

Programme du séminaire du 18 décembre 2014

Réunion des participants du DIM Analytics

Lieu : Amphi Langevin, ESPCI, 10 rue Vauquelin, escalier N, 2ème étage

Résumés des présentations

Projet Mi-lourds 2013

Le projet MOBICS : un spectromètre de masse à mobilité ionique pour la caractérisation structurale en chimie et biologie ; G. Van Der Rest ; LCP, Université Paris Sud.

Soutenu en 2013 par le DIM Analytics et la région Ile-de-France, l'acquisition d'un spectromètre de masse à mobilité ionique pour un consortium de laboratoires sud-francilien est sur le point de se concrétiser avec l'arrivée du spectromètre de masse prévue pour décembre 2014 ou janvier 2015. Dans cet exposé, nous mettrons en valeur l'apport significatif en termes de potentiel analytique qu'ajoute la mobilité ionique à la spectrométrie de masse ainsi qu'aux techniques séparatives. Ces potentialités seront illustrées à travers la diversité des projets scientifiques portés par les laboratoires partenaires, couvrant des domaines variés (chimie des polymères, structures de biomolécules en phase gazeuse, caractérisation structurale de protéines et peptides, caractérisation de mélanges complexes de métabolites). Cet instrument étant ouvert à la communauté scientifique francilienne, les atouts de l'instrument pour d'autres domaines que ceux présents dans le consortium seront présentés, ainsi que les modalités d'ouverture de l'instrument aux projets extérieurs.

Allocations doctorales 2013

Développement de biopuces pour le couplage de la Résonance Plasmonique de Surface par imagerie et de la spectrométrie de masse SPRi-MS ; J. Janiaux ; LAMBE ; Université Evry Val d'Essonne.

Le fonctionnement du vivant repose sur un réseau d'interaction dynamique de biomolécules parmi lesquelles figurent les acides nucléiques, les protéines et les polysaccharides. Notre projet ambitionne de mettre au point un système analytique innovant permettant la caractérisation à haut débit des interactions biomoléculaires dans le cadre du fonctionnement normal ou pathologique d'une cellule. Ce système analytique combine sur une même biopuce l'analyse cinétique en temps-réel et thermodynamique de l'interaction biomoléculaire (par résonance plasmonique de surface) et la caractérisation structurale fine de l'un des partenaires d'interaction par spectrométrie de masse MALDI. De nouvelles biopuces interfaçables avec les analyseurs SPRi (Imagerie par Résonance Plasmonique de Surface) et MS (Spectrométrie de masse) ont été mises au point permettant une analyse multi-dimensionnelle prometteuse des interactions Biomoléculaires. Cependant les quantités très faibles d'analytes capturés par ces biopuces fonctionnalisées par des anticorps nécessitent une sensibilité élevée au niveau de la détection MS. Cette sensibilité est conditionnée, entre autres, par la fonctionnalisation chimique de la surface de la biopuce, par la nature des récepteurs et leur topologie de greffage sur la surface fonctionnalisée. Dans le cadre de cette thèse, nos objectifs sont d'une part de développer de nouvelles fonctionnalisations de surface de biopuces destinées au couplage SPRi-MS, et d'autre part de greffer de nouveaux types de récepteurs et d'en évaluer l'impact sur la sensibilité de détection. L'évaluation des performances de nouvelles biopuces mises au point pour le couplage SPRi-MS a débuté avec l'étude de systèmes modèles, elle se poursuivra jusqu'à impliquer des fluides biologiques complexes. L'objectif final est de multiplier par 10 à 100 la quantité d'analytes capturés afin d'accroître la sensibilité de détection de 1 à 2 ordre de grandeur.

LAMP électrochimique : Une approche d'amplification génique in-vitro à bas cout de détection et quantification d'une cible biologique ; doctorant + PME ; A. Martin ; D. Marchal ; LEM ; Université Paris Diderot.

Détecter et quantifier des organismes et des agents pathogènes rapidement et simplement représente un enjeu majeur dans de nombreux domaines comme le diagnostic médical, l'agroalimentaire, la sécurité ou encore l'environnement. Pour réaliser ces analyses, les techniques couplées d'amplification génique in vitro et de détection par fluorescence (par exemple avec les instruments de PCR en temps réel) sont connues pour être les plus rapides, sensibles et simples d'utilisation, mais elles souffrent de deux principales lacunes : la nécessité d'utiliser un thermocycleur et une détection basée sur une mesure optique de fluorescence. Cela se traduit par des instruments analytiques onéreux et de maintenance coûteuse, relativement encombrants, et inutilisables avec des échantillons troubles ou colorés. Afin de s'affranchir de ces deux lacunes, il est possible de s'appuyer sur un couplage entre une amplification génique « in vitro » dite « isotherme » et une détection électrochimique [1]. La première supprime de facto la nécessité de réaliser des cycles de température (comme par exemple en PCR) et la seconde offre des avantages de robustesse, de coût faible, et de transportabilité.

C'est dans ce but que nous avons cherché à coupler une des techniques isothermes d'amplification d'ADN in-vitro les plus performantes du marché, la LAMP (loop mediated isothermal amplification) [2], avec notre approche de détection électrochimique, via l'utilisation de sonde redox dite « intercalante » de l'ADN double brin. Les premiers résultats montrent que si l'intercalation est souvent décrite comme le mode d'interaction principal de la molécule redox avec l'ADN, de simples interactions électrostatiques voir d'autres modes de complexation peuvent entraîner une diminution de l'accessibilité de la sonde à l'électrode au fur et à mesure de la production spécifique d'ADN. Afin de comprendre ces phénomènes, nous avons ainsi testé dix sondes redox, intercalantes ou non. Cette comparaison a permis de faire ressortir trois molécules dont les performances analytiques ont été comparées pour la détection de l'ADN génomique d'un pathogène de poisson, *Flavobacterium Columnare*.

[1] F. Kivlehan et al, *Analyst.*, 2011, 136, 3635

[2] T. Notomi et al, *Nucleic Acids Research.*, 2000, 28, 12

Développement de l'ablation laser en champ proche couplée à l'ICP-MS pour l'analyse élémentaire et isotopique sub-micrométrique d'échantillons solides ; doctorant + PME ; C. Jabbour ; J. L. Lacour ; CEA DPC ; Université Versailles Saint Quentin.

(ICP-MS) est une technique puissante d'analyse isotopique et multi-élémentaire développée pour la quantification d'ultra-traces d'éléments, dans des échantillons géologiques, biologiques ou dans des matériaux de haute pureté. Malgré les avantages de cette technique, son application est limitée par la restriction de la focalisation du faisceau laser en raison de la diffraction de la lumière (Critère de Rayleigh) et, par conséquent, une résolution latérale limitée (de l'ordre de quelques μm), qui, dans certains cas, est insuffisante pour l'analyse des structures fines dans des échantillons spécifiques.

