



Université de RELIZANE
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département: Sciences biologiques



Biocapteurs enzymatiques



Dr Berzou

Année universitaire : 2022/2023

I. Introduction

- Depuis le premier biocapteur décrit par **Leland C. Clark, Jr. Et Champ Lyons** en 1962 dédiée à la mesure **du glucose (biocapteur enzymatique)**, les stratégies analytiques implémentées dans les biocapteurs se sont largement diversifiées afin de couvrir un champ d'actions très étendu, **de l'agroalimentaire à la santé** en passant par **l'environnement**.
- Ce dispositif analytique est, par conséquent, la résultante de la **synergie** entre un élément **de reconnaissance biologique immobilisé** (bioélément) et un **capteur physique : le transducteur**.
- Les éléments biologiques de reconnaissance peuvent être de natures très différentes (**anticorps, enzymes, ADN, cellules**) que l'on appelle « **ligand** » ou **biorécepteur**. Ces derniers vont interagir avec leur environnement et, de cette interaction va naître un signal analogique spécifique (émission de photons, modification de pH, de masse, d'activité).
- Le rôle **du transducteur** est alors de **convertir le signal biologique en signal numérique analysable**.

2. Architecture des biocapteurs

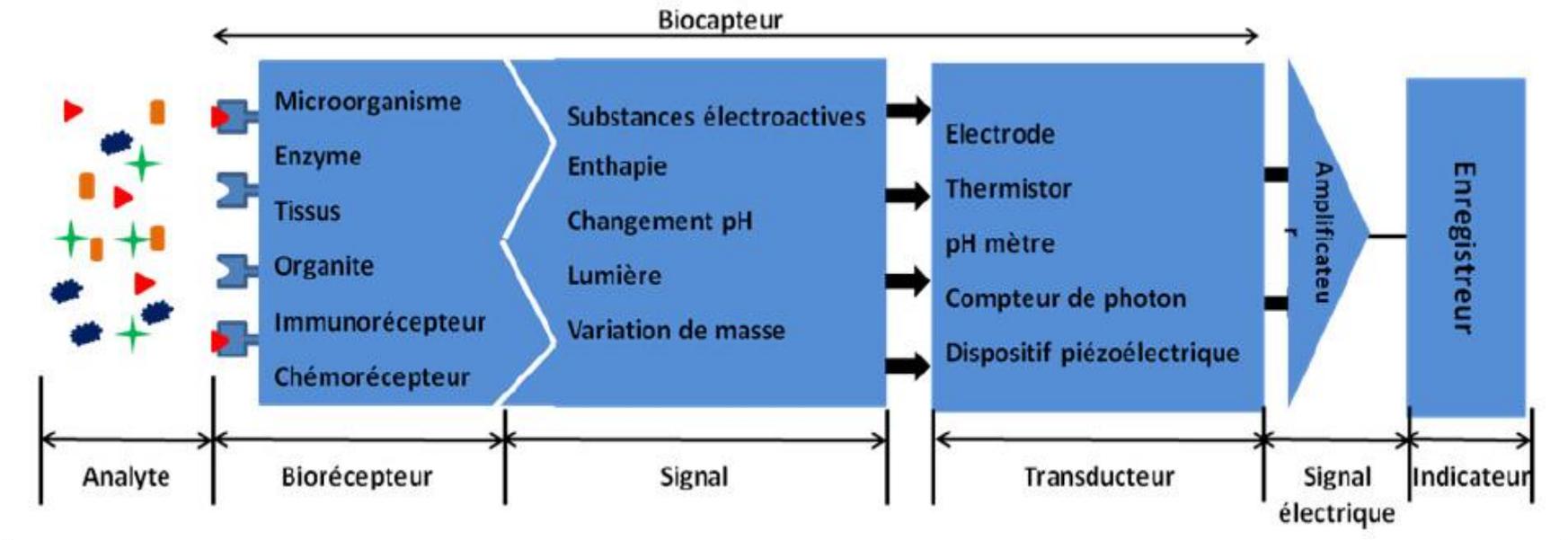


Fig.1 Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur.

