non covalentes en solution), des études de toxicité et d'imagerie, toutes développées au laboratoire<sup>4</sup> ;
- transposition des méthodes de séparation électrocinétique du format capillaire vers la micro-puce, avec couplage des méthodes de séparation et des méthodes de détection spécifiques en ligne<sup>5</sup> ;
- conception et développement de dispositifs diagnostics miniaturisés et de laboratoires sur puce, à des fins de diagnostic et de recyclage<sup>6</sup> (Figure 1).

<sup>1</sup> J. Gouyon, F. D'Orlyé, J. Zimmerman, S. Griveau, F. Bedioui, A. Varenne. Speciation and quantitation of precious metals in model acidic leach liquors, theoretical and practical aspects of recycling, *Anal. Bioanal. Chem.* (2020) 412, 4595-4608.

<sup>2</sup> Marie Girardot, Fanny D'Orlyé, Stéphanie Descroix, Anne Varenne. Aptamer-conjugated nanoparticles : preservation of targeting functionality demonstrated by microchip electrophoresis in frontal mode. *Anal. Biochem.* (2013) 435, 150-152.

<sup>3</sup> Laura Trapiella-Alfonso, Gonzalo Ramirez-Garcia, Fanny d'Orlyé, Anne Varenne. Electrokinetic methodologies for the characterization of nanoparticles and the evaluation of their behaviour in biological systems. *Tracs, Trends in Analytical Chemistry* (2016) 84, part A 121-130

<sup>4</sup> G. Ramirez-Garcia, F. d'Orlyé, S. Gutierrez-Granados, M. Martinez-Alfaro, N. Mignet, C. Richard, A. Varenne, Electrokinetic Hummel-Dreyer characterization of nanoparticle-plasma protein corona: the non-specific interactions between PEG-modified persistent luminescence nanoparticles and albumin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, (2017) 159, 437-444

<sup>5</sup> A. Ismail, M.O. Araujo, C.L.S. Chagas, S. Griveau, F. D'Orlyé, A. Varenne, F. Bedioui, W.K.T. Coltro. Colorimetric analysis of the decomposition of 5-nitrosothiols on paper microfluidic devices. *Analyst*, (2016), 141, 6314-6320

<sup>6</sup> Anne Varenne. Cooperation increases between analytical sciences and recycling. *Tracs, Trends in Analytical Chemistry* (2013) 48, 22-29

# Lab-on-a-chip for analytical platforms

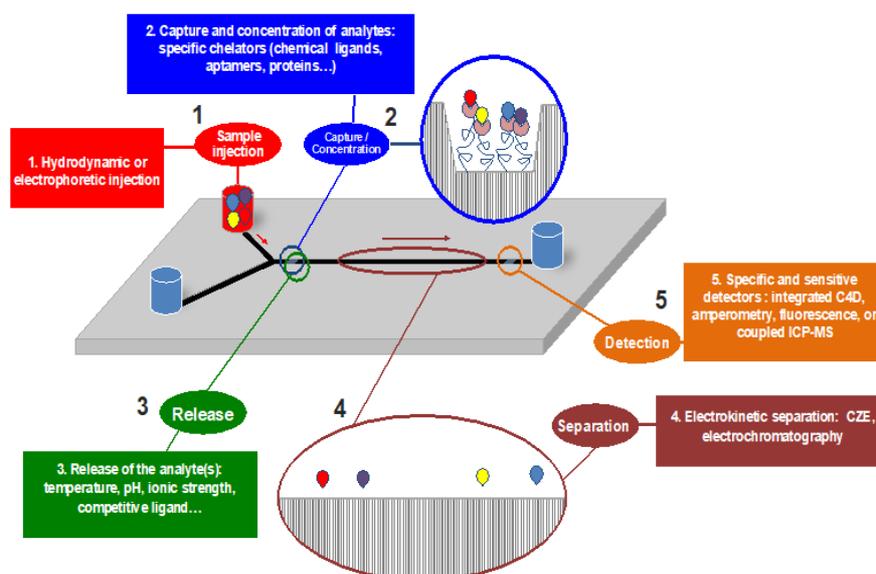


Figure 1 : Schéma général d'un laboratoire sur puce intégrant les étapes de traitement de l'échantillon, séparation et détection.

