

## ANNEXE 1

### Extrait d'une interview de Véronique Gigoux, chercheuse à l'INSERM

*Cette interview a été réalisée par Lucille Marin, Alice Rousseau et Marine Tellier en 2018, dans le cadre de leur Travaux Personnels Encadrés (\*).*

*(\*) NanoMedico : La médecine de demain – HS n°42 – Février 2018*

**« Les nanoparticules magnétiques que vous utilisez sont-elles toxiques ?**

La plupart du temps, les nanoparticules sont vues comme des particules très dangereuses qui abîment, de l'intérieur, le corps humain grâce à leur petite taille ; cependant cela dépend d'où elles proviennent, de leur concentration... Les nanoparticules utilisées lors de nos expériences ne sont pas dangereuses : en effet, celles utilisées ne sont qu'en solution, à une très faible concentration pour éviter un potentiel danger comme la cytotoxicité. La cytotoxicité est une action destructrice d'une substance sur des cellules. Elles sont préparées en laboratoire avec le plus grand soin. De plus, elles sont composées d'oxyde de fer, un matériau naturel et biodégradable même une fois injecté dans le corps humain. »

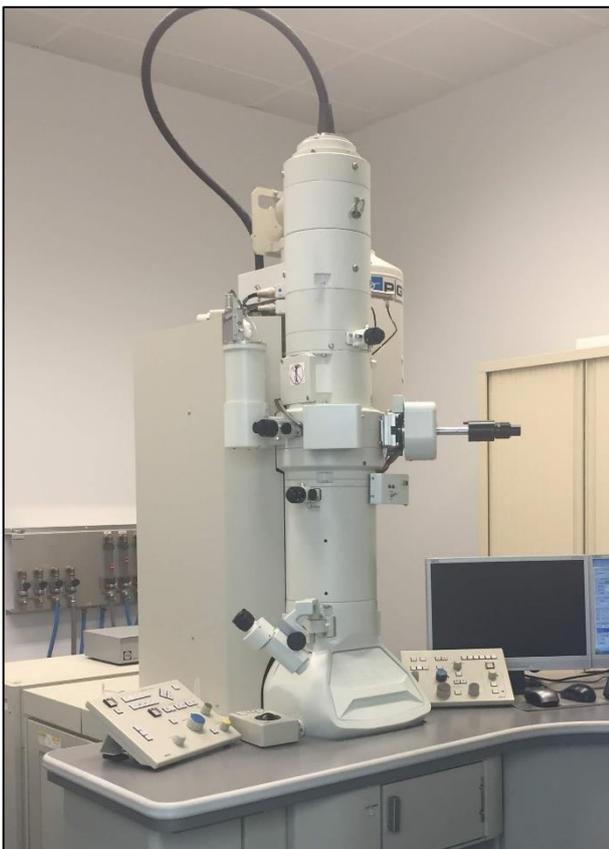
## ANNEXE 2

### Fonctionnement d'un microscope électronique en transmission et manipulation

#### Fonctionnement

Si un microscope optique utilise un faisceau d'ondes électromagnétiques, le microscope électronique en transmission applique, quant à lui, un faisceau d'électrons.

En effet, des électrons sont générés par un canon à électrons formé d'un filament que l'on chauffe en lui appliquant une tension d'environ 120 000 V. Leur vitesse est accélérée, puis ils sont focalisés sur l'échantillon par des lentilles électromagnétiques. Ici, l'échantillon est une grille de quelques millimètres de longueur et nanomètres d'épaisseur, recouverte d'une fine couche de carbone, sur laquelle sont positionnées les nanoparticules magnétiques en solution. L'échantillon a été préparé la veille afin que la solution ait le temps de sécher. Nous utilisons une grille afin de pouvoir, évidemment, laisser le faisceau d'électrons passer et ainsi qu'il puisse arriver sur l'écran.



