

Ecole Doctorale : SMRE

**Laboratoire : Chimie
Macromoléculaire et
Formulation**

Discipline : Chimie analytique

NOM/PRENOM DU CANDIDAT : Samira ZEMMOUR

N° d'ordre : 41015

JURY :

Directeur de Thèse : Christian ROLANDO,

Co-Directeur : Mustafa BENMOUNA

Co-Encadrant: Caroline TOKARSKI

Rapporteurs : Valérie PICHON, William BUCHMANN

Membres : Cécile CREN-OLIVE,

TITRE DE LA THESE :

Nouvelle génération de colonnes capillaires ouvertes de dimension micronique pour l'analyse protéomique basées sur la fonctionnalisation de surface.

RESUME :

L'objectif de cette thèse a été de préparer une nouvelle génération de colonnes capillaires ouvertes (« open tubular capillary columns ») de dimension micronique basées sur la fonctionnalisation de surface et de caractériser leurs propriétés en analyse protéomique pour la séparation de digests peptidiques par chromatographie liquide en phase inverse. La fonctionnalisation de surface a été réalisée après activation de la paroi de silice du capillaire par greffage de dérivés silylés comprenant le motif méthacrylate de glycidyle. La fonction époxyde a ensuite été ouverte par des amines primaires aliphatiques afin d'augmenter l'hydrophobicité de la phase stationnaire. Cette stratégie en deux étapes a l'avantage de permettre de dissocier le greffage de l'introduction du motif fonctionnel et de permettre une plus grande variété de fonctionnalisation. Ces colonnes ont été testées sur des peptides standards ou sur des digests peptidiques avec une analyse par spectrométrie de masse MALDI-TOF hors-ligne et en ligne en couplage nanoLC nanoESI-trappe ionique. Les effets des différents paramètres (la teneur en acétonitrile de l'éluant, la longueur de la chaîne d'amine, la longueur et le diamètre interne du capillaire) sur la rétention des peptides ont été étudiés en particulier la longueur de la chaîne alkyle. Les tests montrent que chaque fois que l'on diminue la longueur de la chaîne carbonée de l'amine, les peptides sont élués à un plus faible pourcentage d'acétonitrile. En effet le raccourcissement de la chaîne carbonée conduit à la décroissance des interactions hydrophobes, ce qui conduit les peptides à être élués plus rapidement.

La deuxième partie de la thèse présente les premiers développements de greffage de polymère à empreinte moléculaire (acronyme anglais MIP pour Molecularly Imprinted Polymer) pour la séparation de peptides et de protéines. La synthèse d'une phase à empreinte moléculaire est réalisée à partir d'un mélange de monomères portant des fonctions acides ou basiques, dans notre cas l'acide méthacrylique, et d'une molécule empreinte qui interagit au cours de la polymérisation par des liaisons non covalentes. Une fois la polymérisation achevée, la molécule empreinte est éliminée de la matrice polymérique, ce qui conduit à la formation d'un polymère rigide renfermant des sites de reconnaissance spécifiques de la molécule modèle. Les colonnes à empreinte moléculaire visent à retenir sélectivement la molécule ciblée ou des molécules proches en taille et en structure, au sein d'un mélange complexe par des interactions spécifiques. La préparation des colonnes MIP et NIP (polymère non imprimé) a été effectuée afin de comparer le pouvoir de rétention des deux matériaux et de vérifier la sélectivité de la capture du MIP par rapport au NIP vis-à-vis de la molécule cible. Ces colonnes ont également été testées par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF. Une affinité différente pour deux peptides l'angiotensine I et la substance Pa été obtenue permettant de les séparer avec une bonne sélectivité.

**Soutenance le 4/04/2013 à 10 Heures
Lieu Amphi CERLA**