Afin d'améliorer la résolution spatiale de cette technique d'ablation, l'effet de champ proche a été mis à profit. La potentialité de cette technique a été démontrée pour l'analyse à l'échelle nanométrique [1,2].

Le principe consiste à concentrer l'énergie incidente du faisceau laser par effet de champ proche, en illuminant une pointe conductrice placée à une distance de quelques nanomètres de la surface de l'échantillon. Celui-ci subit une ablation et produit un cratère d'une taille proportionnelle au diamètre de la pointe utilisée (dizaines à centaines de nanomètres).

L'originalité de notre travail sur ce point consiste à utiliser un AFM (microscope à force atomique) pour la gestion de la position de la pointe permettant l'ablation en champ proche. Cet instrument permet en plus la caractérisation de la zone ablatée. L'AFM a fait l'objet d'un financement PME de la part du DIM Analytics.

Le montage optique réalisé est constitué d'un laser Continuum Nd:YAG quadruplé 266nm, d'un AFM (CSI) et d'un ICP-MS (Thermo) à secteurs électrostatique et magnétique. L'objectif de notre étude est que l'ablation soit provoquée par effet du champ proche et non pas directement par le faisceau laser. Pour cela, des essais ont été réalisés pour déterminer le seuil d'ablation des matériaux d'intérêt. Les résultats obtenus montrent une conformité des valeurs avec la littérature [3]. Ainsi, pour être sûr de l'effet du champ proche, la fluence du laser adoptée pour les expériences, était d'une valeur nettement inférieure au seuil d'ablation. De plus, des images de topographie avec l'AFM et des analyses avec l'ICP-MS ont été effectués pour mieux comprendre le fonctionnement de chaque appareil, ainsi que la façon la plus efficace de les interconnecter.

Actuellement, des essais de mise en évidence du champ proche sont en cours de réalisation, sur des échantillons de Silicium et de Nickel, en faisant varier la nature de la pointe de l'AFM (pointe en Silicium, en diamant, en or ou en platine), la taille et l'énergie du faisceau laser sur la pointe ainsi que la distance surface de l'échantillon/pointe.

La littérature montre, que les diamètres et la forme des cratères en champ proche dépendent de la géométrie de la pointe utilisée notamment son diamètre ainsi que de la distance entre la pointe et la surface de l'échantillon. Notre objectif est d'obtenir une ablation à l'échelle de quelques dizaines de nanomètres.

L'étape suivante consistera à développer une interface permettant le transport des particules ablatées en champ proche vers l'ICP-MS, l'ensemble du système devant minimiser au maximum les pertes de particules. L'acquisition des données par ICP-MS permettra la caractérisation élémentaire et pourrait permettre d'estimer la masse de matière ablatée. L'étude de la

granulométrie et de la forme des particules sera également pertinente pour comprendre les mécanismes d'interaction pendant l'ablation et le transport.

[1]: Myroslav V. Zoriy, Markus Kayser, J. Sabine Becker. 2008. Possibility of nano-local element analysis by near-field laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS): New experimental arrangement and first application. *International Journal of Mass Spectrometry*.273, 151-155.

[2]: Myroslav V. Zoriy, J. Sabine Becker. 2009. Near-field laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry: a novel elemental analytical technique at the nanometer scale. *Rapid communications in mass spectrometry*.23, 23-30

[3]: L.Torrisi, A. Borrielli, D. Margarone. 2007. Study on the ablation threshold induced by pulsed lasers at different wavelengths. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 255, 373-379.

Perturbation du profil lipidique induite par la présence de MEHP : analyse lipidomique d'une lignée cellulaire jeg-3 ; J. Petit ; CTAC ; Université Paris Descartes.

Durant la grossesse, l'exposition à des contaminants chimiques environnementaux peut conduire à des effets néfastes sur le développement du fœtus humain. Ces polluants peuvent agir directement sur le fœtus, ou via un tissu essentiel à son développement, le placenta. Les phtalates, plastifiants utilisés dans de nombreuses industries et dont le plus abondant est le di-(2-éthylhexyl)phthalate (DEHP), ont un effet reprotoxique avéré chez l'animal et fortement suspecté chez l'être humain.

Leur reprotoxicité tient au fait qu'il s'agit de ligands exogènes du récepteur nucléaire peroxisome proliferator-activated-receptors (PPAR γ) dont ils provoquent l'activation. Ainsi, le mono-(2-éthylhexyl)phthalate (MEHP), métabolite endogène du DEHP présente une forte affinité pour PPAR γ . L'activation de PPAR γ par le MEHP, entraîne des modifications de l'expression de certains gènes impliqués dans la lipogenèse et essentiels à la physiologie placentaire.

Afin de caractériser les modifications du lipidome provoquées par le MEHP, des cellules JEG-3, lignées cellulaires issues de placenta humain et modèle de celui-ci, ont été exposées à ce polluant et les lipides extraits. Une analyse lipidomique non ciblée a été effectuée par chromatographie liquide ultra performance couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (UPLC-ESI-HRMS) suivie d'une analyse statistique multivariée. De plus, une méthode de dosage du MEHP a été développée dans le but de vérifier l'exposition effective des cellules JEG-3 au MEHP et d'estimer la quantité de ce polluant ayant pénétré à l'intérieur des cellules. Elle comporte une étape de traitement de l'échantillon par extraction sur phase solide en mode mixte, suivie d'une analyse par UPLC-ESI-HRMS.

Evaluation des solvants alternatifs pour la chromatographie d'adsorption et l'analyse des lipides par classe de polarité ; Nolwenn Prache ; GCAPS ; Université Paris Sud, LSABM ; ESPCI.

Cette communication représente la première étape de mon sujet de thèse intitulé Techniques chromatographiques bidimensionnelles en phases liquide et supercritique pour la cartographie du lipidome.

Le développement de méthodes de séparation, en chromatographie, passe par l'optimisation de paramètres spécifiques (sélectivité, temps d'analyse sensibilité, répétabilité, ...). Le développement du concept de chimie analytique « verte » a amené les différents acteurs du domaine à s'interroger sur le bien-fondé du développement de méthodes ayant un impact sur l'environnement et sur l'homme et représente l'une des préoccupations majeures du tout début du 21^{ème} siècle.

Dans le domaine de l'analyse des lipides, les séparations par classe nécessitent de travailler sur une très large gamme de polarité, conséquence directe de la diversité des structures et des solubilités mises en jeu. La séparation allant des lipides apolaires comme les esters de stérol jusqu'aux phospholipides qui sont partiellement hydrosolubles. La chromatographie en phase normale et plus particulièrement la chromatographie d'adsorption permet de réaliser l'élution des composés par ordre de polarité croissante.