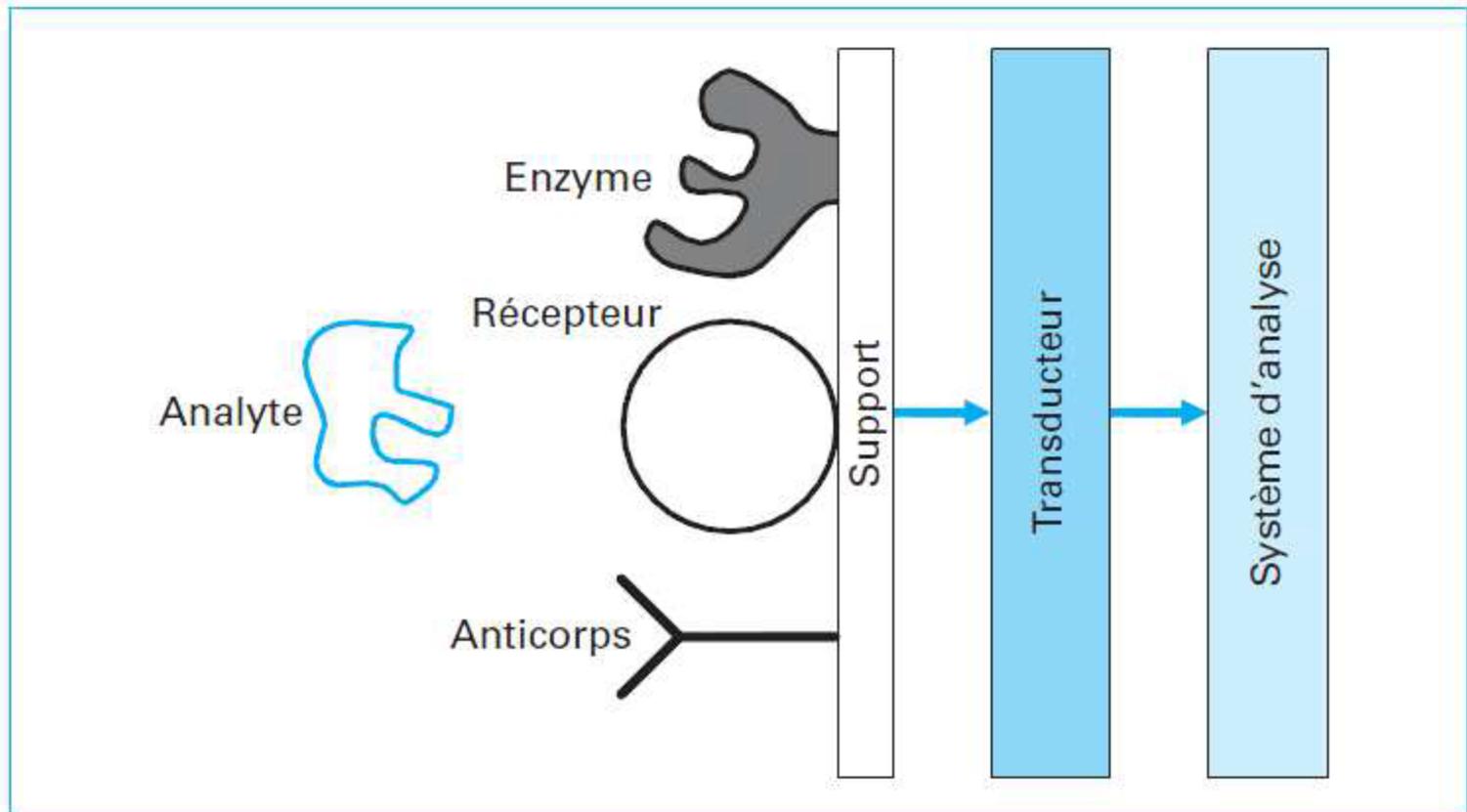


Fig.2 - Schéma simplifié d'un biocapteur avec l'analyte, le ligand immobilisé sur le support, le transducteur et l'appareil de mesure du signal

2. Architecture des biocapteurs

2.1 Bioéléments ou Bio-capteur

➤ Les biocapteurs reposant sur les bioéléments de reconnaissance sont donc des dispositifs analytiques combinant une structure protéique avec un transducteur (capteur physique capable de mesurer l'intensité du signal biologique et de le convertir en un signal numérique capables de produire un signal proportionnel à la concentration d'analyte cible (substance ou produit chimique constituant le centre d'intérêt d'une procédure d'analyse chimique, toxicologique ou écotoxicologique (Fig. 1).