Ces travaux de recherche sont intégrés dans la **stratégie globale de recherche de l'équipe**, avec par exemple :

- de **nouvelles méthodologies de synthèse dans des réacteurs milli- et micro-fluidiques continus**, pour la **synthèse de nanotubes de peptides** (collaboration avec Camille Lescot),
- **l'intégration des méthodes de détection électrochimique en micro-puces** (collaboration avec Fethi Bedioui, Sophie Griveau),
- et la **préparation d'agents d'imagerie optique et IRM ciblés** (collaboration avec Bich-Thuy Doan).



Equipe SEISAD, Permanent Staff Members

Source : <https://iclehs.fr/research/seisad/>

Ces travaux sont effectués en **interaction avec différents partenaires nationaux** (ESPCI, ENS, Université de Paris, Université Paris Saclay, Université de Montpellier ENS Rennes...) mais aussi **internationaux** (Tunisie, Espagne, République Tchèque, Afrique du Sud, Mexique, Brésil, Argentine, USA...). Au sein de Chimie ParisTech, nous avons des projets communs avec les équipes de recherche de notre unité, l'Institut of Chemistry for Life and Health Sciences (iCleHS) en chimie théorique (I. Ciofini, F. Labat, C. Adamo), en chimie biologique (G. Gasser) et des projets ou interactions avec des équipes de l'IRCP (2PM, M. Tatoulian, C. Guyon, S. Ognier ; MIM2, G. Lefevre). Notre équipe fait partie de l'Institut Pierre-Gilles de Gennes pour la Microfluidique (IPGG) et bénéficie de tous les équipements de microfabrication de l'Institut. Nous sommes lauréats de financements pour nos collaborations à l'international (Brésil, Afrique du Sud, Tunisie, Argentine, Programmes Hubert Curien) et nous travaillons en étroite collaboration avec nos collègues brésiliens grâce à un financement du CNRS « International Emerging Actions ». Lors de ces coopérations internationales nous construisons avec les universités partenaires des doubles diplômes au niveau doctorat, appelées co-tutelles de doctorat. Nous avons par exemple actuellement des étudiant(e)s en doctorat brésilien(ne)s, mexicain(e)s et sud-africain(e)s qui font leur recherche chez nous dans ce cadre de co-tutelle. Lorsque les financements le permettent, nos doctorant(e)s français effectuent un séjour de 6 à 8 mois dans nos laboratoires partenaires internationaux (Chine, Brésil, Argentine...).

Voici ci-dessous un **focus sur quelques projets** :

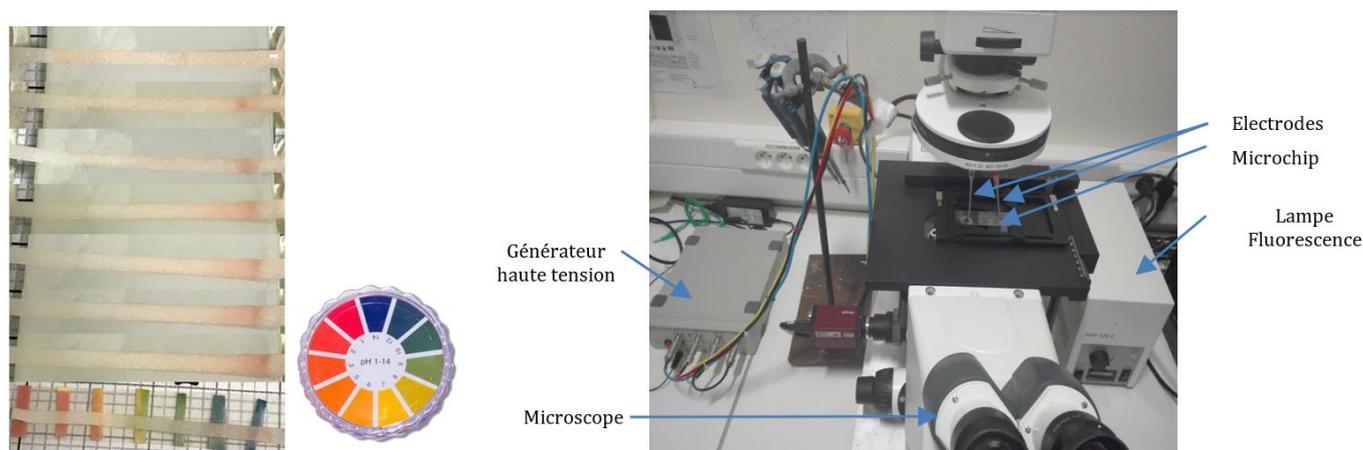
### Développement de méthodologies électrocinétiques