La mise en solution des classes lipidiques nécessite le recours à des mélanges de solvants incluant notamment le chloroforme (souvent désigné comme le solvant des lipides). De plus, les solvants organiques classiquement utilisés en chromatographie d'adsorption (heptane, dichlorométhane, tétrahydrofurane, etc.), bien que performants, soulèvent de

nombreux problèmes liés à leur toxicité pour l'homme et l'environnement, leur volatilité, ou encore leur origine quand ils sont issus des hydrocarbures fossiles.

Une des voies envisagée est la substitution de ces solvants par des solvants alternatifs, tels ceux proposés par les différents acteurs de la chimie verte. L'intérêt que de tels solvants présentent en termes de diminution de l'usage de solvants à impact environnemental important ou présentant un caractère toxique est-il compatible avec les performances attendues dans le cadre de la séparation par classes de polarité des lipides ?

Les séparations développées avec les solvants alternatifs à l'heptane (D-Limonène, Hexaméthylsiloxane) et au chloroforme (Cyclopentylméthyle éther, 2-méthyltétrahydrofurane et acétate d'isoamyle) ont montré que leur utilisation était compatible (en terme de viscosité, détectabilité, pureté) avec la chromatographie liquide ainsi que pour la séparation des classes lipidiques (sélectivité). D'autre part, ils ont montré qu'ils pouvaient, avantageusement, remplacer la plupart des solvants classiques.

Des exemples seront montrés afin d'illustrer le potentiel de ces solvants d'un point de vue chromatographique ainsi que de la sélectivité qu'ils procurent lors de ces analyses.

Conception raisonnée et nanostructurée de biocapteurs pour la détection ultra-sensible de biotoxines ; M. Ben Haddada ; LRS ; Université Pierre et Marie Curie.

La détection d'agents toxiques d'origine biologique à des concentrations infinitésimales est un enjeu crucial de santé publique. Les biocapteurs sont des dispositifs analytiques qui permettent une détection rapide de ces agents combinée à une mise en œuvre simplifiée. Un biocapteur comprend un récepteur biologique capable de reconnaître sélectivement l'analyte cible, ce récepteur étant immobilisé sur un élément transducteur capable de traduire la reconnaissance biologique en un signal électronique mesurable. Les anticorps sont les biorécepteurs les plus universels car ils peuvent reconnaître une grande variété d'analytes allant de molécules organiques simples à des systèmes biologiques complexes comme des bactéries ou des virus. Les biocapteurs intégrant un anticorps sont dénommés immunocapteurs.

Concernant la transduction sans marqueur, deux techniques principales sont actuellement privilégiées, à savoir la résonance de plasmons de surface (SPR) et la microbalance à quartz (QCM). La première est une technique optique mesurant des variations d'indice de réfraction à la surface d'un capteur recouvert d'une fine couche d'or ; la deuxième est une technique acoustique mesurant des variations de masse à la surface d'un cristal piézoélectrique.

L'objectif du projet de thèse est de construire des immunocapteurs destinés au dosage de toxines d'origine bactérienne. Deux cibles feront l'objet de ce travail, l'entérotoxine A produite par *S. aureus* (SEA) et responsable d'intoxications alimentaires et la toxine botulique (BoTx) produite par *Clostridium botulinum* considérée comme arme biologique potentielle. L'accent sera mis sur les techniques d'amplification du signal délivré par le système de mesure en utilisant des nanoparticules lors la construction de la couche sensible ainsi que lors de l'étape de mesure.

Les performances analytiques de ces dispositifs, en termes notamment de sensibilité de détection, seront optimisées selon deux voies grâce à l'usage des nanoparticules.

La première est géométrique et consiste à structurer la surface du capteur à l'échelle nanométrique par des nanoparticules, afin d'augmenter la surface spécifique ainsi que l'accessibilité des anticorps. La seconde voie est basée sur une étape de révélation, conduite après la capture de la cible à l'aide d'un anticorps conjugué à des nanoparticules. L'objectif primaire est d'acquérir une compréhension et une maîtrise à l'échelle moléculaire des divers paramètres pouvant influencer les performances de ces biocapteurs.

Ces deux stratégies seront employées séparément ou de manière concomitante avec comme objectif l'amélioration de la limite de détection des deux toxines étudiées.

Detection at very large solid angle: improving Nuclear Reaction Analysis sensitivity ; V. Gorlychev ; NIMBE ; CEA Saclay.

Nuclear Reaction Analysis (NRA) is among the few methods able to measure light element concentration in materials. This method is a part of Ion Beam analysis (IBA) and is based on the spectroscopy of the energetic particles emitted during the nuclear reaction induced by light nuclei with target atoms. With good knowledge of cross-sections, NRA provides a robust quantitative method for the quantification of light elements at depths ranging from tens of nm to tens of microns.

In this project we aim at improving the sensitivity of NRA by increasing the detection solid angle by a factor of 10. The main difficulty is that NRA cross-sections exhibit a strong and variable angular dependence. Angular information is thus required and this is made by the use of a segmented detector composed here of 24 annular rings.

During the presentation we will give the current state of the project and the preliminary results of the work. In order to fully exploit the gain in sensitivity offered by such new setup, we are exploring the necessary changes in data reduction strategy. For instance data exchange and automation routines between acquisition software and data processing are under development and we are also benchmarking a promising commercial software. Results from the simulation of the experimental spectra with this setup will be presented. The overall validation of the new configuration (acquisition & data reduction process) will be made using selected reference samples.

The next steps will aim (i) at expanding the angular differential cross-section database currently limited to a small range of elements using this setup; (ii) at exploiting the new setup with experimental samples with low light element concentrations using the microbeam imaging.

Petits et moyens équipements 2013

Etude de la dégradation par photochimie de l'iprodione : Caractérisation structurale et écotoxicité des photoproduits : S. Bouchonnet ; LCM ; Ecole Polytechnique.

Parce qu'ils sont généralement directement appliqués sur les fruits, les fongicides sont soumis au rayonnement solaire et donc susceptibles de phototransformation.

Cette étude est consacrée à la phototransformation de l'iprodione, un fongicide appartenant à la famille des dicarboxamides. Son action porte sur l'inhibition de la germination des spores et de l'élongation des hyphes mycéliens [1]. L'iprodione est utilisée pour le traitement des gazons, de plantes légumières comme les choux, courgettes ou laitues, et d'arbres fruitiers comme les cerisiers ou les vignes [2-4].

