

## **Proposition de sujet de thèse**

### **Développement de structures photoniques pour bio-détection microscopique**

#### **Contact et laboratoire d'accueil**

Csilla GERGELY, Thème Bionanophotonique, SMC- L2C UMR 5221 CNRS- UM2

Un défi croissant dans le développement de matériaux fonctionnels avancés est l'élaboration de biocapteurs à haute sensibilité capable de répondre à de très faibles concentrations moléculaires. Le développement de systèmes basés sur une réponse en photoluminescence (PL) est encouragé par les avantages particuliers de la microscopie à fluorescence fréquemment utilisée pour l'analyse biologique. Les méthodes fluorescentes sont développées également pour la détection de molécules uniques, cependant la nécessité d'utilisation des structures fluorescentes synthétiques lorsque la fluorescence intrinsèque est faible ou absente a déjà été notée. L'augmentation de la fluorescence de molécules biologiques, par leurs immobilisations sur des substrats de silicium poreux (PSi) de grande surface interne, pourrait être une bonne solution pour une biodétection à très faible concentration. La validation du principe de cette nouvelle méthode de détection a été récemment rapporté par notre équipe : la PL de biomolécules infiltrés dans des structures de microcavité de PSi a été largement améliorée par rapport à des configurations type monocouche de PSi. Lors d'un suivi par microscopie multiphotonique l'exaltation de la lumière associée à la couche cavité a été observée.

L'objectif de cette thèse sera de continuer à exploiter les propriétés uniques de luminescence intrinsèque des structures de silicium poreux en réalisant des «biocapteurs microscopique" basée sur la réponse individuelle des pores. Ce sera une avancée par rapport aux méthodes précédentes de détection basées sur une réponse spectrale macroscopique de la structure entière. Il est évident que les biocapteurs microscopiques proposé permettraient également de réduire considérablement le volume de matériel biologique nécessaire. Pour ce faire, les travaux porteront sur plusieurs questions importantes :

- La meilleure configuration de microcavité de PSi (en termes de porosité, dimension de pores et multicouches) doit être définie de telle sorte qu'elle autorise efficacement l'extraction de lumière émise par les biomolécules ciblées ; cela assurera la réponse photonique optimal de la PSi
- La surface de PSi doit être fonctionnalisée pour assurer l'activité des molécules infiltrées, ce qui se fera principalement avec des peptides d'affinité développés par la technologie «phage display»
- Le "biocapteur microscopique" ainsi obtenu sera intégré dans un système microfluidique et évaluée en termes de sensibilité et spécificité de détection

L'aspect innovant de cette thèse est la combinaison de techniques expérimentales avancées comme la microscopie multiphotonique et les substrats nano/micro-structurées pour exalter la photoluminescence des biomolécules. Lors d'une phase exploratoire l'utilisation de ces substrats comme des lames de microscope amplifiant la photoluminescence pour l'imagerie en microscopie à fluorescence et microscopie multiphotonique seront également abordées. Les techniques employées seront : la spectroscopie IR, microscopie à force atomique, la microscopie à fluorescence, la microscopie multiphotonique. Le travail a un fort caractère pluridisciplinaire et le candidat sera censé traiter également les aspects biologiques de la thèse.

#### **Bibliographie:**

1. G. Palestino, M.B. dela Mora, J.A. del Río, C. Gergely, E. Pérez, *Appl. Phys. Lett.* **91**, 121909 (2007)
2. G. Palestino, V. Agarwal, R. Aulombard, E. Perez, C. Gergely, *Langmuir* **24**, 13765 (2008)
3. M. Martin, G. Palestino, T. Cloitre, V. Agarwal, L. Zimanyi, C. Gergely, *Appl. Phys. Lett.* **94**, 223313 (2009)

---

## PhD proposition

### Development of smart photonic structures for microscopic biosensing

#### Contact and laboratory:

Csilla GERGELY, Thème Bionanophotonique, SMC- L2C UMR 5221 CNRS- UM2

An increasing challenge in developing advanced functional materials is to produce high sensitivity biosensors capable to respond to very low molecular concentrations. Photoluminescence (PL) based-systems are receiving increasing attention encouraged by the special advantages of fluorescence microscopy frequently used for biological analysis. Fluorescent methods are ultimately designed even for single-molecule detection, however the need to use smart synthetic fluorescent structures when intrinsic fluorescence is low or absent has been already reported.

Targeting fluorescence enhancement of biological molecules via their immobilization onto the large inner surface provided by porous silicon (PSi) substrates might be a good solution for biosensing at low concentration. The proof-of-principle demonstration of this new sensing method has been recently reported by our team: photoluminescence of certain biomolecules confined in PSi microcavity structures were largely enhanced compared PSi monolayer configurations. When monitored via multiphoton microscopy that measures second harmonic generation and two-photon-excited fluorescence of the infiltrated biomolecules, light enhancement associated with the cavity layer is again observed.

The objective of this PhD will be to further exploit the observed unique intrinsic luminescent properties of the porous silicon structures as "microscopic biosensors" based on the luminescence response of individual pores when molecules are adsorbed. This will be a breakthrough relative to the previous sensing methods where detection was based on a macroscopic spectral response of the whole structure. It is evident that the proposed microscopic biosensors would also reduce considerably the needed biological material. To achieve this, the work will address several major issues:

- the best PSi microcavity configuration (in terms of porosity, pores size and multilayers) should be defined for a match between the cavity resonance and the light emission of the targeted biomolecules; this is important to achieve an optimal photonic response
- the surface of the PSi should be functionalized to assure activity of the confined molecules; this will be done mainly with affinity peptides developed by phage display technology
- the obtained "microscopic biosensors" will be integrated in a microfluidic system and assessed in terms of detection sensitivity

The innovative aspect of this thesis is the combination of advanced experimental techniques like multiphoton microscopy and smart nano/micro-structured substrates enhancing photoluminescence of biomolecules. At an exploratory stage their use as microscope slides enhancing photoluminescence for imaging in fluorescence and multiphoton microscopy will be also addressed. The employed techniques will be: the IR spectroscopy, Atomic Force Microscopy, fluorescence microscopy, multiphoton microscopy. The work to be done has a strong pluridisciplinary character and the candidate will be supposed to deal also with the biological aspects of the thesis.

#### *Related bibliographie:*

1. G. Palestino, M.B. dela Mora, J.A. del Río, C. Gergely, E. Pérez, *Appl. Phys. Lett.* **91**, 121909 (2007)
2. G. Palestino, V. Agarwal, R. Aulombard, E. Perez, C. Gergely, *Langmuir* **24**, 13765 (2008)
3. M. Martin, G. Palestino, T. Cloitre, V. Agarwal, L. Zimanyi, C. Gergely, *Appl. Phys. Lett.* **94**, 223313 (2009)