2.1.1 Enzymes et anticorps

2.1.2. ADN et aptamères

2.1.3 Cellules vivantes

➤ Ce biocapteur visait à suivre la toxicité de matrices gazeuses au moyen de bactéries naturellement bioluminescentes (*Photobacterium phosphoreum*). L'applicatif, les biocapteurs reposant sur ce type de reconnaissance ont connu un essor particulier dans le domaine de l'environnement pour estimer des paramètres d'effets tels que la toxicité ou l'évaluation de la charge polluante biodégradable.

2.2 Méthodes de transduction

2.2.1 Biocapteurs optiques

- Parmi l'ensemble des biocapteurs optiques recensés dans la littérature, on retrouve
 - Le marquage (fluorescence, colorimétrique, bioluminescence)
 - La résonance plasmonique de surface (SPR) ;
 - La spectroscopie Raman

2.2.1.1 Méthode par marquage

- Les techniques reposant sur le marquage consistent à mettre en évidence la liaison entre le bioélément (sonde biologique) et la cible au moyen d'un indicateur optique.

➤ Colorimétrie

Le marqueur va induire l'apparition, la modification ou l'inhibition de la couleur de l'indicateur suite à la réaction entre le bioélément et la cible. La colorimétrie sera suivie par spectrophotométrie (absorbance de la lumière incidente par l'indicateur colorimétrique).

➤ **Fluorescent**

Le phénomène de reconnaissance biologique va être révélé par un signal **fluorescent**. La molécule fluorescente (fluorophore ou fluorochrome) va **absorber de l'énergie lumineuse** incidente (longueur d'onde d'excitation) passant ainsi dans un état excité.

➤ **Luminescent**

Le signal émis dans ce cas correspond à **un signal lumineux** généré sous **l'action de réactions chimiques, enzymatiques** (chimiluminescence), **électrochimiques** (électrochimiluminescence) ou **biologiques** (bioluminescence) à l'origine d'une émission de photons.

2.2.1.2 Résonance plasmonique de surface

➤ La résonance plasmonique de surface (*Surface Plasmon Resonance*) est une méthode permettant de mettre en évidence la liaison entre l'analytique cible et un « récepteur » adsorbé à la surface d'une couche métallique (généralement une couche d'or sur un support de verre) (Fig. 3).