L'irradiation UV-visible de l'iprodione a été réalisée grâce à un photoréacteur muni d'une lampe à vapeur de mercure. Les cinétiques de disparition de la molécule mère et d'apparition des photoproduits ont été déterminées. L'élucidation structurale des cinq photoproduits a été réalisée par couplage LC-HR-MS/MS (en FT-ICR). Le marquage isotopique de l'iprodione a permis d'interpréter les mécanismes de dissociation des ions en spectrométrie de masse mais également de proposer des mécanismes de formation des espèces lors de l'irradiation en solution aqueuse. Des estimations de toxicités potentielles à l'aide de tests *in silico* de type QSAR [5] ainsi que des études de toxicité *in vitro* sur la bactérie marine *Vibrio Fischeri* [6] ont été menées sur les sous-produits ; deux sous-produits se révèlent être potentiellement plus toxiques que l'iprodione. Des analyses menées sur des grains de raisin ont montré de manière inquiétante que ces photoproduits traversaient la peau du fruit et n'étaient donc pas éliminés lors d'un rinçage à l'eau.

[1] S. Radice, M. Ferraris, L. Marabini, S. Grande, E. Chiesara, *Aquatic toxicology*, 54 (2001) 51-58.

[2] M.B. Bernard, P. Cole, A. Kobelt, P.A. Horne, J. Altmann, S.D. Wratten, A.L. Yen, *J. Econ. Entomol.*, 103 (2010) 2061-2071.

[3] M. Omirou, Z. Viyzas, E. Papadopoulou-Mourkidou, A. Economou, *Food Chem.*, 116 (2009) 499-504.

[4] W.G. Yi, S.E. Law, H.Y. Wetzstein, *Hortscience*, 38 (2003) 1086-1088.

[5] H. Zhu, T.M. Martin, L. Ye, A. Sedykh, D.M. Young, A. Tropsha, *Chemical Research in Toxicology*, 22 (2009) 1913-1921.

[6] S. Girotti, E.N. Ferri, M.G. Fumo, E. Maiolini, *Analytica Chimica Acta*, 608 (2008) 2-29.

RadMap : Empreintes moléculaires résolues en temps et analyses par spectrométrie de masse. Application à l'étude structurale des protéines C3b du système du complément ; A. Mlynarczyk ; LAMBE ; Université Evry Val d'Essonne, NIMBE ; CEA Saclay.

Nous avons développé une méthode de suivi de la dynamique conformationnelle des protéines combinant marquage protéique à l'échelle de la milliseconde par les radicaux hydroxyle et analyse par spectrométrie de masse (MS). Ces radicaux sont produits par radiolyse de molécules d'eau à partir de sources de rayonnements ionisants intenses. C'est dans ce contexte que nous avons évalué deux sources, celle issue de l'accélérateur linéaire ALIENOR (CEA Saclay) et celle (Metrology) du synchrotron SOLEIL. Les radicaux hydroxyles réagissent avec des sites réactifs accessibles au solvant des chaînes latérales des acides aminés. Les protéines irradiées sont ensuite protéolysées, et les peptides formés sont analysés par nanoLC-MSMS à l'aide d'un logiciel dédié. L'identification des peptides modifiés et l'évaluation par spectrométrie de masse quantitative de la variation de ce marquage au cours d'un processus réactionnel permettent de déterminer les sites protéiques impliqués dans un réarrangement conformationnel et/ou intervenant dans la formation de complexes. Dans le cadre des études des mécanismes d'activation du système du complément, cette approche a été appliquée à la formation du complexe entre la protéine centrale C3b (177 kDa) et le facteur H de régulation (FH 155 kDa). En analysant les surfaces accessibles aux radicaux du complexe C3b-FH, nous avons pu identifier les sites de fixation de FH sur C3b et proposer un modèle du complexe.

Détection ultrasensible de biomarqueurs couplant capture d'affinité, microfluidique et spectrométrie de masse ; F. Malloggi ; NIMBE ; CEA Saclay.

L'utilisation de marqueurs protéiques pour différencier entre des sujets sains et malades repose sur la possibilité de détecter des protéines dans des échantillons biologiques très complexes en protéines, dont les concentrations peuvent varier jusqu'à plus de six ordres de grandeur. Au-delà de la complexité des échantillons, il est important de noter que de nombreux marqueurs protéiques d'intérêt diagnostique pour différentes pathologies humaines ont des concentrations plasmatiques se situant dans une gamme allant de 10^{-9} à 10^{-16} M. Ces niveaux extrêmement faibles en quantité de protéines, dans un prélèvement de fluides biologiques (100 μ L en moyenne), imposent de disposer de méthodes de détection ultrasensibles et surtout d'employer des protocoles de traitement de l'échantillon minimisant les pertes de ces marqueurs d'intérêt. La méthode de choix pour relever ce type de défi implique des stratégies de capture du biomarqueur par des anticorps spécifiques, mettant en jeu très souvent des nanoparticules et si possible des volumes de détection les plus faibles possibles [1][2].

Pour notre part, nous souhaitons exploiter une approche de capture d'affinité spécifiques d'une classe d'enzymes dans un dispositif microfluidique mettant en jeu des volumes de l'ordre de centaines de nanolitres, couplées à de la spectrométrie de masse pour identifier la nature des protéines capturées. Les biomarqueurs auxquels nous souhaitons nous intéresser dans cette étude appartiennent à la famille des métalloprotéases matricielles (MMP), représentant une famille de protéases à zinc, composée chez l'homme de 23 membres, et associée à de nombreux processus physiologiques ou pathologiques. Après une introduction générale sur les enjeux de la protéomique nous exposerons la méthode expérimentale utilisée pour la préparation et l'analyse des échantillons. Nous présenterons les premiers résultats d'analyse sur puce que nous comparerons avec les méthodes dites traditionnelles.

[1] Giljohann DA, Mirkin CA. *Nature*. 462:461-4 (2009)

[2] Rissin DM, Kan CW, Campbell TG, Howes SC, Fournier DR, Song L, Piech T, Patel PP, Chang L, Rivnak AJ, Ferrell EP, Randall JD, Provncher GK, Walt DR, Duffy DC. *Nat. Biotechnol.*, 28:595-9 (2010).

Design of a SERS sensor of heavy metal ions in complex water matrices; G. Charron ; MSC ; Université Paris Diderot.

Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) has emerged in the recent literature as a potential breakthrough technology for environmental analysis.^{1,2} For instance, SERS has already been used in the characterization of humic acids and detection of pesticides in freshwaters, as these species have characteristic vibrational patterns.