*L'image ci-contre présente le microscope électronique en transmission utilisé.*

*L'image ci-dessus détaille la grille utilisée lors de l'observation.*

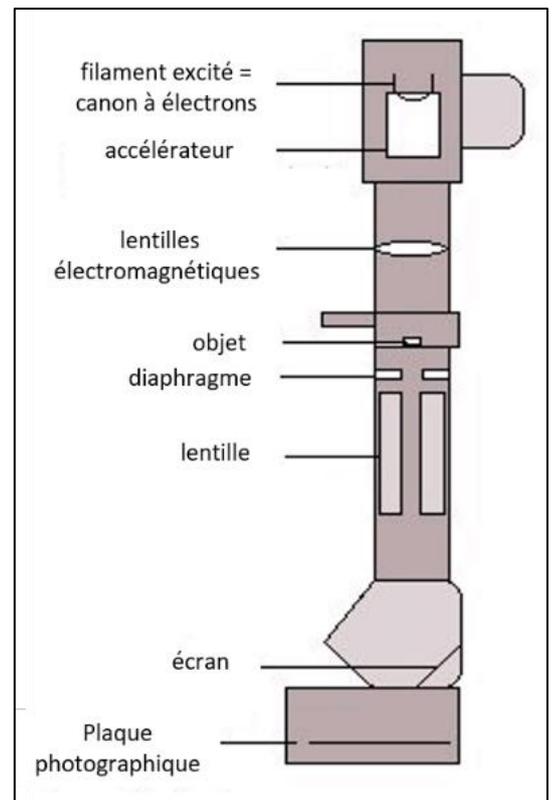
Le faisceau d'électrons interagit avec l'échantillon suivant l'épaisseur, la densité ou la nature chimique de ce dernier. Ils sont donc chargés du signal de la grille. Après que les électrons soient passés dans un diaphragme, puis une nouvelle lentille, un capteur traite numériquement ces informations en analysant

l'énergie qu'ils transportent, pour ensuite former une image photonique projetée sur un écran phosphorescent devant lequel se place l'observateur.

Une caméra est positionnée sous le plan afin d'enregistrer l'image obtenue et la diffuser sur un ordinateur grâce à un logiciel spécifique au microscope.

Il est nécessaire de souligner que le tube du microscope est fait de vide secondaire soit  $10^{-5}$  torr contre 787 torr pour l'atmosphère terrestre afin d'éviter l'interaction des électrons avec les molécules présentes dans l'air. On parle de vide "secondaire" car il contient encore moins de molécules d'air que le vide "primaire" : le vide secondaire est donc plus important que le vide primaire. Pour obtenir ce vide, le microscope est relié à une machine spécialisée ainsi qu'à un appareil de mesure du vide.

La mise en place de l'observation est donc très rigoureuse puisque comme il est dit précédemment, le microscope contient du vide. Il faut donc que tout soit vérifié précisément afin de ne pas endommager l'appareil.



## Manipulation

Maintenant, passons à l'observation : le protocole de manipulation est simple et surtout comme la plupart des autres microscopes.

D'abord, il faut placer l'échantillon dans le tube du microscope puis condenser la lumière jusqu'à la focaliser au milieu de l'écran afin de pouvoir observer l'ombre du filament à l'origine de l'envoi des électrons. Puis on met le diaphragme afin d'augmenter les contrastes et donc avoir un meilleur rendu.

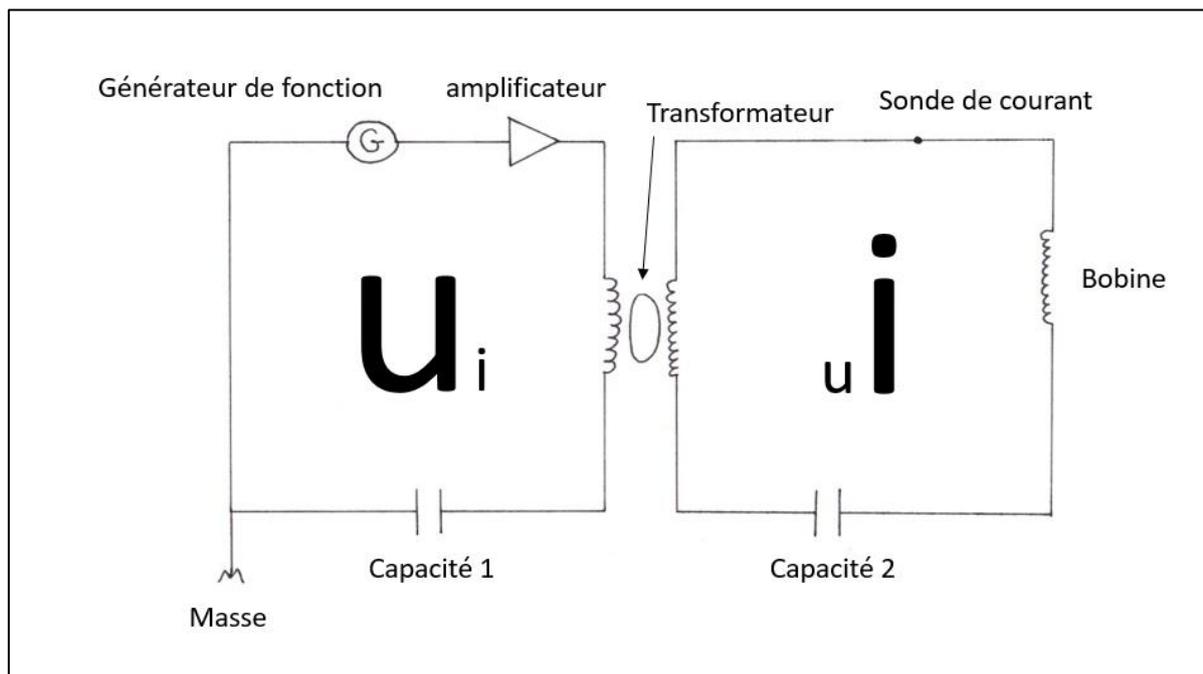
L'observation se fait d'abord à travers le microscope pour faire des réglages si nécessaires et puis une seconde observation se fait par l'ordinateur de manière à faire des réglages plus précis.