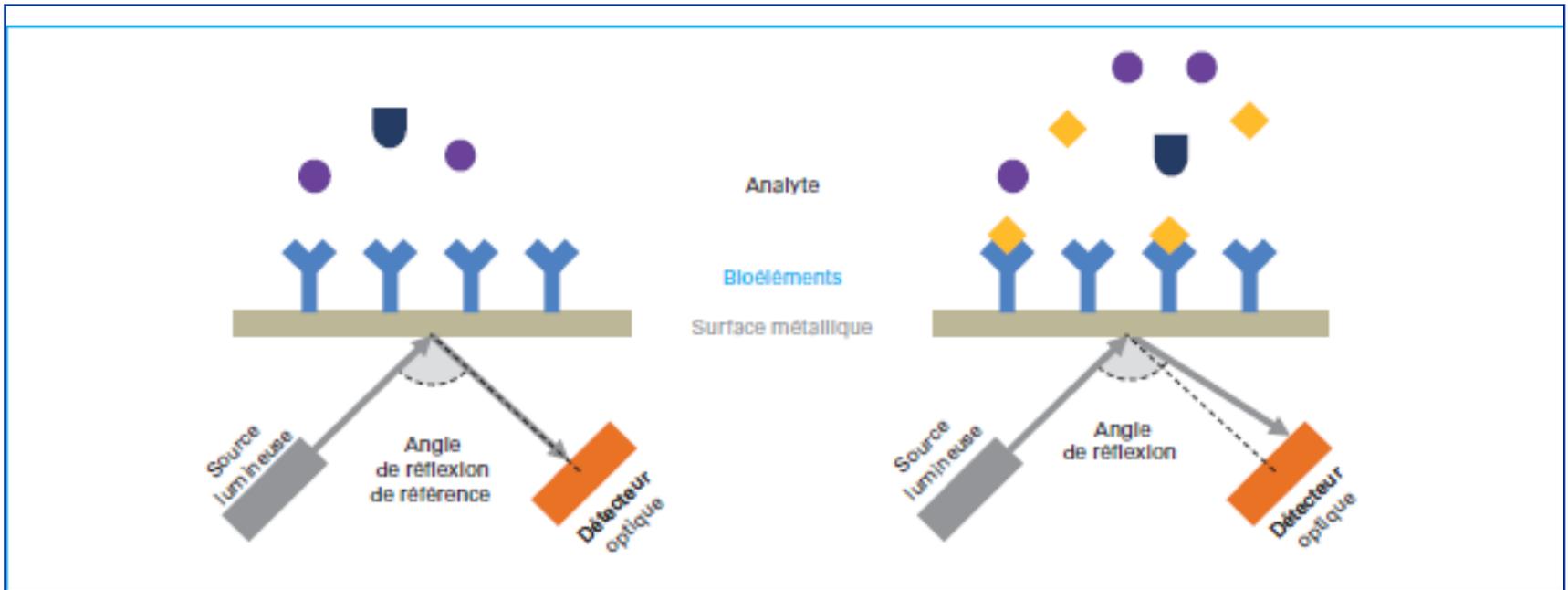


Fig. 3 Principe de fonctionnement d'un biocapteur optique SPR

➤ Dans le cas des biocapteurs, les bioéléments (oligonucléotides, aptamères, anticorps, enzymes, microorganismes) sont immobilisés sur une surface métallique.

2.2.1.3 Spectroscopie Raman

➤ La spectroscopie Raman peut également être utilisée comme **transducteur optique** pour les **biocapteurs**. Cette technique consiste à envoyer **une lumière** monochromatique sur un échantillon et à analyser la lumière diffusée. Ainsi il est possible d'identifier les groupes chimiques présents dans l'échantillon en s'appuyant sur l'analyse des spectres recueillis.