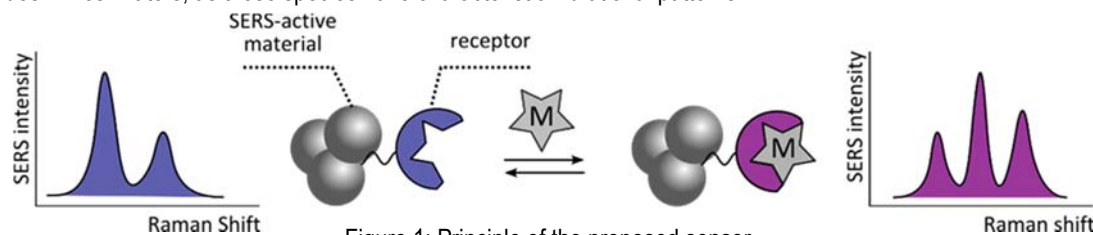


Figure 1: Principle of the proposed sensor

Several recent studies have exploited the SERS effect for the optical sensing of small ions in water.^{3–11} The concept holds great potential for environmental monitoring of heavy metals, which are present in freshwater at trace levels. As atomic ions do not display any vibrational signal on their own, the sensing principle then relies on imparting to the metal cation a characteristic vibrational signature through recognition by a ligand, as displayed in scheme 1. The resulting SERS signal of the molecular receptor is the superimposition of that of the free and bound forms and is characteristic of the concentration of the target metal analyte. The reported performances are encouraging and need to be confirmed and optimized. However, these sensors have not yet been transferred from the proof-of-principle stage in analytical conditions to application to real water samples. Their selectivity and specificity are undocumented, and so is their sensitivity in the complex aquatic matrix.

In this study, we describe the analytical performances of a SERS sensor of Zn^{2+} , in matrices of increasing complexity mimicking the typical composition of urban sewage waters from the Seine River. Importantly, we show that major ions such as Ca^{2+} have a strong influence on the LODs and on the robustness of the calibration. We discuss the design components that are key to optimization of the sensor performances in real water samples. In particular, the selectivity and affinity of the ligand and its interaction with the SERS-active gold substrate appears to be of paramount importance.

1. Álvarez-Puebla, R. A. & Liz-Marzán, L. M. Environmental applications of plasmon assisted Raman scattering. *Energy Environ. Sci.* 3, 1011–1017 (2010).
2. Halvorson, R. A. & Vikesland, P. J. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) for Environmental Analyses. *Environ. Sci. Technol.* 44, 7749–7755 (2010).
3. Zamarion, V. M., Timm, R. A., Araki, K. & Toma, H. E. Ultrasensitive SERS Nanoprobes for Hazardous Metal Ions Based on Trimercaptotriazine-Modified Gold Nanoparticles. *Inorg. Chem.* 47, 2934–2936 (2008).
4. Zhao, Y., Newton, J. N., Liu, J. & Wei, A. Dithiocarbamate-Coated SERS Substrates: Sensitivity Gain by Partial Surface Passivation. *Langmuir* 25, 13833–13839 (2009).
5. Li, J., Chen, L., Lou, T. & Wang, Y. Highly Sensitive SERS Detection of As^{3+} Ions in Aqueous Media using Glutathione Functionalized Silver Nanoparticles. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 3, 3936–3941 (2011).
6. Tsoutsis, D. et al. Quantitative Surface-Enhanced Raman Scattering Ultradetection of Atomic Inorganic Ions: The Case of Chloride. *ACS Nano* 5, 7539–7546 (2011).
7. Yin, J. et al. SERS-Active Nanoparticles for Sensitive and Selective Detection of Cadmium Ion (Cd^{2+}). *Chem Mater* 23, 4756–4764 (2011).
8. Sarkar, S., Pradhan, M., Sinha, A. K., Basu, M. & Pal, T. Selective and Sensitive Recognition of Cu^{2+} in an Aqueous Medium: A Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS)-Based Analysis with a Low-Cost Raman Reporter. *Chem. – Eur. J.* 18, 6335–6342 (2012).
9. Ding, X. et al. Highly Sensitive SERS Detection of Hg^{2+} Ions in Aqueous Media Using Gold Nanoparticles/Graphene Heterojunctions. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5, 7072–7078 (2013).
10. Tsoutsis, D. et al. Simultaneous SERS detection of copper and cobalt at ultratrace levels. *Nanoscale* 5, 5841–5846 (2013).
11. Guerrini, L. et al. Chemical speciation of heavy metals by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy: identification and quantification of inorganic- and methyl-mercury in water. *Nanoscale* 6, 8368–8375 (2014).

Plateforme d'expertise pour le suivi de toxines à l'état de traces en milieux réels ; V. Pichon : LSABM ; ESPCI

Le domaine des toxines est très vaste en termes de structures chimiques mais aussi de milieux d'occurrence puisqu'elles peuvent être produites par des champignons ou des algues vertes, et contaminer ainsi des milieux très variés. Une des sources de contamination actuellement très préoccupante concerne les cyanobactéries, microorganismes très présents dans l'environnement, et en particulier dans les eaux douces ou marines. Ces bactéries ne sont pas pathogènes pour les animaux mais produisent des toxines qui présentent une forte toxicité pour les animaux et pour l'homme. Il s'agit donc d'agents biologiques produisant des agents chimiques toxiques.

Ce projet permet désormais au DIM IdF d'être doté d'une expertise forte et unique en France dans le domaine des toxines, et d'aider à répondre à une demande sociétale forte, le nombre d'accidents attribués à des toxines (par les symptômes observés) mais pour autant non identifiés s'accroissant en France. Ce projet repose sur une expertise analytique forte mais aussi sur une collaboration de longue date avec l'équipe d'Olivier Ploux (Université Paris 7) en Biochimie des microorganismes qui peut désormais s'étendre à d'autres.

Le détecteur spécifique et sensible qui a été acquis grâce au financement du DIM analytics (Spectromètre de masse : Micro Q-tof II, Bruker Daltonics) nous a permis de développer des analyses de traces performantes en s'appuyant sur des compétences fortes en chromatographies, analyse de traces et traitement de l'échantillon. Ce financement a également permis de structurer, plus fortement des projets d'études associant notre équipe à celle du Pr Olivier Ploux (Université Paris Diderot) et a d'ores et déjà conduit à 2 publications communes dans le cadre d'une ANR (projet BMAALS, 2012-2015) portant sur l'étude de la neurotoxine β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA).

L'objectif lié à la création de cette plateforme est double à savoir :

- Soutien d'une recherche de pointe dans le domaine des toxines qui est un axe de recherche exploré depuis de nombreuses années au sein du laboratoire porteur
- Création d'un lieu d'expertise sur l'analyse de toxines de toutes sortes (mycotoxines, toxines de cyanobactéries,...) sur lequel des organismes demandeurs de développement pourront s'appuyer. Des connaissances ont été acquises concernant les toxines, l'étude de leur biosynthèse au niveau génomique et enzymatique, l'étude de leur toxicité et l'étude sur les cyanobactéries productrices. Ces résultats ont permis de proposer des mesures de surveillance et de gestion du risque lié à la présence de cyanobactéries productrices de ces toxines, dans l'environnement.

