

---

## Proposition de Stage niveau Master / Année 2022-2023

### Titre du stage : Greffage de pointes AFM pour l'étude des interactions biomoléculaires de protéines végétales et polysaccharides

#### Structure d'accueil

Plate-forme BIBS de l'unité Biopolymères Interactions Assemblages d'INRAE de Nantes (<https://www.bibs.inrae.fr/>)

Directeur d'unité BIA : Bernard Cathala

Responsable d'équipe : Sophie Le Gall

#### Responsable du stage

Nom : Angéline D'Orlando

Tél. : 0240675014

E-mail : [angelina.dorlando@inrae.fr](mailto:angelina.dorlando@inrae.fr)

#### Co-encadrement Opale (INRAE-Rennes Beauregard)

Nanci Castanha Da Silva (Post-doctorante Brésilienne)

David Grenier (Ingénieur de recherche)

#### Description générale du sujet de recherche

Les ressources agroalimentaires et les parois végétales sont constituées d'assemblages complexes de biomolécules qui déterminent largement leur fonction biologique et leurs propriétés. Ces ressources offrent une grande richesse structurale, exploitable pour de nombreuses industries : agroalimentaire, bioraffinerie et combustibles (substituables aux ressources fossiles), chimie verte, synthèse de nouveaux matériaux biosourcés, santé, etc. La connaissance de ces structures est en outre indispensable pour améliorer leur dégradation, notamment par des protéines et systèmes enzymatiques innovants, et mieux maîtriser leur valorisation. Or, compte tenu de leur extrême complexité, la caractérisation structurale de ces matériels pose encore un véritable défi aux sciences analytiques.

Dans ce contexte, il est primordial de disposer d'approches analytiques permettant de caractériser finement les structures et interactions produites entre biomolécules.

La microscopie à force atomique (AFM) atteint une résolution spatiale significativement inférieure à celle des microscopies optiques. Elle permet d'atteindre des informations de structure proches du nanomètre sur des échantillons biologiques et d'étudier leurs assemblages au niveau moléculaire, sans utiliser de fixation ou de marquage. Grâce aux récents développements dans ce domaine, l'AFM est aujourd'hui une technique adaptée pour analyser les propriétés et structures de biopolymères. C'est notamment un outil d'intérêt pour imager les protéines et les agrégations de polysaccharides.

En plus des données topographiques, l'AFM est également devenue attractive ces dernières années pour ses capacités de nano-indenteur. Très sensible, il permet de mesurer, à partir de courbes de force, des propriétés mécaniques avec une résolution nanométrique, d'étudier la longueur des protéines et leurs forces d'interaction (forces d'adhésion, forces intermoléculaires/intramoléculaires et énergies), ainsi que les interactions entre polysaccharides et protéines. Ces analyses AFM passent généralement par une étape préalable qui est la fonctionnalisation ou le greffage de la pointe AFM. Le greffage des pointes AFM avec des ligands spécifiques permet en outre de mesurer les forces d'interaction entre le ligand et les sites de liaison, et permet la cartographie moléculaire des sites de liaison à la surface d'une structure biologique.

Nous souhaitons renforcer nos capacités de caractérisation de dynamiques moléculaires et des interactions biomoléculaires de protéines végétales et polysaccharides, en développant des

méthodes de fonctionnalisation et de greffage de pointes AFM adaptées à l'étude de ces interactions, comme illustré dans l'exemple de la Figure 1.

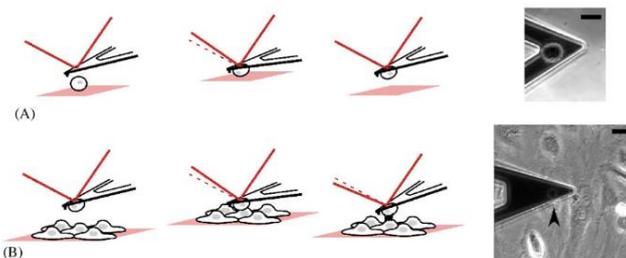


Figure 1: (A) Schematic of a melanoma cell capture. The lectin-decorated cantilever is positioned over a cell in suspension, at close proximity to the surface. (B) Schematic of an adhesion assay of a single captured melanoma cell on an endothelial cell layer ; Puech et al. Ultramicroscopy [1]

## Description du stage proposé

L'équipe OPAALE (INRAE Rennes), qui s'intéresse à ces sujets en collaboration avec la plateforme BIBS, a évalué numériquement l'impact des interactions gluten/amidon (cohésion ou non-cohésion) sur les zones de stress dans des pains [2]. L'enjeu est d'importance puisque de la nature de ces interactions dépend en partie la stabilité des parois qui séparent les cellules gazeuses dans les produits panifiés, lorsque la proportion d'amidon devient supérieure à une dizaine de pourcent [2, 3]. L'étude de ces interactions en fonction de l'origine botanique (blé, blé waxy, tapioca...) contribuera à une meilleure sélection des amidons et l'obtention de mélanges de farines plus adaptés à la production de pain notamment biologiques et contenant moins de gluten.

D'autre part, de plus en plus de modèles micromécaniques numériques de compréhension des mécanismes de rupture à l'échelle du grain d'amidon se développent et sont dans l'attente de données expérimentales à cette échelle [2, 4] ; l'amidon est en effet un ingrédient utilisé pour l'obtention de matériaux par voie thermomécanique, en particulier dans le domaine pharmaceutique.

Nous souhaitons **greffer un grain d'amidon hydraté sur une pointe AFM afin de l'amener en contact avec du gluten hydraté et observer/quantifier les forces d'adhésion amidon/gluten.**

Il est possible de greffer des objets complexes tels que des cellules vivantes et nous pensons que cet aspect du projet (greffage de molécules d'amidon) apportera un savoir-faire sur la plateforme BIBS. Les grains d'amidons seront fournis par l'unité OPAALE.

Ce stage se déroulera au sein de l'Unité INRAE 1268 « Biopolymères, Interactions, Assemblages », dans la composante Microscopies (responsable : Bruno NOVALES) de la plateforme BIBS (responsable : Sophie Le-Gall). Le stagiaire sera amené à travailler sur un Nanowizard 4XP (Bruker), récemment installé au laboratoire.

## Informations pratiques sur le stage

Durée: 5-6 mois

Rémunéré

Lieu d'installation: unité INRAE 1268 BIA (Nantes)

Date de candidature: jusqu'au 17/10/2022

Période de début: à partir du 03/03/2023 (fin février, début mars)

## Références

[1].Puech, P.-H., et al., *A new technical approach to quantify cell–cell adhesion forces by AFM*. Ultramicroscopy, 2006. **106**(8-9): p. 637-644.

[2].Dedey, K.B., D. Grenier, and T. Lucas, *Mathematical modelling of uniaxial extension of a heterogeneous gas cell wall in bread dough: Stress fields and stress concentration analysis relating to the proving and baking steps*. Journal of Food Engineering, 2021. **308**: p. 110669.

[3].Grenier, D., et al., *Gas cell opening in bread dough during baking*. Trends in Food Science & Technology, 2021. **109**: p. 482-498.

[4].Mohammed, M.A.P., A.S. Baharuddin, and M. Wakisaka, *Numerical study of starch-gluten dough: Deformation and extrusion*. Journal of Food Engineering, 2022. **329**: p. 111078.