

Lab-on-chip pour l'analyse des D-aminoacides dans les fluides biologiques

BIOLOGIE & SANTÉ 2011



D-aminoChip, ANR PVC 2007-2011

C. Demesmay¹, V. Dugas¹, J. Chamieh¹, K. Faure¹, O. Vandennebele-Trambouze², I. Desvignes², T. Moreau², C. Faye², I. Gosse³, S. Pinet³, F. Serra³, E. Peyrin⁴, C. Ravelet⁴, J-L. Décout⁴, I. Baussane⁴.

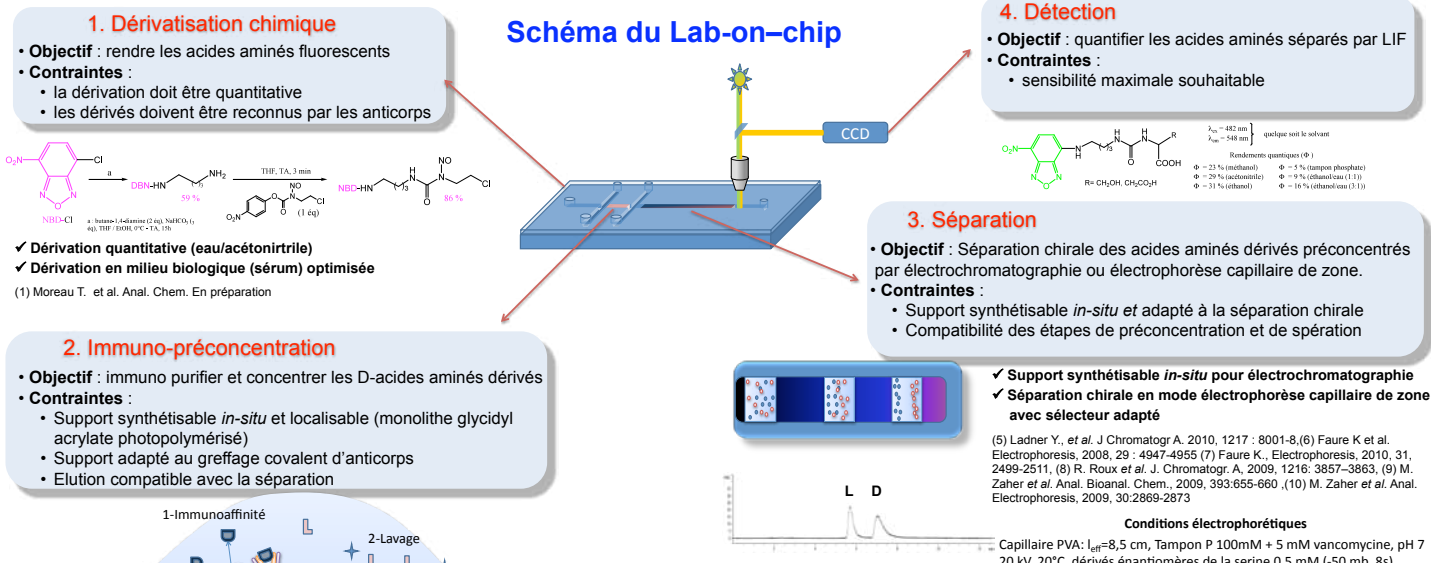
Contexte

Les énantiomères D- des acides aminés jouent un rôle prépondérant en biochimie, notamment dans la neurotransmission.
 → La D-sérine est impliquée dans l'évolution de maladies neurologiques, telles que la schizophrénie ou l'épilepsie.
 → Le D-aspartate a été détecté dans le cas de la maladie d'Alzheimer ou encore de la cataracte.
 Comprendre le rôle des formes D- des acides aminés dans la fonction neurologique permettrait une avancée considérable dans la compréhension des maladies qui en découlent. De nouveaux outils d'analyse adaptés sont nécessaires.