Cette plateforme est accessible à tous les chercheurs d'Ile de France qui souhaite un transfert de savoir sur l'analyse de toxines basé sur une expertise forte de l'équipe qui a déjà travaillé sur de nombreuses toxines et ce dans différents types de matrices (matrices alimentaires -céréales, poissons, crustacée-, environnementales -eaux, cultures cellulaires, biofilms-, matrices biologiques – cerveaux, sérum-). Elle est également d'ores et déjà ouverte à des collaborations portant sur d'autres domaines tels que l'archéométrie avec le laboratoire de recherche des monuments historiques ou l'étude de la cinétique de dégradation de certains colorants avec le laboratoire Physicochimie des Electrolytes et Nanosystèmes interfaciaux, UMR 8234 (Université Pierre et Marie Curie).

Posters

Analyse de suspension de nanoparticules par MDG-ICPMS ; V. Geertsen ; NIMBE ; CEA Saclay.

Le législateur s'intéresse de plus en plus à la pertinence des techniques analytiques pour la caractérisation des nanoparticules. En effet, la chimie analytique avec ses techniques séparatives classiques (CPL, EC, ...) ainsi qu'avec ses techniques de spectrométrie ICP est adaptée aux éléments dissous à plus ou moins faible concentration. Les besoins analytiques sont nombreux. Si l'on se restreint aux nanoparticules inorganiques en suspension à basse concentration, on peut citer la mesure de concentration en nombre nanoparticules ou la répartition en taille associée ou non à la composition chimique.

Le dispositif financé par le DIM Analytics et le RTRA consiste en un dispositif couplant un ICPMS de dernière génération et un générateur de goutte piezo-électrique (MDG-ICPMS) pour une introduction de l'échantillon sous forme de gouttes calibrées. Le principe est le suivant : un élément dissous se répartit de façon identique dans l'ensemble des gouttes induisant un signal constant d'une goutte à l'autre. La présence d'une nanoparticule (ou d'un agrégat) dans une goutte entraîne l'apparition d'un signal intense et statistiquement non constant d'une goutte à l'autre. L'analyse d'une population de gouttes permet ainsi de reconstituer une répartition en taille mais aussi d'évaluer pour un même élément sa répartition entre des formes dissoutes et particulaires. Nous présenterons les premiers résultats obtenus avec ce dispositif.

Développement de la technique LIBD pour la détection et caractérisation de nanoparticules en suspension ; Jean-Baptiste Sirven ; CEA DPC

La LIBD (Laser-Induced Breakdown Detection) est une technique de détection et de caractérisation de nanoparticules de très petites tailles (de 1 à 100 nm) pour lesquelles les techniques classiques manquent souvent de sensibilité ou nécessitent des préparations d'échantillons conséquentes. Elle s'avère particulièrement adaptée aux nanoparticules inorganiques et aux polymères dispersés dans un liquide. Les domaines d'applications de la LIBD sont très variés puisque la technique permet de caractériser des suspensions de colloïdes environnementaux, de particules manufacturées, ou encore de déterminer précisément l'initiation de mécanismes de précipitation. La LIBD a également un fort potentiel pour la métrologie des nanoparticules, qui nécessite d'être développée en lien avec des méthodes d'étalonnage et de traitement des signaux (acoustiques et optiques).

Le Laboratoire de développement Analytique Nucléaire Isotopique et Élémentaire (LANIE) du CEA Saclay a développé un montage expérimental LIBD (Figure 1), avec le soutien de la Région Ile-de-France, ainsi qu'un logiciel de pilotage des instruments et d'acquisition des mesures. Désormais opérationnel, ce montage sera présenté, ainsi que les premiers résultats obtenus sur des suspensions de nanoparticules de latex. Les développements futurs envisagés seront également présentés.

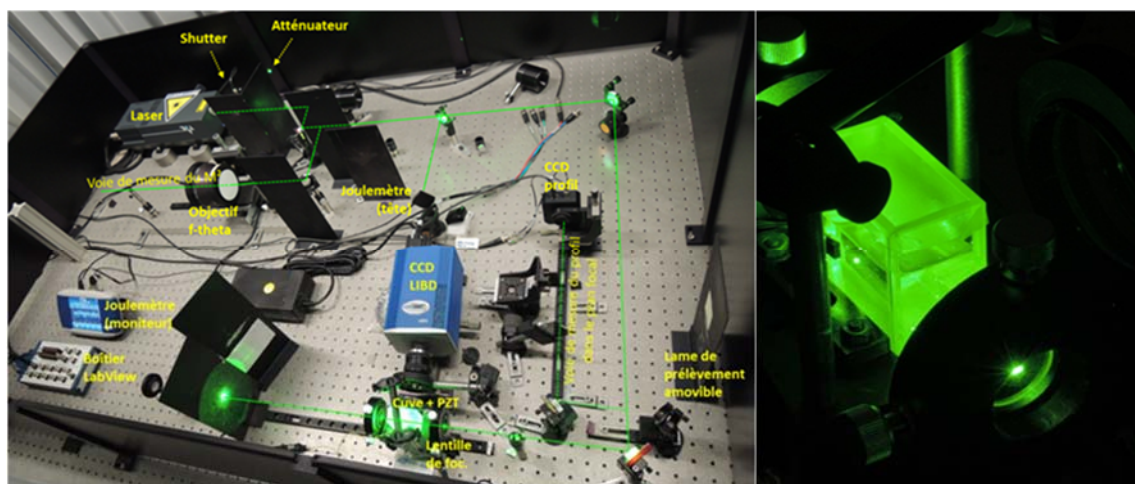


Figure 1. Photo du montage et zoom sur la lentille de focalisation et la cuve de mesure. Un claquage est visible dans le plan focal de la lentille

Développement de polymères à empreintes ioniques pour la préconcentration sélective des lanthanides ; M. Moussa ; LSABM ; ESPCI.

Les lanthanides sont présents généralement dans la nature sous la forme Ln(III) et leur utilisation croissante dans l'industrie induit une présence accrue dans l'environnement et la chaîne alimentaire. De premières études ayant révélé leur toxicité [1,2], il apparaît nécessaire de pouvoir les analyser dans ce type d'échantillons. Ces échantillons étant complexes et les lanthanides à l'état de traces, le développement d'une étape d'extraction sur phase solide (SPE) a donc été envisagé. Les polymères à empreintes ioniques (IIP) ont été choisis comme phase stationnaire de façon à avoir la meilleure sélectivité possible.