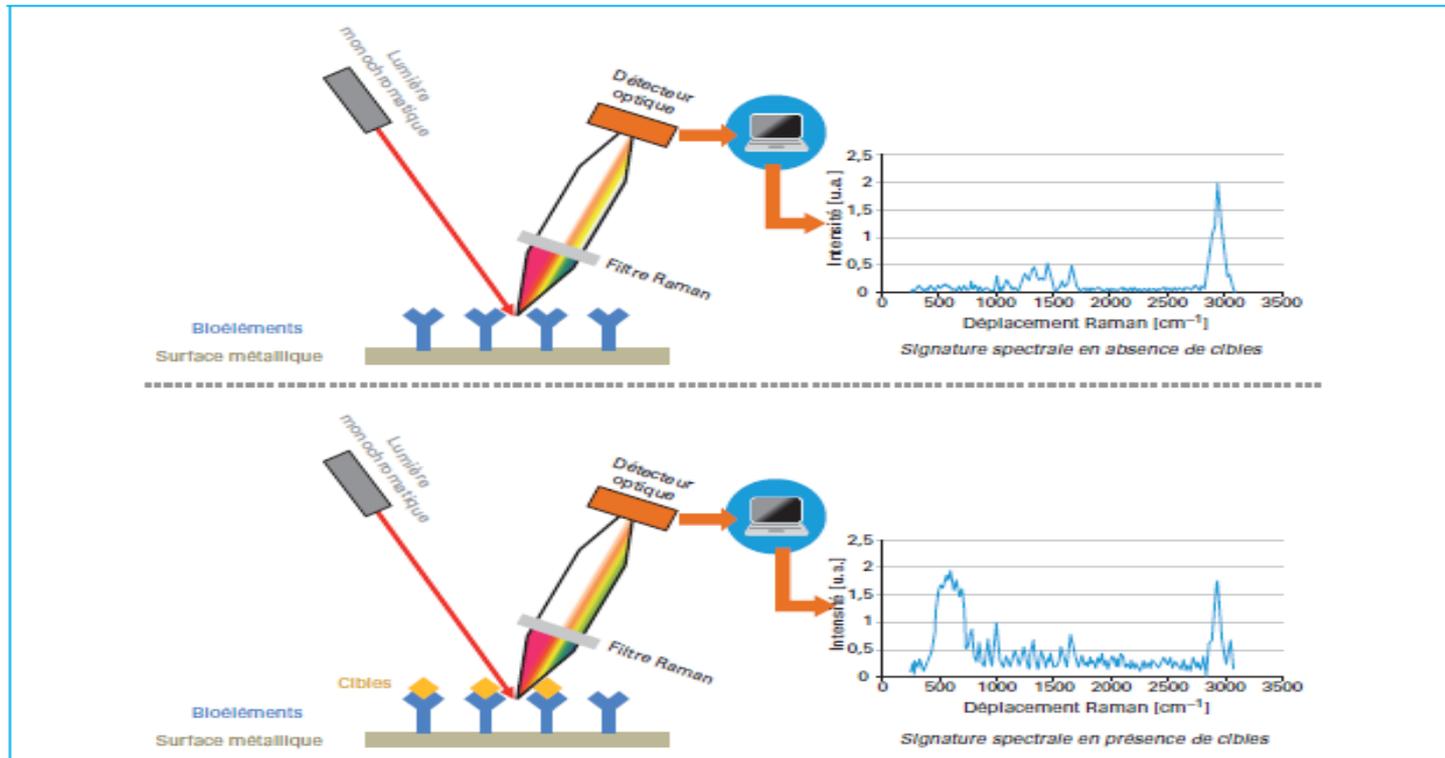


Fig.4 Principe de fonctionnement d'un biocapteur optique Raman (SERS)

2.2.2 Biocapteurs électrochimiques

- Dans le cas des **biocapteurs électrochimiques**, les **bioéléments** sont **immobilisés** a la surface **d'une électrode**. La formation d'un complexe entre la sonde biologique et la cible va induire un signal électrique spécifique.
- Ces systèmes peuvent reposer sur des mesures ampérométriques, potentiométriques, impedancemétriques (audition) ou conductométriques.

2.2.3 Biocapteurs piézoélectriques

- Le principe de ces biocapteurs repose sur le phénomène de prise de masse associée à la formation de complexes entre les bioéléments et les analytes cibles.
- L'évaluation de ces prises de masse s'appuie sur les propriétés vibrationnelles propres aux cristaux piézoélectriques.