## ANNEXE 3

### Fonctionnement du circuit amplificateur de courant

L'expérience nécessite un courant élevé et s'appuie, pour cela, sur l'utilisation d'un circuit amplificateur de courant.



Ce circuit est constitué de deux boucles.

Dans la première, on trouve tout d'abord un générateur de fonction. Ce générateur génère un courant assez bas mais de forte tension. Malgré le fait que la tension soit élevée, elle ne l'est pas assez. C'est pourquoi on trouve aussi dans cette boucle, un amplificateur. Il permet d'obtenir une meilleure tension et un courant un peu plus élevé. Mais, pour notre expérience, un grand champ magnétique est nécessaire. Or, le champ est proportionnel au courant qui passe dans la bobine, donc, pour obtenir un grand champ, il faut un grand courant. Pour parvenir à cela, le courant passe dans un transformateur. En passant dans deux bobines différentes (au niveau de leur nombre de spires), le courant est amplifié. Néanmoins, la tension diminue. Cette « transformation » permet d'obtenir un grand courant et donc, par la suite, un plus grand champ magnétique.

Dans la deuxième boucle, on trouve une sonde ampérométrique qui permet de vérifier la valeur du courant. Enfin, on trouve la bobine dont le fonctionnement est expliqué dans le dossier.

La capacité permet d'exploiter la puissance maximale. Cela permet de se placer à la résonance du circuit. Avant même de commencer la manipulation, nous vérifions la résonance du circuit pour une optimisation maximale du courant. On cherche donc le point d'équilibre entre la capacité et l'inductance qui doivent, en d'autres termes, se compenser. Pour cela, on court-circuite le circuit secondaire dans un premier temps, pour contrôler la résonance du circuit primaire. Dans un second temps, il s'agit de contrôler l'ensemble du circuit.

## ANNEXE 4

### Protocole de préparation des différents échantillons

Le pourcentage d'agarose correspond à une quantité de matière dans un volume. 1% signifie qu'il y a 1 g de produit dans 100 mL de solution.

Ce pourcentage s'écrit également % m/v ou % w/v (en anglais).

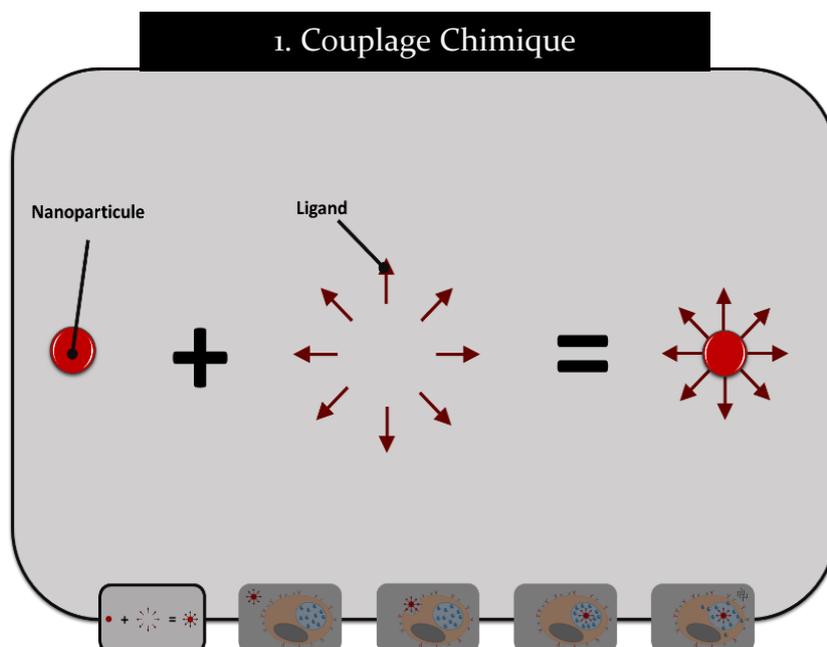
Le protocole de préparation fut le suivant :

