

1. HISTORIQUE ET DEFINITION.

1.1. Historique.

L'histoire des biocapteurs débute en 1960 suite aux premiers travaux réalisés par Clark et Lyon pour la détection du glucose [9], Ces études ont été approfondies vers 1967 suite à la naissance du premier biocapteur réalisé par Updicke et Hicks [38], Ce biocapteur est une électrode à enzyme pour le dosage du glucose basée sur l'immobilisation de la glucose-oxydase dans un gel de polyamide. À la naissance du premier capteur biologique, la réalisation de ces dispositifs était simple et basée sur l'immobilisation physique de l'enzyme soluble à la surface d'un transducteur électrochimique. Quelques années plus tard, ces systèmes sont devenus de plus en plus complexes suite au couplage direct de l'enzyme avec le transducteur ce qui peut réduire partiellement ou totalement son activité biologique. Pour cette raison, il était important de mettre au point des méthodes d'immobilisation de l'enzyme qui perturbent le moins possible ses propriétés catalytiques [2].

1.2. Définition.

Avant d'aller plus loin il semble nécessaire de poser la question clé :

QU'EST CE QU'UN BIOCAPTEUR ?

Plusieurs définitions et terminologies ont été utilisées pour définir un biocapteur; de façon générale, un biocapteur biochimique ou capteur biologique est un dispositif analytique qui se situe à l'interface entre la physique, la chimie et la biologie. Les composantes essentielles du biocapteur incluent un élément de reconnaissance moléculaire qui constitue le biorécepteur et une composante physique qui constitue ce qu'on appelle le transducteur.

L'élément sensible est constitué par un matériau biologique chargé de reconnaître sélectivement l'espèce spécifique qu'on désire analyser (analyte). Plusieurs entités biologiques sont susceptibles d'être employées telles que les enzymes, les anticorps, les antigènes, les cellules, les tissus, l'ADN.....

Le transducteur joue le rôle d'un traducteur en convertissant les interactions ou les reconnaissances physico-chimiques entre le biorécepteur et la substance cible en un signal électrique, optique ou chimique [2].

Donc la réponse de notre question est : Un biocapteur est un dispositif analytique conçu pour transformer un phénomène biochimique en un signal mesurable. Il combine un composant biologique appelé "biorécepteur" et un "transducteur" représentant le mode de détection [25].

2. PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT.

Par définition un biocapteur est un outil analytique incorporant un élément biologique sensible appelé biorécepteur intimement lié à un transducteur. Le biorécepteur est capable de reconnaître spécifiquement une substance cible présente dans un milieu complexe grâce à son site particulièrement sélectif. Il assure la reconnaissance moléculaire. Le transducteur est l'élément physique qui sert à exploiter la modification biochimique issue d'une interaction entre un analyte et le biorecepteur pour la transformer en signal électrique. Le type de transducteur sera choisi en fonction des modifications biochimiques se produisant au niveau du biorecepteur. Cette adéquation entre le transducteur et l'élément biologique permettra d'obtenir un signal sensible et facilement exploitable [20].

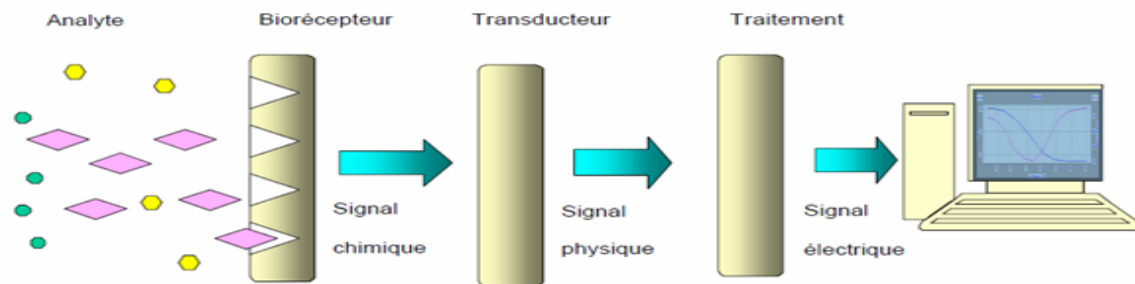


Figure 1.1: Représentation schématiques du principe de fonctionnement d'un biocapteur. [20].