Objectifs et Résultats

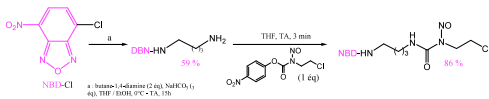
Développer un outil de type Lab-on-chip pour :
 ➢ Doser avec une grande sensibilité et spécificité les D-acides aminés dans les fluides biologiques
 ➢ Permettre à terme de l'analyse haut débit

Schéma du Lab-on-chip



1. Dérivatisation chimique

- **Objectif** : rendre les acides aminés fluorescents
- **Contraintes** :
 - la dérivatisation doit être quantitative
 - les dérivés doivent être reconnus par les anticorps

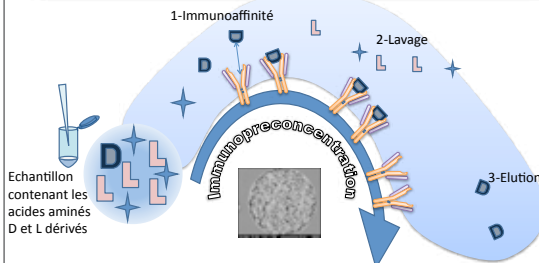


- ✓ Dérivatisation quantitative (eau/acétonitrile)
- ✓ Dérivatisation en milieu biologique (sérum) optimisée

(1) Moreau T. et al. Anal. Chem. En préparation

2. Immuno-préconcentration

- **Objectif** : immuno purifier et concentrer les D-acides aminés dérivés
- **Contraintes** :
 - Support synthétisable *in-situ* et localisable (monolithe glycidyl acrylate photopolymérisé)
 - Support adapté au greffage covalent d'anticorps
 - Elution compatible avec la séparation

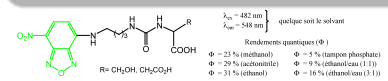


- ✓ Support synthétisable *in-situ* dans lab-on-chip
- ✓ Anticorps spécifiques du D-asp et D-ser obtenus (polyclonaux).
- ✓ Greffage covalent des anticorps (9.3 µg d'anticorps/mg de support)

(2) Moreau T. et al. Analytica chimica acta, 2011 submitted, (3) Faye C. Anal. Biochem. 2011 submitted, (4) Chamieh J. in preparation

4. Détection

- **Objectif** : quantifier les acides aminés séparés par LIF
- **Contraintes** :
 - sensibilité maximale souhaitable



3. Séparation

- **Objectif** : Séparation chirale des acides aminés dérivés préconcentrés par électrochromatographie ou électrophorèse capillaire de zone.
- **Contraintes** :
 - Support synthétisable *in-situ* et adapté à la séparation chirale
 - Compatibilité des étapes de préconcentration et de séparation



- ✓ Support synthétisable *in-situ* pour électrochromatographie
- ✓ Séparation chirale en mode électrophorèse capillaire de zone avec sélecteur adapté

(5) Ladner Y., et al. J Chromatogr A. 2010, 1217 : 8001-8, (6) Faure K et al. Electrophoresis, 2008, 29 : 4947-4955 (7) Faure K., Electrophoresis, 2010, 31, 2499-2511, (8) R. Roux et al. J. Chromatogr. A. 2009, 1216: 3857-3863, (9) M. Zaher et al. Anal. Bioanal. Chem., 2009, 393:655-660, (10) M. Zaher et al. Anal. Electrophoresis, 2009, 30:2869-2873

Conditions électrophorétiques

Capillaire PVA: l_{tot} =8,5 cm, Tampon P 100mM + 5 mM vancomycine, pH 7 20 kV, 20°C, dérivés énantiomères de la sérine 0.5 mM (-50 mb, 8s),

Conclusions, Perspectives

- ✓ La faisabilité de chaque étape a été démontrée séparément.
- ✓ De nouveaux outils méthodologiques uniques ont été développés
- ✓ La réalisation « off line » de l'ensemble de l'analyse est en cours
- ✓ Le couplage en ligne de l'étape de préconcentration et de l'étape de séparation chirale (en format capillaire) et leur transfert en microsysteme seront réalisés très prochainement

CONTACT :

demesmay@univ-lyon1.fr

1. UMR 5180, Laboratoire des Sciences Analytiques, Univ. C. Bernard, Lyon 1.
2. UMR 5247, Institut des Biomolécules Max Mousseron, Univ. Montp. II
3. UMR 5255, Institut des Sciences Moléculaires, Groupe NSysA, ENSCP Bordeaux
4. UMR 5063, Dep' de Pharmacochimie Moléculaire, Univ. Grenoble 1.