1. Préparation de deux solutions mères d'agarose à différentes concentrations (Température de préparation = 90°C) :
  - Solution a (10% m/v d'agarose) : 1 mL d'eau distillée + 100 mg de poudre d'agarose,
  - Solution b (1% m/v d'agarose) : 5 mL d'eau distillée + 50 mg de poudre d'agarose,
2. Préparation des solutions filles de nanoparticules (à une concentration finale de 12,5 mg/mL) de 1 mL (Température de préparation = 90°C) :
  - Echantillon 1 (0% m/v d'agarose) : 0,5 mL d'une solution de nanoparticules à 25 mg/mL + 0,5 mL d'eau distillée,
  - Echantillon 2 (0,5% m/v d'agarose) : 0,5 mL d'une solution de nanoparticules à 25 mg/mL + 0,5 mL de Solution b,
  - Echantillon 3 (2,5% m/v d'agarose) : 0,5 mL d'une solution de nanoparticules à 25 mg/mL + 0,25 mL d'eau distillée + 0,25 mL de Solution a,
  - Echantillon 4 (5% m/v d'agarose) : 0,5 mL d'une solution de nanoparticules à 25 mg/mL + 0,5 mL de Solution a.
3. Agitation des tubes contenant les solutions filles pour homogénéiser la concentration en nanoparticules dans leur volume.
4. Trempe thermique dans une eau à 25°C des solutions filles pour figer les gels d'agarose et empêcher les nanoparticules de sédimenter au fond du tube. Cet état d'homogénéité est similaire à celui que l'on obtient en plongeant la solution sans agarose dans un bain à ultrasons pendant quelques minutes (10 min dans notre cas).
5. Préparation d'un échantillon 0 "blanc" contenant 1 mL d'eau distillée.

## ANNEXE 5

### Les nanoparticules : un traitement contre le cancer

Même s'il repose toujours sur des techniques similaires, le traitement par l'utilisation des nanoparticules magnétiques peut différer légèrement en fonction des cellules cancéreuses ou du type de cancer ciblés. En effet, les cellules cancéreuses ont la particularité de garder sur elles les éléments qui peuvent leur être utiles. Ainsi, elles conservent en partie les récepteurs<sup>1</sup>. Afin de les atteindre, il est donc nécessaire de connaître les récepteurs principaux. Avant un éventuel traitement, on procède ainsi à une biopsie<sup>2</sup> des cellules cancéreuses visées afin de connaître leurs caractéristiques, notamment les récepteurs spécifiques présents sur ces cellules. On effectue ensuite des recherches pour connaître "la" molécule qui sera attirée par les récepteurs des cellules cancéreuses. Cette hormone est appelée un ligand<sup>3</sup>. On fixe donc ce ligand à la nanoparticule pour permettre à celle-ci d'atteindre la cellule cancéreuse. Cette fixation est permise par une réaction chimique entre la composition COH du ligand et celle des nanoparticules NH<sub>2</sub> : on parle de **couplage chimique**.



Les nanoparticules sont prêtes à être envoyées dans un corps malade. Elles sont alors injectées par voies intraveineuses, c'est à dire dans les vaisseaux sanguins, afin de les répandre partout dans l'organisme. C'est grâce aux ligands fixés aux nanoparticules et attirés par les récepteurs spécifiques des cellules cancéreuses, que les nanoparticules vont pouvoir rejoindre les cellules cancéreuses dans la partie du corps visée. Les nanoparticules atteignent les "cellules cibles" en 3 à 4 heures.