3. CLASSIFICATION.

On peut classer les biocapteurs selon deux critères :

3.1. Selon le composé biologique immobilisé 'le ligand'.

Les ligands les plus souvent employés sont :

3.1.1. Les enzymes

Les biocapteurs à enzymes utilisent des enzymes spécifiques pour la capture et la génération catalytique d'un produit qui est alors directement mesuré grâce à une large gamme de transducteurs (électrochimiques, thermiques, acoustiques, ampérométriques, optiques,...). Ce type de biocapteurs a été souvent utilisé pour la quantification de contaminants tels que les pesticides, les herbicides et les antibiotiques [13].

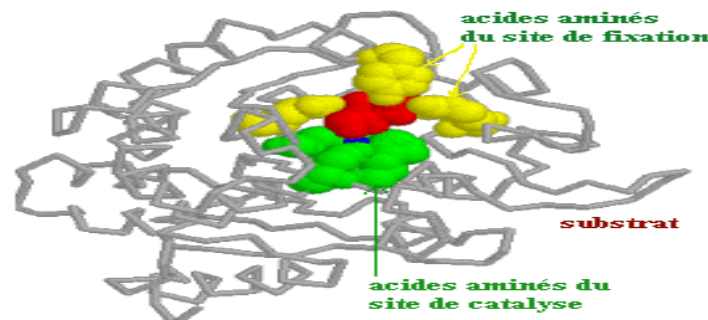


Figure 1. 2 : Structure d'une enzyme

3.1.2. Les anticorps.

Les anticorps comptent également parmi les biorécepteurs utilisés pour la conception d'un biocapteur [2]. Ces Ac ou immunoglobulines sont des protéines qui possèdent des sites capables de reconnaître spécifiquement une substance cible, qui constitue l'antigène correspondant [2, 27, 7]. Sont formés de quatre chaînes polypeptidiques, dont deux lourdes et deux légères. Elles sont reliées entre elles par un nombre variable de ponts disulfures assurant une exigibilité de la molécule. Ces chaînes forment une structure en Y. Pour un Ac donné, les deux chaînes lourdes sont identiques, de même pour les deux chaînes légères. Chaque chaîne polypeptidique est formée d'une partie constante et d'une partie variable. Les parties constantes sont caractérisées par une séquence en acides aminés très proche d'un Ac à l'autre. Ils ne sont pas impliqués dans la reconnaissance de l'antigène. Les parties variables sont situées aux extrémités des deux « bras ». L'association entre un domaine variable porté par une chaîne lourde et le domaine variable adjacent porté par une chaîne légère constitue le site de reconnaissance de l'Ag. Ainsi, un Ac possède deux sites de liaison à l'Ag, un au bout de chaque bras. Ces deux sites sont identiques, d'où la possibilité de lier deux molécules d'Ag par un Ac.

Les biocapteurs utilisant l'Ac comme biorécepteur suscitent un grand intérêt quant à la détection immunologique directe, c'est à dire sans molécules marquées. La mise au point d'une méthode d'interaction Ag-Ac suppose que l'on puisse mesurer un signal physique induit par la formation du complexe immun. Trois types de détection ont été utilisés : optique, Piézoélectrique et électrochimique. La structure générale d'un Ac est donnée sur la figure ci-dessous :

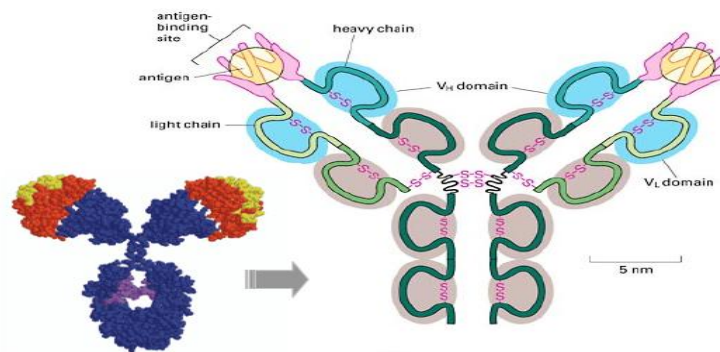


Figure 1.3 : Structure schématique d'une molécule d'anticorps (IgG) [6]