Dans cette étude, deux méthodes de synthèse des IIP ont été évaluées : le piégeage et l'immobilisation chimique.

La première, dite par piégeage, a été décrite par Prasado Rao et al pour synthétiser des IIP spécifiques aux lanthanides [3-5]. Elle consiste à former un complexe ternaire dans un solvant entre l'ion empreinte, la 4-vinylpyridine (4-VP) et le 5,7-dichloro-8-hydroxyquinoline (DCQ). Après ajout de styrène, divinylbenzène et AIBN, la polymérisation est initiée. La 4-VP, via sa fonction vinylique, s'intègre au polymère, pendant que le DCQ, sans groupement vinylique reste piégé dans les cavités du polymère. En parallèle, des supports sans ion empreinte sont synthétisés, il s'agit des polymères non imprimés (NIP). Prasado Rao et al. ont caractérisé leurs polymères selon la méthode de partage en équilibre, sans étape de lavage et en comparant généralement la sélectivité des IIP pour un lanthanide par rapport à un autre. Dans notre cas, les IIP et NIP obtenus ont été broyés, tamisés puis mis en cartouche SPE. L'étape d'élimination de l'ion empreinte (Nd) a été optimisée, via un suivi par ICP-MS. Pour la première fois, la perte du DCQ lors de l'utilisation de l'IIP a été quantifiée par HPLC-UV. Des IIP et NIP ont été synthétisés avec la 4-VP et le DCQ ensemble ou seuls, ainsi qu'un NIP à base de 4-VP et de naphthalène au lieu de DCQ. Les profils d'extraction obtenus en SPE en percolant à pH=7,5 puis en éluant avec des tampons de pH décroissants ont montré que le complexe ternaire améliorait la sélectivité du support par rapport au complexe binaire. Le NIP 4-VP-DCQ présente une certaine sélectivité par rapport au NIP 4-VP-naphthalène ce qui s'explique par la mobilité du DCQ piégé. Trois solvants de synthèse des IIP 4-VP-DCQ ont ensuite été testés : le 2-méthoxyéthanol (utilisé par Prasado Rao), le diméthylsulfoxyde et l'acétonitrile. Les IIP obtenus ont montré des sélectivités différentes. Sur l'IIP montrant la meilleure sélectivité, le protocole SPE a été optimisé afin d'obtenir la sélectivité la plus grande possible par rapport au NIP. La sélectivité de ces supports pour tous les lanthanides par rapport à d'autres ions potentiellement interférents présents dans les échantillons réels tels que Y, Li, Co ou Ti a été démontrée.

La seconde voie de synthèse étudiée est l'immobilisation chimique qui présente l'avantage d'utiliser uniquement des ligands vinyliques, ce qui permet leur immobilisation de manière covalente dans la matrice polymère. Nous avons utilisé l'acide méthacrylique comme ligand vinylique et l'éthylène glycol diméthacrylate comme agent réticulant pour la synthèse d'un Nd-IIP et de son NIP. La caractérisation de ces polymères a été réalisée en cartouche SPE. La nature (EDTA, créatinine, β -alanine et HCl), le pH et le volume de la solution de lavage ont été optimisés pour avoir la sélectivité maximale entre l'IIP et le NIP. Une différence de rendement d'extraction de 50% entre l'IIP et le NIP a été obtenue pour tous les lanthanides. L'IIP a aussi permis d'extraire sélectivement le Nd (rendement d'extraction de 90%) en présence d'autres cations (Ti, Li et Co) dont les rendements étaient inférieurs à 20%.

1. V. Gonzalez et al., *Environment International* 71 (2014) 148-157.
2. P. Tai et al., *Chemosphere* 80 (2010) 1031-1035.
3. T.P. Rao et al., *Analytica Chimica Acta* 518 (2004) 143-150.
4. W.R. Pedreira et al., *Journal of Alloys and Compounds* 418 (2006) 247-250.
5. T.P. Rao et al., *Analytica Chimica Acta*, 478 (2003) 43-51.

Analyses chimiques et structurales in situ des parois des grottes ornées Paléolithiques. L'exemple de trois sites majeurs de France et d'Espagne ; Marine Gay ; LAMS ; Université Pierre et Marie Curie.

Les recherches menées pour comprendre les témoignages pariétaux que nous ont laissés les artistes du Paléolithique et les préserver en accédant à une vision globale des cavités ornées et de leurs évolutions au cours du temps, ont fortement bénéficié des récentes avancées technologiques survenues dans le domaine des rayons X. De nouvelles perspectives ont ainsi été ouvertes dans l'acquisition directement sur le terrain de données physico-chimiques pertinentes, grâce à la mise en œuvre réfléchie de méthodes analytiques portables non-invasives, respectueuses de l'intégrité de ces archives archéologiques fragiles.

Cette mise en œuvre in situ n'est toutefois pas aisée et doit tenir compte des conditions difficiles qu'offrent les milieux karstiques (humidité élevée, température, accès difficile à la grotte, aux parois et plafonds ornés). La fabrication sur mesure d'instruments portables adaptés et non-invasifs, ces dernières années, a engendré une renaissance dans l'analyse physico-chimique de cet art des cavernes, offrant une complémentarité analytique indispensable à la caractérisation des mélanges pigmentaires utilisés par les artistes paléolithiques, et plus récemment, à l'évaluation de l'état de la paroi ornée et de son évolution au cours du temps, ainsi que des interactions entre pigments et paroi.

Le travail engagé dans trois grottes ornées majeurs de la région Franco-Cantabrique (les grottes de Rouffignac et de Font-de-Gaume en Dordogne et la grotte de La Garma en Cantabrie) illustre l'efficacité et la complémentarité de la spectrométrie de

fluorescence X et de la diffraction de rayons X pour leur étude physico-chimique. L'identification par ces méthodes de la matière picturale utilisée par les artistes du Paléolithique offre ainsi une meilleure compréhension des techniques artistiques employées et permet d'effectuer des distinctions entre les représentations. Il est alors possible d'apprécier l'homogénéité ou l'hétérogénéité picturale au sein d'une grotte et de différencier les phases d'exécution de ces figures. La caractérisation physico-chimique des états d'altération rencontrés en grotte, en complément d'une caractérisation géologique, permet de compléter l'étude de la matière picturale et de ses interactions avec la paroi, en allant plus loin dans les problèmes de préservation des œuvres liés aux différents processus responsables de l'évolution de l'environnement karstique.

Étude multi échelles des propriétés barrières des couches d'oxydes ultra minces ; Vincent Maurice ; IRCP ; ENSCP.