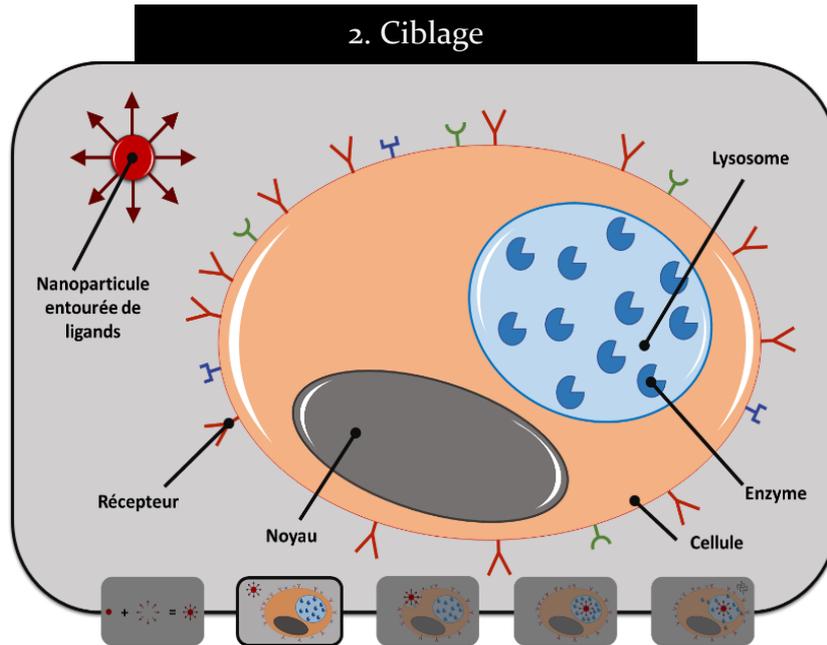
Si elles ne parviennent pas à atteindre la tumeur, les nanoparticules de 5 nm sont stockées soit dans les reins puis évacuées par l'urine, soit dans le foie et, étant biodégradables, disparaissent en deux semaines.

<sup>1</sup> Récepteur : protéine présente dans la cellule, sur la membrane ou sur le noyau. Il s'unit précisément à une molécule

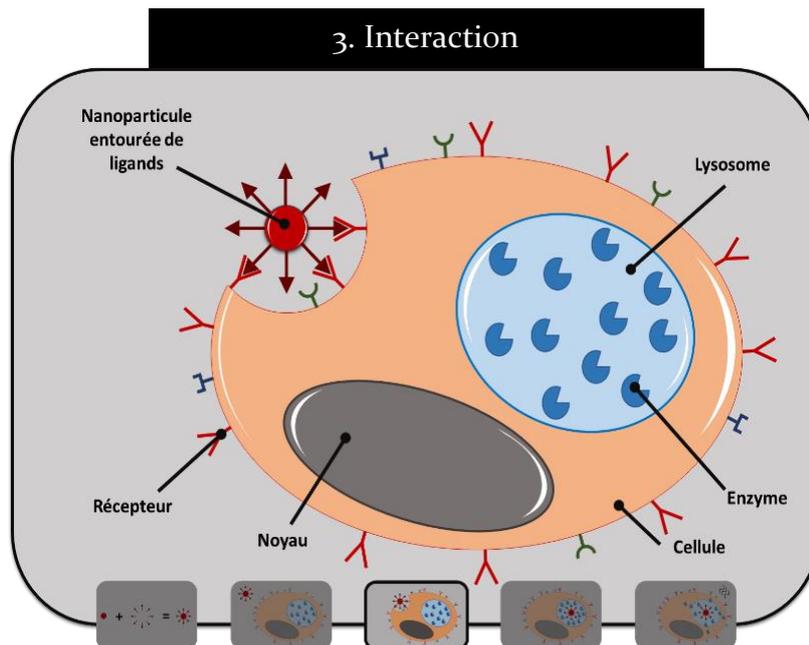
<sup>2</sup> Biopsie : prélèvement d'un morceau de tissu d'organe afin de réaliser des examens plus approfondis en laboratoire

<sup>3</sup> Ligand : hormone ayant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à d'autres éléments

Cette étape correspond au **ciblage**.