Nous développons de nouvelles **méthodes électrocinétiques couplées avec des méthodes de détection** performantes (fluorescence, spectrométrie de masse, électrochimie...). Ces développements méthodologiques sont effectués sur des appareillages classiques et en format microfluidique ou sur des puces en papier. Pour cela, nous travaillons sur (1) la chimie des solutions pour apporter spécificité et sélectivité des méthodes, (2) de nouveaux ligands à reconnaissance moléculaire (chimiques ou biologiques), (3) de nouvelles nanostructures comme agents sélectifs ou nanovecteurs, (4) la caractérisation physico-chimique des objets en solution avant leur intégration dans les méthodologies analytiques.

Par exemple, nous avons développé il y a quelques années une méthode innovante et rapide pour la séparation et caractérisation de protéines, ouvrant la voie à un nouveau type **d'analyse « protéomique »**<sup>7</sup>. [N.D.L.R. La protéomique désigne la science qui étudie les protéomes, c'est-à-dire l'ensemble des protéines constituant les cellules et tissus d'un organisme vivant.] Nous travaillons actuellement sur la transposition de ce procédé en format miniaturisé, sur un support papier, afin de réduire encore le temps d'analyse et générer un procédé automatisé et à disposition de tout public. Le support papier est en effet peu coûteux, peu impactant sur l'environnement, pouvant intégrer facilement différentes fonctionnalités (création de zones de confinement des fluides, création d'électrodes pour la séparation et la détection, effet de capillarité dans le papier). L'objectif est d'intégrer trois étapes essentielles pour l'analyse protéomique sur un support papier :

- la **séparation des protéines** en fonction de leur point isoélectrique (par focalisation iso-électrique) : générer un gradient de pH, un champ électrique pour focaliser les protéines, etc.
- leur **digestion** : nous travaillons sur un mode de digestion électrochimique qui n'a encore jamais été appliquée pour une analyse protéomique intégrée : conception de l'électrode sur papier, conditions de milieu pour la meilleure digestion (clivage électrochimique des protéines en peptides), etc.
- l'**identification et quantification des fragments peptidiques** générés par la digestion en couplant avec la spectrométrie de masse. La comparaison des données expérimentales obtenues avec une base de données permet d'identifier la protéine dont sont issus les fragments peptidiques.

Chaque étape doit être optimisée et conçue de façon à être compatible avec l'étape suivante (en termes d'interférences possibles des champs électriques de chaque étape, des réactifs et produits présents en fin d'étape, de compatibilité des vitesses des fluides à transférer d'une étape à l'autre, ...). Le type de « papier » est aussi étudié, ainsi que la géométrie du dispositif. Ainsi, nous ambitionnons de développer ce microdispositif à base de papier en format origami pour aider à la meilleure connaissance du protéome, qui est encore actuellement un enjeu majeur de santé.



**Figure 2** : Projet « proteomics on a chip » (A gauche) Preuve de concept de séparation de protéines sur des bandelettes de papier et identification du gradient de pH le long du support papier, avec une équipement rudimentaire. (A droite) Dispositif intégrant une séparation sous champ électrique et un microscope de fluorescence en vue d'une automatisation de l'étape de séparation par focalisation isoélectrique des protéines et leur identification dans une micro-puce (Thèse M. Ben Frej, financement de l'IPGG).