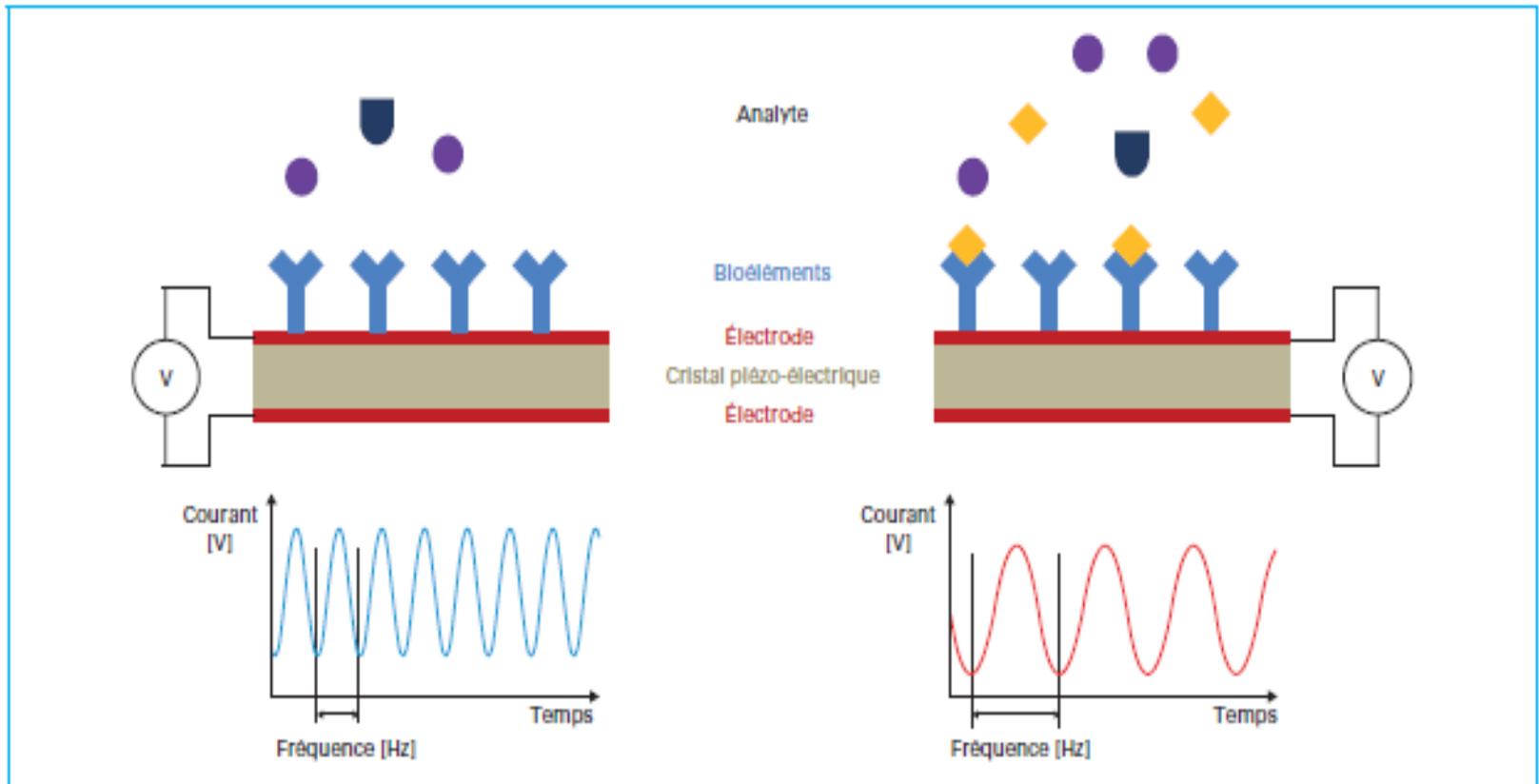


Fig. 5 Principe de fonctionnement d'un biocapteur piézoélectrique

2.2.4 Biocapteurs thermiques

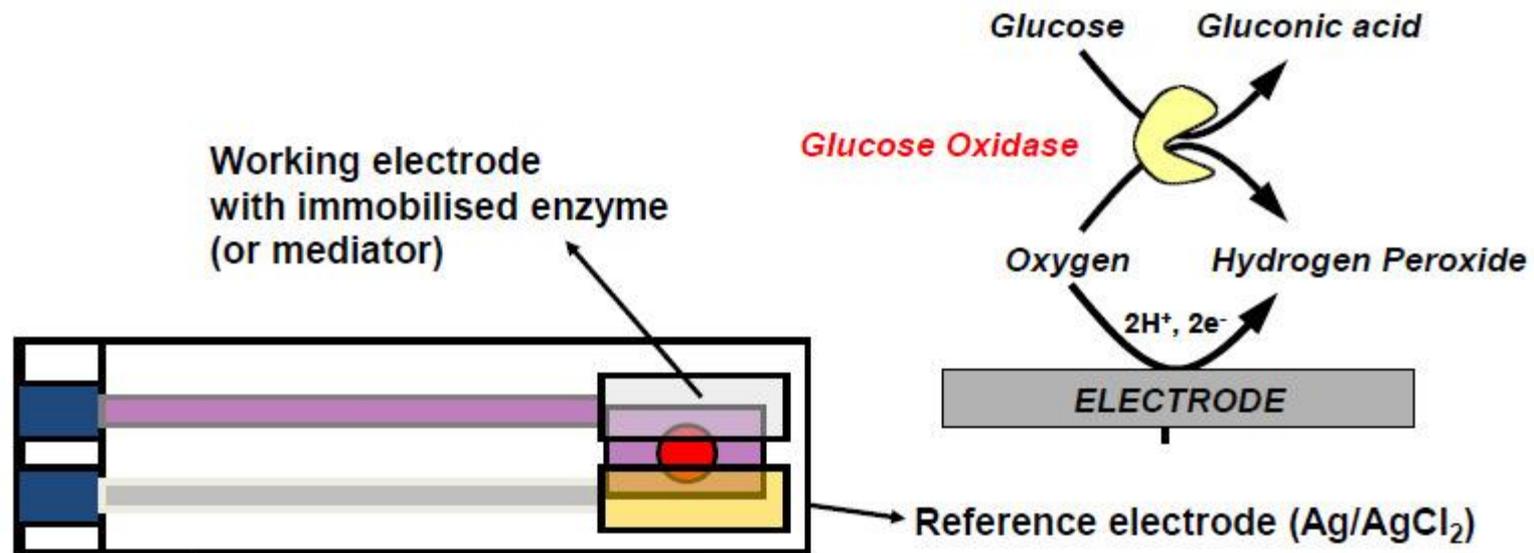
- Ce type d'architecture repose sur les variations de température observées lors d'une réaction enzymatique (à l'origine d'une libération ou d'une absorption de chaleur). L'amplitude de cette variation est relative au nombre d'unités enzymatiques qui réagissent.