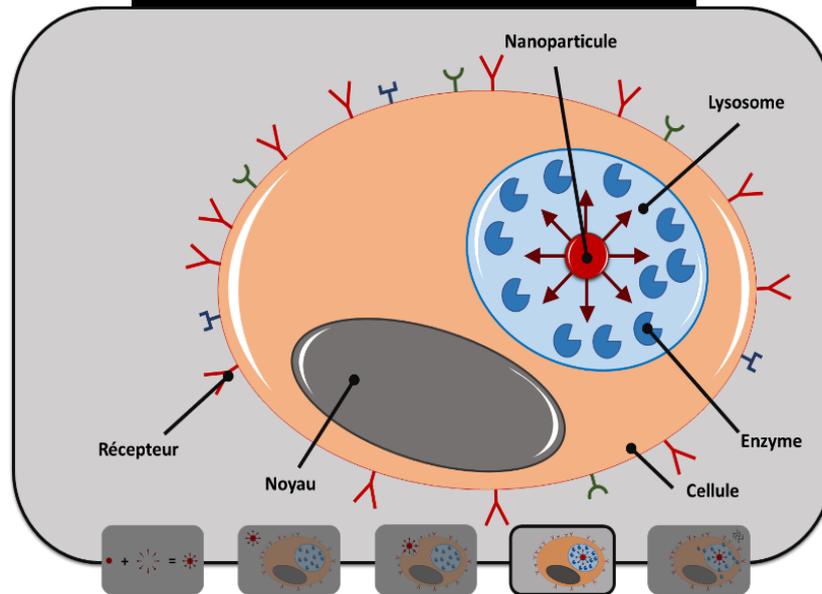


Lorsque les nanoparticules arrivent à proximité des cellules cancéreuses, une **interaction** se crée entre les récepteurs et les ligands fixés sur les nanoparticules.



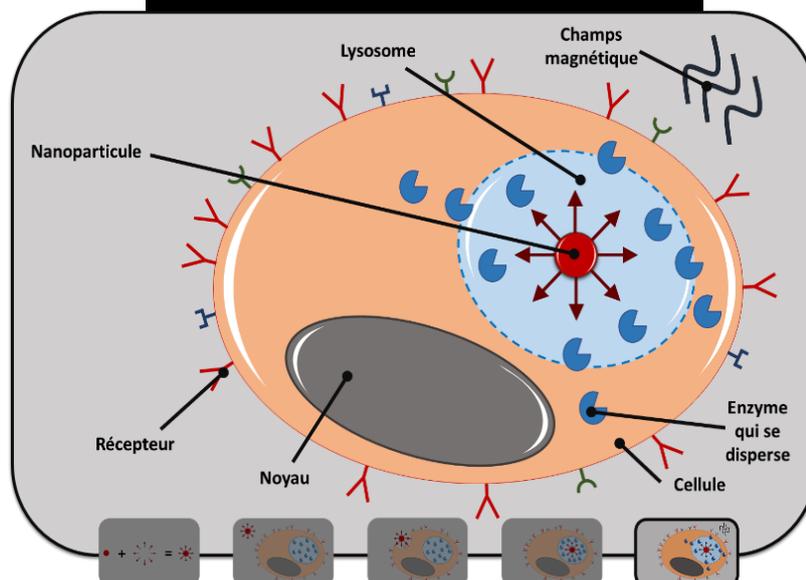
Les récepteurs et les ligands se scellent entre eux et provoquent l'aspiration des nanoparticules à l'intérieur des cellules ciblées : c'est l'**internalisation**. Une fois dans la cellule, les nanoparticules sont immédiatement absorbées par les lysosomes, des organites de la cellule. Ils servent à digérer les protéines et les sucres et protègent la cellule des corps étrangers (virus, bactéries) en les éliminant grâce à des enzymes acides : on parle de "poubelles cellulaires". Face aux nanoparticules, les lysosomes essaient donc de les détruire, en les absorbant, comme ils le feraient pour tout corps étranger.

#### 4. Internalisation



Cependant, le but de ce traitement est de faire agir les nanoparticules avant qu'elles ne soient détruites par les lysosomes. Pour parvenir à la mort cellulaire des cellules cancéreuses, on utilise le phénomène d'**hyperthermie** c'est à dire le chauffage par l'application d'un champ magnétique sur les nanoparticules ferromagnétiques.

#### 5. Hyperthermie



Comme vu auparavant, l'échauffement des nanoparticules magnétiques est dû essentiellement aux pertes d'énergies causées par le cycle d'hystérésis. Lors de l'application d'un champ magnétique alternatif sur un matériau ferromagnétique, les particules magnétiques s'alignent, suivant la direction du champ exercé. Quand ce champ magnétique est inversé, elles s'orientent de nouveau dans le même sens que celui du champ. Elles suivent cependant un "chemin" différent, suivant le cycle d'hystérésis. Elles perdent de l'énergie et chauffent. La chaleur libérée par les nanoparticules entraîne la rupture des lysosomes dans lesquels elles sont situées. Les enzymes très acides qu'ils contiennent sont alors libérées dans toute la cellule. Elles la détruisent et entraînent donc sa mort cellulaire. Cette mort se produit environ 4h après l'hyperthermie par champ magnétique.