Attachement anionique régiosélectif en ESI-MS négatif pour l'amélioration de la détection des stéroïdes lors des contrôles de dopage sportif ; Quentin Dumont ; LCSOB ; Université Pierre et Marie Curie.

Les stéroïdes sont des hormones jouant un rôle essentiel dans de nombreux phénomènes physiologiques. Les stéroïdes anaboliques exogènes sont illégalement utilisés pour améliorer les performances sportives de certains athlètes lors de compétitions.¹ Dans les dernières décennies, la spectrométrie de masse (MS), en particulier couplée à la chromatographie en phase (LC) liquide,² s'est imposée comme une méthode de choix pour l'analyse des stéroïdes neutres. Afin d'outrepasser les étapes contraignantes de la préparation des échantillons et améliorer l'efficacité de l'ionisation en électrospray (ESI), la formation d'adduits a été employée pour l'analyse des stéroïdes.³

Le travail présenté a pour but de tester si des améliorations significatives peuvent être mises en place sur les stéroïdes utilisés pour le dopage, tout en montrant des preuves claires de la décomposition régiosélective de ces composés après attachement anionique.

Notre travail vise spécifiquement les composés jugés « problématiques » par l'Agence Française de Lutte contre le Dopage, c'est-à-dire ceux ne répondant pas aux méthodes de routine (GC-MS). Lors d'une première expérience, nous avons testé les limites de détection instrumentale, ce qui a montré que l'utilisation de l'attachement anionique produit toujours un signal plus intense, conduisant à des limites de détection égales ou meilleures que celles obtenues en ESI positif, ou négatif sans additif. Le passage au couplage LC-MS a produit des résultats très encourageants qui sont actuellement en cours d'optimisation. L'attachement anionique conduisant à des décompositions régiospécifiques a également été prouvé. La combinaison d'expériences de MS en tandem sur la d_4 -17,21,21,21-pregnenolone et de calculs théoriques ont démontré sans ambiguïté que les anions ont une préférence pour des régions particulières sur les stéroïdes bifonctionnels. Il a aussi été découvert que le mécanisme de décomposition des adduits stéroïdiques passe par un complexe intermédiaire ion-dipôle.

Ce travail sera poursuivi sur des échantillons réels d'urine jusqu'à la mise au point d'une méthode complète permettant l'analyse des stéroïdes difficiles.

1 WADA, The World Anti-Doping Code, The 2014 Prohibited List. Available at: <http://list.wada-ama.org/wp-content/uploads/2013/11/2014-Prohibited-List-ENGLISH-FINAL.pdf> 2014.

2 Xu, X.; Roman, J. M.; Issaq, H. J.; Keefer, L. K.; Veenstra, T. D.; Ziegler, R. G. *Anal. Chem.* 2007, 79, 7813-7821.

3 Rannulu, N. S.; Cole, R. B. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2012, 23, 1558-1568. Rannulu, N. S.; Cole, R. B. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2012, 23, 1558-1568.

Profiling the cysteine redox proteome: chemical vs. metabolic labeling; Shakir Shakir ; SMBP ; ESPCI.

Reactive oxygen species (ROS) play a crucial role in the regulation of a large array of biological processes ranging from signal transduction and response to stimuli on a cellular level to the process of tissue repair. On the other hand, the accumulation of

ROS induces oxidative stress, a phenomenon tied to a number of pathological conditions such as cancer and neurodegenerative diseases. At the proteome level, the presence of an increased amount of ROS leads to a number of posttranslational modifications (PTMs); notably the oxidation of cysteine residues leads to the formation of sulfenic acid (-S-OH), S-nitro groups (S-NO) and disulfides bridges, the latter known as oxidative folding. The need of a better understanding of all these processes has led to the development of specific analytical strategies aiming to characterize and quantify PTMs on cysteine residues. However, redox proteomics remain a technical challenge due to the labile nature of thiol-redox reactions. Furthermore, compared to other PTMs, the number of modified residues per protein can be high. The low abundance of oxidized proteins, combined to the intrinsic heterogeneity of the oxidized forms is another source of complexity.

A robust shotgun proteomics strategy would take into account the change in protein expression when quantifying the change in cysteine oxidation. We already reported a proteomic strategy, called OcSILAC, allowing the profiling of protein expression and cysteine oxidation in cells. Here we present a protocol based on the use of mass spectrometry and cysteine chemical isotopic labeling. Our study evaluates to what extent our workflow could be applied to fields that are unsuitable to SILAC protocols (tissues, sera, etc.).

Mi lourd 2012

ECHO-MICADAS : nouvel outil dédié à la mesure ¹⁴C

Nadine TISNÉRAT-LABORDE¹, Hans-Arno SYNAL², Christine HATTÉ¹, Marc MASSAULT³, Jean-Luc MICHELOT³, Giuseppe SIANI³, François THIL¹, Jean-Denis VIGNE⁴, Lukas WACKER², Antoine ZAZZO⁴.

¹LSCE, UMR 8212 CEA-CNRS-UVSQ, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France. nadine.tisnerat@lsce.ipsl.fr

²Ion Beam Physics, Paul Scherrer Institute and ETH Zurich, 80093, Zürich, Suisse.

³GEOPS, UMR 8148 CNRS-UPSUD, Campus Universitaire d'Orsay, 91405 Orsay Cedex, France.

⁴MNHN-CNRS, UMR 7209 « Archéozoologie, Archéobotanique: Sociétés, Pratiques et Environnement (AASPE), 55, rue Buffon, CP 56, 75005 Paris, France.

Trois laboratoires franciliens, LSCE, GEOPS, et AASPE, vont accueillir en 2015 un spectromètre de masse par accélérateur ultra-compact. Développé en collaboration avec le laboratoire de physique des faisceaux d'ETH Zürich, il sera le pivot de la "plateforme francilienne de géochimie ¹⁴C". Ce nouvel instrument dénommé EchoMICADAS pour "Environnement, climat et homme Mini CARbon DAtingS" permettra de mesurer avec une haute précision l'activité ¹⁴C de très petits échantillons préparés sous forme gaz (CO₂) ou solide ("graphite"). A la pointe de la technologie, il favorisera une recherche innovante et un enseignement d'excellence dans les domaines des Sciences de l'Environnement, Sciences du Climat et des Sciences Humaines. Le financement d'EchoMICADAS repose sur un ensemble de dotations issues de la région Ile de France (DIM Analytics-projet C14S), du fond européen de développement régional (FEDER-HYPAC3), de la fondation BNP Paribas, du Labex BCDiv, des différentes tutelles ainsi que des ressources propres. Nous allons présenter ici les performances de ce nouvel équipement ainsi que les principales thématiques associées.