3.1.3. L'ADN.

L'ADN (acide désoxyribonucléique) renferme l'information nécessaire pour la synthèse des protéines. Est une macromolécule présente dans les cellules de tous les êtres vivants, dont sa fonction principale est de stocker l'information génétique qui détermine le développement et le fonctionnement d'un organisme. Cette information est contenue dans l'enchaînement

non-aléatoire des gènes. Une autre fonction essentielle de l'ADN est la transmission de cette information de génération en génération. Chaque molécule d'ADN est composée de deux brins complémentaires se faisant face et formant une double hélice enroulée, C'est en fait un motif identique tout le temps répété. On distingue trois motifs: des phosphates, des sucres (désoxyribose), et des bases azotées. Le sucre et le phosphate sont identiques. Ce qui différencie un motif d'un autre est la nature de la base azotée, qui est au nombre de quatre ; Adénine (A), Cytosine (C), Guanine (G), et Tyrosine (T), L'utilisation de séquences d'ADN comme biorécepteurs sur des puces à ADN suscite aujourd'hui un intérêt croissant [7]. Les capteurs d'ADN ou biopuces (microréseau à base d'ADN) offrent une nouvelle technologie qui exploite l'appariement de deux oligonucléotides complémentaires et même la possibilité d'identifier la séquence d'un gène et de détecter des mutations génétiques. Ces biopuces à ADN ont bouleversé ce domaine en offrant aux chercheurs la possibilité de réaliser des milliers d'analyse génétiques en parallèle, que ce soit dans le domaine du diagnostic du génotypage, de la pharmacogénomique ou de l'analyse globale de l'expression des gènes [6]. La figure suivante montre la structure en double hélice de l'ADN.

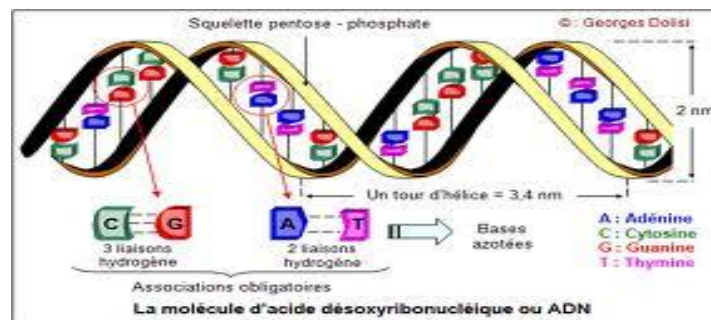


Figure 1.4 : Structure en double hélice de l'ADN.

3.1.4. Les microorganismes.

La cellule est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout ou partie d'un être vivant, l'utilisation de microorganismes ou de cellules entières pour la conception de biocapteurs est parfois envisagée. Pour remédier aux problèmes posés par les enzymes, la solution est d'utiliser directement le tissu ou le microorganisme contenant l'enzyme dans un environnement déjà optimisé par la nature. La stabilité et l'activité de ces enzymes dans la cellule sont plus grandes que celle des enzymes purifiées [2].

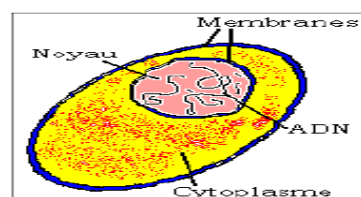


Figure 1.5 : Microorganismes (cellule) [7].

3.2. Selon le principe de transduction ‘le transducteur’.

De nombreux transducteurs ont été utilisés pour développer des biocapteurs. La nature du transducteur sert souvent de base pour la classification des différents biocapteurs [14].