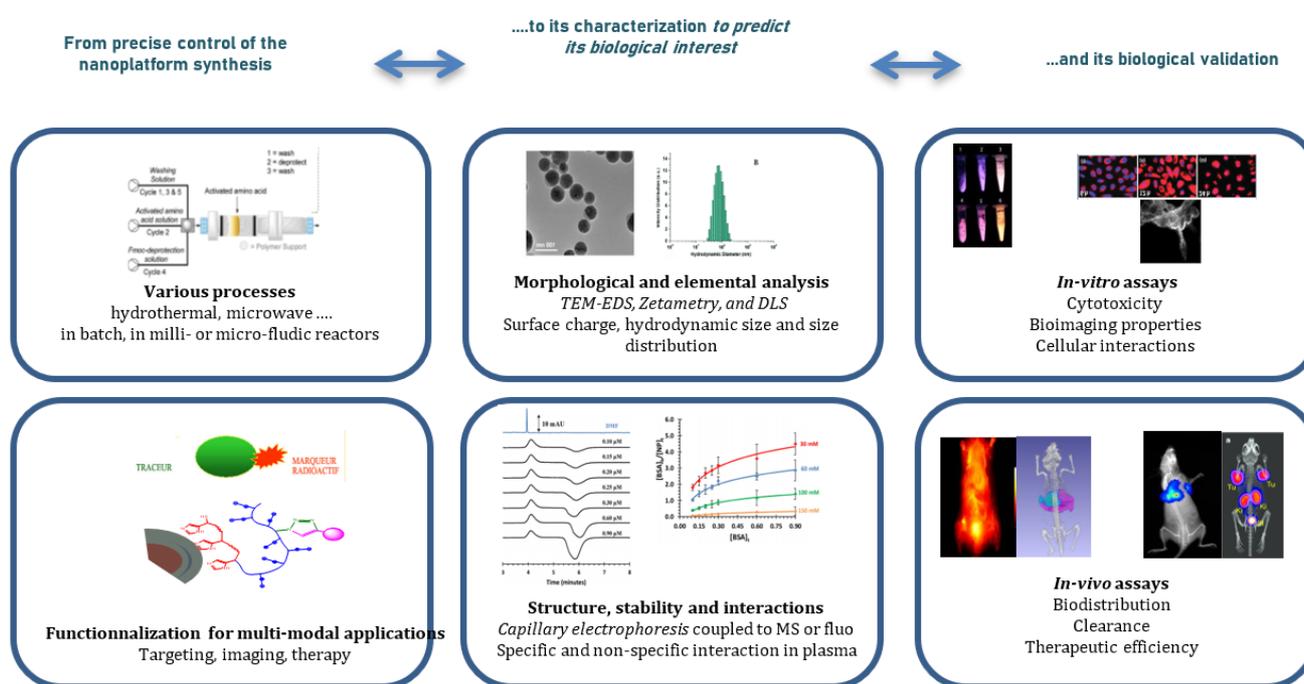
<sup>7</sup> M. Mokaddem, P. Gareil, A. Varenne. On-line capillary isoelectric focusing electrospray ionization mass-spectrometry in glycerol-water media with a view to hydrophobic protein applications. Electrophoresis (2009) 30, 4040-4048

## Conception et développement d'« outils » de diagnostic, d'imagerie et de thérapie

Nous développons des **nanomatériaux/nanostructures** (nanoparticules d'oxyde magnétiques, fluorescentes, nanostructures chimie-luminescentes, graphene quantum dots, nanotubes de peptides...) et des **outils de reconnaissance moléculaire** (aptamères...) à travers différents axes de recherche :

- **optimisation des procédés de synthèse** de ces nouveaux objets par **caractérisation physico chimique** (dont électrocinétique), et transposition des synthèses en systèmes milli- voire micro-fluidiques
- **fonctionnalisation** chimique de ces nanomatériaux pour (1) leur biocompatibilité en vue de leur utilisation en imagerie et/ou en thérapie, (2) l'immobilisation à leur surface des outils de reconnaissance moléculaire pour générer la capture des analytes d'intérêt en très faible quantité<sup>8</sup> pour le diagnostic.
- études ex-vivo de leurs **interactions** avec les **fluides biologiques** par méthodes électrocinétiques,
- études in-vitro et in-vivo de la **toxicité**, de la **biodistribution**, du **ciblage** et de la **clairance** (capacité d'un tissu, organe, organisme à éliminer d'un fluide biologique une substance donnée) de ces nanomatériaux.
- études de leur intérêt comme outil de diagnostic et thérapie (theranostic).<sup>9</sup>

La figure 3 décrit les différentes étapes de la stratégie de nos recherches, du contrôle précis de la synthèse des « outils », à la caractérisation physico-chimique et la validation biologique de ces outils nanostructurés pour leur utilisation en théranostique.