- Par conséquent, des biocapteurs ont pu être développés, basés sur ce phénomène de reconnaissance.

3. Applications dans le domaine de l'environnement

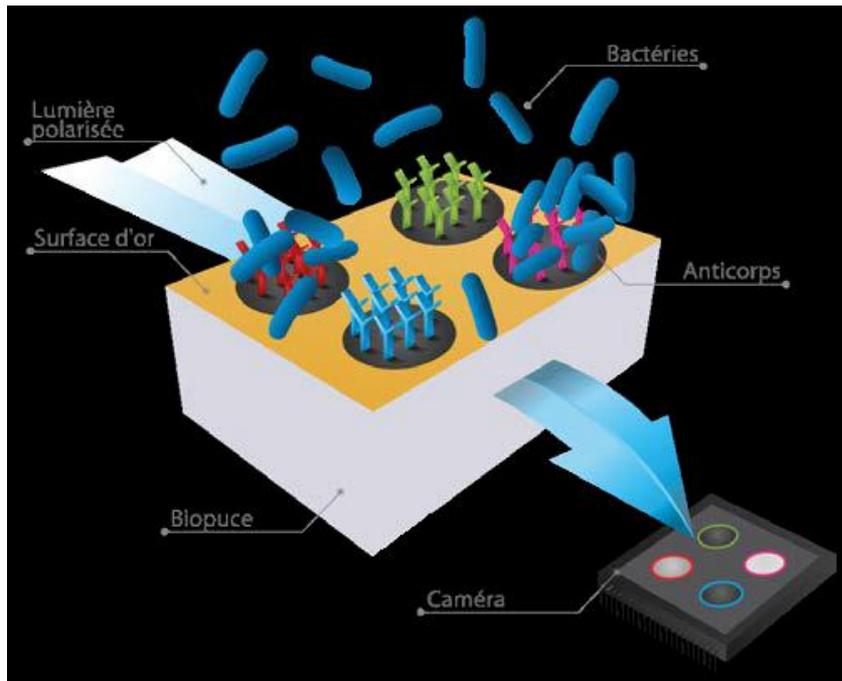
- Détection spécifique d'éléments traces métalliques (ETM)



Mesurer les éléments traces



➤ **Biocapteur à glucose (glucomètre):** Utilise la glucose oxydase (GOD ou GOx) immobilisée



Fonctionnement d'un capteur SPR pour la détections de Bactéries (Agroalimentaire)