3.2.1. Biocapteurs électrochimiques.

Le principe des biocapteurs électrochimiques repose sur l’immobilisation du ligand sur une électrode. Ce type de biocapteurs peut être conductimétriques, potentiométriques ou ampérométriques [14].

A. Les biocapteurs conductimétriques.

Sont basés sur le principe de modification de la conductivité d’un milieu entre deux électrodes [14].

B. Les biocapteurs potentiométriques.

Peuvent mesurer des variations de PH et de concentrations ioniques. Ces biocapteurs sont basés sur l’immobilisation d’une molécule biologiquement active (enzyme, Ag, Ac...) sur une membrane ou sur la surface d’un transducteur qui va répondre à l’espèce formée lors de la réaction enzymatique ou la formation du complexe immunitaire Ag-Ac [14].

C. Les biocapteurs ampérométriques.

Mesurent le courant produit lors de la réaction chimique d’espèces électroactives soumises à un potentiel. En conséquence, le courant mesuré par l’instrument peut être fonction de la contribution de différentes espèces chimiques [14].

3.2.2. Biocapteurs manométriques.

Mesurent les changements de pression d’un gaz. Il s’agit de biocapteurs utilisant comme ligand une enzyme capable d’hydrolyser l’analyte en un gaz. Le principal avantage de ce type de capteur est qu’il n’est jamais en contact direct avec l’échantillon [13].

3.2.3. Biocapteurs piézoélectriques.

Ces biocapteurs sont basés sur la mesure de l’oscillation d’un cristal de quartz sur lequel est immobilisé le composé biologique, les inconvénients de ce type est la fixation de composés non spécifiques et un manque de sensibilité [14].

3.2.4. Biocapteurs thermiques.

Les biocapteurs thermiques ont été développés dans les années 1970, Ils transforment le signal biochimique de la réaction entre le composé fixé et l’analyte en un signal thermique [14].

3.2.5. Biocapteurs optiques.

Dans ce type de capteurs, seuls la source et le détecteur sont alimentés électriquement, c’est la lumière qui est modifiée par l’espèce chimique de reconnaissance [23]. Une large

variété de méthodes optiques a été utilisée pour être associée au système de détection des biocapteurs [14].

A. biocapteurs mesurant l'absorbance.

Dans ce type de biocapteurs, l'interaction entre le ligand et l'analyte se traduit par l'apparition d'une couleur dans le milieu réactionnel. [13].

B. Biocapteurs mesurant la fluorescence.

Le principe utilisé ici est similaire à celui présenté pour les biocapteurs mesurant l'absorbance [11].

C. Biocapteurs utilisant le principe de l'onde évanescente.

Lorsqu'un faisceau de lumière polarisée illumine une interface entre deux milieux, une partie de la lumière est réfléchi sur l'interface et l'autre partie est réfractée à travers l'interface. Il est possible, selon l'angle d'incidence du faisceau, de réfléchir toute la lumière. En l'absence de réfraction, il va y avoir génération d'une onde électromagnétique, l'onde évanescente, qui va se propager perpendiculairement à la surface de l'interface. Cette méthode a pour avantage de permettre un suivi en temps réel des interactions ligand-analyte. De plus, aucun marquage des molécules n'est nécessaire [31].

D. Capteurs à Résonance Plasmonique de Surface (SPR).

Ces capteurs reposent sur le principe physique de la résonance plasmonique de surface. L'élément sensible du biocapteur est déposé sur une surface métallique recouvrant un support solide en verre fixé à la base d'un prisme (configuration de Kretschmann). Ces capteurs utilisés pour l'étude des interactions d'affinité (exemple : Ag-Ac) [24].

E. Les transducteurs acoustiques.

Les capteurs acoustiques sont des dispositifs gravimétriques qui mesurent la masse d'un échantillon déposé sur la surface d'un matériau par l'intermédiaire de la fréquence de résonance caractéristique [27]. Les matériaux piézoélectriques permettent de convertir une onde acoustique en signal électrique et inversement. Ils représentent donc la majorité des transducteurs acoustiques utilisés pour émettre ou détecter des ondes acoustiques dans toutes les gammes de fréquences [28].