**Figure 3 :** Stratégie de l'équipe SEISAD pour la conception de nouveaux outils de diagnostic, imagerie et thérapie.

Par exemple, nous avons développé la fonctionnalisation de nanoparticules à luminescence persistante pour une application de théranostique. Ces nanoparticules avaient été synthétisées dans le cadre d'une collaboration entre une équipe de Chimie ParisTech (B. Viana) et l'Unité à laquelle nous appartenions jusqu'en 2019 (UTCBS). Notre objectif était de caractériser physico-chimiquement les nanoparticules que nous avons modifié en surface pour générer une bonne bio-compatibilité, biodistribution et clairance, une faible toxicité, etc. Nous avons ainsi étudié ex-vivo (par électrophorèse capillaire) la génération d'une couronne de protéines (protein corona) issues du fluide biologique qui peuvent réduire très fortement leur biodistribution et leur efficacité thérapeutique. Nous avons comparé ces résultats avec des tests d'imagerie in-vivo, et avons montré que la méthodologie développée ex-vivo permet de modéliser les interactions possibles des nanoparticules lorsqu'elles sont injectées pour imagerie.<sup>10, 11, 12, 13.</sup>

<sup>8</sup> Ramirez-García G, Oluwole D O, Robin Nxele S, D'orlye F, Nyokong T, Bedioui F, Varenne A. Characterization of phthalocyanine functionalized quantum dots by dynamic light scattering, laser Doppler and capillary electrophoresis. Anal. Bioanal. Chem. (2017) 409 ,1707-1715

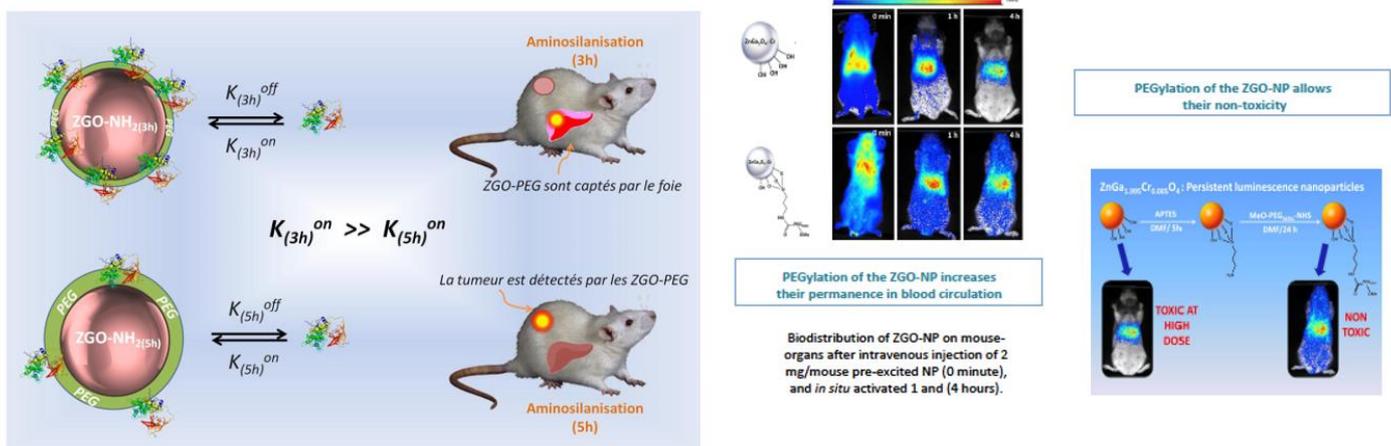
<sup>9</sup> L. Trapiella Alfonso, T. Pons, N. Lequeux, L. Leleu, J. Grimaldi, M. Tasso, E. Oujagir, J. Seguin, F. D'Orlyé, C. Girard, BT Doan, A. Varenne, Clickable-zwitterionic co-polymer capped- quantum dots for in vivo fluorescence tumor imaging ACS Appl. Mater. Interfaces (2018) 10, 17107-17116

<sup>10</sup> Gonzalo Ramirez-García, Fanny d'Orlyé, Silvia Gutierrez-Granados, Minerva Martínez-Alfaro, Nathalie Mignet, Cyrille Richard, Anne Varenne. Functionalization and characterization of persistent luminescence nanoparticles by dynamic light scattering, laser Doppler and capillary electrophoresis. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces, (2015) 136, 272-281

<sup>11</sup> Gonzalo Ramirez, Minerva Alfaro, Fanny, d'Orlyé, F. Bedioui, Nathalie Mignet, Anne Varenne, Silvia Gutierrez, Cyrille Richard, « Photo-stimulation of persistent luminescence nanoparticles enhances cancer cells death". International Journal of Pharmaceutics (2017) 532(2):696-703

