

Etude du microenvironnement des enzymes rédox lors de la catalyse en milieu confiné par microscopie de fluorescence *in operando*

Stage de M2, 2024 (dates à préciser avec le candidat)

Laboratoire : Bioénergétique et Ingénierie des Protéines (**BIP**), Equipe Bioélectrochimie, Biointerfaces et Biotechnologies (**BIP08**), **Marseille**, France

Contact : Anne de POULPIQUET (adepoulpiquet@imm.cnrs.fr)

Contexte : Les enzymes rédox présentent des propriétés catalytiques remarquables (sélectivités exceptionnelles, constantes cinétiques élevées, faibles surtensions...) particulièrement intéressantes pour les dispositifs bio-électrochimiques (biocapteurs, biopiles à combustible, bioréacteurs). Dans ces derniers, elles sont immobilisées à la surface d'une électrode avec qui elles échangent des électrons. L'utilisation d'électrodes tridimensionnelles (3D) permet d'améliorer les performances des dispositifs (sensibilité, densités de courant). Cependant, la catalyse enzymatique est très sensible à l'environnement local (pH, température, force ionique, concentration des substrats, produits ou inhibiteurs...) dont la composition, dans ce cas de réactions interfaciales, peut différer de celle correspondant à la solution loin de l'interface. Ces disparités sont amplifiées lorsque les enzymes sont confinées dans les pores d'électrodes 3D, du fait de la complexité des transports de matière associés. Or l'électrochimie ne fournit que des informations indirectes sur l'environnement de l'électrode, comme l'expansion et la composition de la couche de diffusion. Dans ce contexte, une caractérisation fine peut être obtenue en utilisant les microscopies à balayage de sonde, mais elles ne sont pas bien adaptées aux matériaux poreux.

Projet de stage : Ce stage de M2 qui se déroulera au BIP se situe dans le cadre d'un projet en collaboration avec le laboratoire Nanosystèmes Analytiques (NSysA, ISM, Bordeaux) soutenu par la mission pour l'interdisciplinarité du CNRS. Nous proposons d'étudier le microenvironnement des enzymes confinées dans les pores pendant la catalyse grâce au couplage *in operando* de la microscopie de fluorescence confocale et super-résolution 3D-SIM avec l'électrochimie. De nouvelles électrodes de porosité contrôlée seront synthétisées dans le laboratoire bordelais. Dans le laboratoire marseillais, un marquage fluorescent des enzymes révélera leur localisation dans les pores. Des fluorophores sensibles à divers paramètres physico-chimiques (pH, T°, substrats, produits, inhibiteurs) donneront accès à de vastes ensembles de données concernant la distribution de la catalyse et les gradients locaux (pH, concentrations) dans le micro-environnement de l'enzyme. Ce niveau d'information inégalable permettra une compréhension fine des phénomènes aux bio-électrodes, et l'optimisation de l'environnement local de l'enzyme lors de la catalyse.

Profil du stagiaire : Vous êtes étudiant en M2 (ou équivalent en école d'ingénieur) et avez un intérêt prononcé pour la chimie physique, la chimie analytique ou la chimie du vivant. Vous avez le goût des expériences et êtes motivé par un projet de recherche à l'interface entre la chimie, la physique et la biologie. Une formation ou expérience en chimie des matériaux, électrochimie ou microscopie serait un plus.

***In operando* fluorescence microscopy for the study of redox enzyme microenvironment during catalysis in confined conditions**

M2 internship, 2024 (dates to be specified with the candidate)

Laboratory: Bioenergetics and Protein Engineering (**BIP**), Group Bioelectrochemistry, Biointerfaces and Biotechnologies ([BIP08](#)), **Marseille**, France

Contact : Anne de POULPIQUET (adepoulpiquet@imm.cnrs.fr)

Context: Redox enzymes present remarkable catalytic properties (exceptional selectivity, high kinetic constant, low overvoltage, etc.), which are particularly interesting for bio-electrochemical devices (biosensors, biofuel cells, bioreactors). In the latter, they are immobilized on the surface of an electrode with which they exchange electrons. The use of three-dimensional (3D) electrodes makes it possible to improve the performance of the devices (sensitivity, current densities). However, enzymatic catalysis is very sensitive to the local environment (pH, temperature, ionic strength, concentration of substrates, products or inhibitors, etc.) whose composition, in the case of interfacial reactions, can differ from the bulk of the solution. These disparities are amplified when the enzymes are confined in the pores of 3D electrodes, due to the complexity of the associated mass transport. However, electrochemistry only provides indirect information on the environment of the electrode, such as the expansion and composition of the diffusion layer. Fine characterization can be obtained using probe scanning microscopies, but they are inadequate in the case of porous materials.

Project description: This M2 internship, which will take place at the BIP is part of a collaborative project with the laboratory Analytical Nanosystems (NSysA, ISM, Bordeaux) funded by the CNRS "mission for interdisciplinarity". We propose to study the microenvironment of enzymes confined in pores during catalysis thanks to the *in operando* coupling of confocal fluorescence microscopy and super-resolution 3D-SIM with electrochemistry. New electrodes with controlled porosity will be synthesized in Bordeaux. In Marseille, fluorescent marking of the enzymes will reveal their location in the pores. Fluorophores sensitive to various physicochemical parameters (pH, T°, substrates, products, inhibitors) will provide access to large sets of data concerning the distribution of catalysis and local gradients (pH, concentrations) in the microenvironment of the enzyme. This unrivaled level of information will promote the understanding of the phenomena at bio-electrodes, and the optimization of the local environment of the enzyme during catalysis.

Expected profile of the candidate: You are an M2 student (or equivalent in an engineering school) and have a strong interest in physical chemistry, analytical chemistry or life chemistry. You like performing experiments and are motivated by a research project at the interface between chemistry, physics and biology. Training or experience in materials science, electrochemistry or microscopy would be a plus.