<sup>12</sup> Ramirez-García G, Gutiérrez-Granados S, Gallegos-Corona MA, Palma-Tirado L, d'Orlyé F, Varenne A, Mignet N, Richard C, Martínez-Alfaro M. Long-term toxicological effects of persistent luminescence nanoparticles after intravenous injection in mice. International Journal of Pharmaceutics. (2017) 532(2):686-695

<sup>13</sup> G. Ramirez-García, F. d'Orlyé, S. Gutierrez-Granados, M. Martínez-Alfaro, N. Mignet, C. Richard, A. Varenne, Electrokinetic Hummel-Dreyer characterization of nanoparticle-plasma protein corona: the non-specific interactions between PEG-modified persistent luminescence nanoparticles and albumin, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, (2017) 159, 437-444 (3,997)



**Figure 4 :** *Projet « Fonctionnalisation de nanoparticules à luminescence persistante pour leur application en théranostique ». Etudes par électrophèse capillaire (détermination des constantes d'affinité) et par imagerie IRM de l'interaction des nanoparticules avec les protéines du fluide biologique, montrant leur intérêt pour des applications en théranostique (Thèse G. Ramirez-Garcia, co-tutelle avec l'Université de Guanajuato, financement du CONACYT, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia, Mexique)*

### Développement technologique de laboratoires sur puce

Nous travaillons sur le **développement technologique de laboratoires sur puce** (systèmes d'analyse totale miniaturisés). Pour cela nos travaux sont orientés vers la sélection de **nouveaux matériaux** de ces puces pour une **éco-conception** (polymères thermoplastiques innovants, papier, ...), le développement de nouvelles méthodes de **microfabrication** (méthodes douces et peu coûteuses, formats hybrides papier/plastiques, impression 3D, ...), le développement de **méthodes innovantes pour le traitement d'échantillons** ultra-traces (en très faible concentration) et l'intégration des différentes étapes d'une analyse (traitement de l'échantillon, séparation, détection) dans le microsystème. Les applications concernent entre autres les **biomarqueurs de maladies dans des fluides biologiques** et les **contaminants émergents dans l'environnement**. Nous travaillons aussi sur le **développement de méthodes de recyclage**, avec l'exemple de l'analyse et du recyclage des métaux stratégiques dans le cadre d'une interaction avec la Chaire Mines Urbaines.

Dans ce projet, nous avons développé, grâce à un financement de la Chaire Mines Urbaines, un **micro-dispositif pour le recyclage des métaux stratégiques dans les déchets d'équipements électriques et électroniques** (D3E). Cette micro-puce présente les avantages d'une microfabrication aisée et à faible coût, et d'être utilisable à long terme et de façon robuste (impact environnemental réduit). Elle consiste en un dispositif microfluidique réversible (un format hybride à base d'un polymère innovant de type NOA<sup>®</sup>, associé à du PDMS et du verre) intégrant des électrodes à base de graphite/PDMS pour l'électro-dépôt des cations métalliques (issus d'un lixiviat lors du processus de recyclage des D3E) sous leur forme métallique puis leur récupération par procédé électrochimique. Cette puce intègre aussi un processus d'analyse en ligne pour suivre et contrôler le procédé de recyclage. La preuve de concept a été démontrée pour la récupération du palladium Pd(II) et de l'or Au(III) à partir de liqueurs de lixiviation acide sous flux continu, avec un rendement de récupération pouvant atteindre 90%. Une telle micropuce ouvre la voie à de véritables traitements des liqueurs de lixiviation provenant de l'industrie du recyclage des déchets d'équipements électriques et électroniques, ou à l'épuration des eaux usées<sup>14, 15</sup>.

<sup>14</sup> J. Gouyon, F. D'Orlyé, C. Simon, S. Griveau, C. Sella, L. Thouin, F. Bedioui, A. Varenne. Reversible microfluidics device for precious metal electrodeposition and depletion yield studies, *Electrochimica acta* (2020) 352, 136474

<sup>15</sup> J. Gouyon, S. Griveau, F. d'Orlyé, A. Varenne, F. Bedioui. Characterization of home-made graphite/PDMS microband electrodes for amperometric detection in an original reusable glass-NOA<sup>®</sup>-PDMS electrophoretic device. *Electrochimica Acta* 329 (2020) 135164.

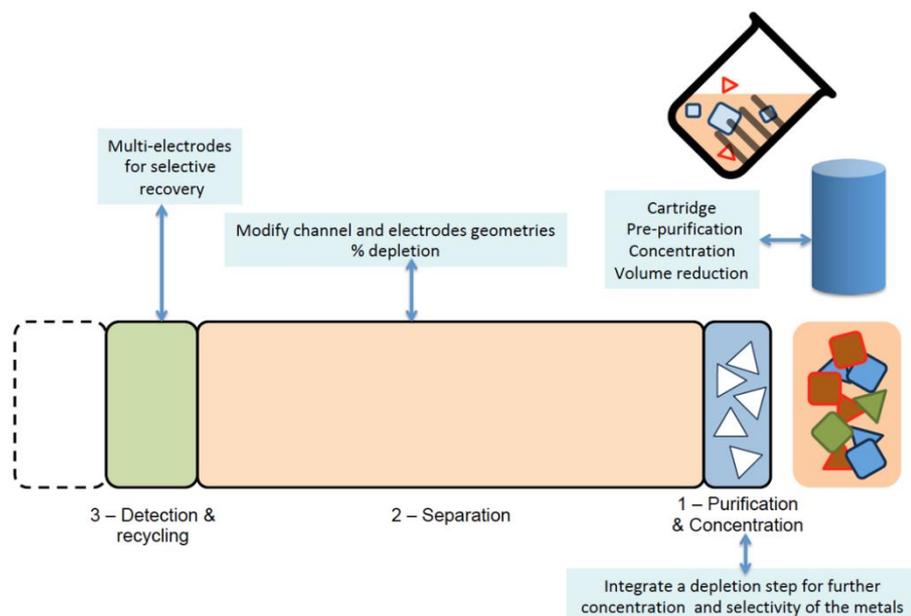


Figure 5 : Projet « Puce microfluidique pour le recyclage des métaux stratégiques dans les D3E ». Schéma du principe général de la puce, incluant une étape de traitement de l'échantillon (purification et concentration des métaux stratégiques sous forme de cations métalliques), séparation des différents cations métalliques par électrocinétique, recyclage (par électro-dépôt), détection et récupération des métaux stratégiques (Thèse J. Gouyon, financement : Chaire Mines Urbaines)

Merci beaucoup pour toutes ces informations sur vos recherches actuelles qui nous apparaissent très vastes et passionnantes ! Etes-vous en interaction avec d'autres types de structures non académiques ?

Nous travaillons en interaction avec des **collègues du monde académique, mais aussi des industriels, des hôpitaux...** Notre travail consiste à comprendre ce que veulent les industriels et les hospitaliers et d'y répondre en leur proposant des solutions adéquates, fonctionnelles et utilisables par des non experts.

Avez-vous déjà travaillé sur des projets qui n'ont pas abouti ?

**La recherche n'existerait pas si toute expérimentation était sûre d'aboutir.** Elle fonctionne par essai/erreur et les expériences qui ne sont pas concluantes nous fournissent des informations fondamentales pour avancer dans nos stratégies de recherche, par la compréhension des phénomènes mis en jeu, les barrières technologiques et chimiques rencontrées... Dans l'histoire des sciences, certaines découvertes ont été mises en évidence par cette réflexion scientifique itérative à partir d'expériences non concluantes. **Il est rare de publier ces résultats non concluants**, et c'est dommage pour la communauté, car cela pourrait orienter d'autres chercheurs vers de nouvelles voies de réflexion.

Le Cercle : Merci beaucoup Madame Varenne pour cet entretien riche en découvertes !

Chers lecteurs,

Nous espérons que cette interview vous a plu !

Pour en savoir encore plus sur l'équipe de recherche SEISAD : <https://iclehs.fr/research/seisad/>

Et, comme le disait Madame Varenne à la fin du précédent article « venez plus souvent discuter avec les enseignant(e)s et les chercheurs(euses), nous en serons ravis ! ». Donc n'hésitez pas ! Pour rappel, elle est responsable des cours de Chimie des Solutions en 1A à Chimie Paris, de Physico-chimie analytique pour la bioanalyse et l'environnement en 2A et de l'UE de 3A intitulée "De l'écoconception au recyclage".

A bientôt pour un nouveau « Parlons Sciences » !  
Béatrice et Blandine pour Le Cercle de Chimie ParisTech - PSL

