

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

FABRICATION ET BIOFONCTIONNALISATION D'UNE MOUSSE D'OXYDE
DE GRAPHÈNE PAR DES APTAMÈRES POUR UNE DÉCONTAMINATION
SÉLECTIVE EN MILIEU AQUEUX

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN BIOCHIMIE

PAR

SIHAM CHERGUI

FÉVRIER 2018

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.10-2015). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Ce manuscrit de mémoire, est la synthèse de deux années de recherche effectuées au sein de l'université du Québec à Montréal dans le département de Chimie-Biochimie. Durant cette période j'ai pu renforcer mes connaissances, tant sur le plan professionnel que personnel, j'ai collaboré avec plusieurs personnes que je tiens à remercier.

En premier lieu, je tiens à remercier mon Directeur de Recherche le Professeur Mohamed Siaj, pour m'avoir donné la chance de travailler dans un groupe de recherche très déterminé, pour la confiance qu'il m'a accordée, pour ses conseils et orientation tout au long de ma maîtrise. Je me sens honoré, d'avoir été supervisé par un professeur multidisciplinaire et surtout avec un énorme savoir. Également merci au Dr. Rami Abdelhaq pour ces précieux conseils, suggestions, sur le succès et la vie et toutes les fois qu'il a été présent pour moi. Aussi je tiens à remercier le Pr Davis Dewez pour m'avoir permis l'accès à son laboratoire afin d'effectuer mes expériences.

J'aimerais remercier aussi mes collègues et amis : Dr Poorahong Sujjitra pour son amitié et son aide précieuse, Dalal Sharata, Ons Hmam, Jeanne N'diaye, Farzaneh Mahvash Mohammad, Wassila Zaidi, Gaston Contreras Jimenez, Mohammed Alahmadi, Ahmad AL-Shboul, Thai Tran Xuan, et enfin Abdallah Oukarroum. Ces personnes ont été des collègues stimulants, des scientifiques prêts à aider et à contribuer pour le bon déroulement de toutes expériences réalisées ainsi que pour l'ambiance très amicale et agréable.

Merci aussi à tous les techniciens et techniciennes de laboratoire, merci au service de caractérisation, particulièrement à Gwenaël Chamoulaud pour ces orientations, les membres du département de Chimie ainsi que les employés du magasin de chimie.

J'aimerais grandement remercier mes amis, Farida, Djahida, Victorien, Lyndsay, Sami ainsi que le Pr associé Canh Le Tien pour leurs soutiens et conseils et toutes personnes ayant contribué de loin ou de près pour la réalisation de mon projet de recherche surtout Gisèle Legault pour son soutien et son aide précieuse.

Pour finir, je voudrais adresser toute mon affection et remercier chaleureusement ma famille qui a toujours cru en moi et encouragée et qui a été toujours à mes côtés. Ma famille a contribué avec son amour et son soutien pour l'aboutissement de ce travail et que grâce à eux j'ai pu atteindre mon objectif, réussir et surtout réaliser mes rêves. Mes chers parents, merci pour tout, je ne pourrai jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi, papa, maman, mes frères et mes sœurs, mes neveux ainsi qu'à mes beaux-frères; un très grand merci. Je remercie également une personne très chère à mon cœur, Khaled Rhili pour son soutien, sa patience et ces encouragements tout au long de ma maîtrise.

DÉDICACE

À ma très chère mère

Aucune dédicace ne peut exprimer mes sincères sentiments, mon respect, mon amour éternel ainsi que ma gratitude pour ces sacrifices

À la mémoire de mon très cher père

Ce travail est dédié à mon très cher père décédé trop tôt, qui a sacrifié sa vie pour nous et qui m'a toujours motivé et encouragé, espérant qu'il est fier de moi, et qu'il apprécie cet humble geste de reconnaissance de la part de sa fille qui a toujours priée pour le salut de son âme et à qui il manque énormément

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	xi
ABRÉVIATIONS	xii
RÉSUMÉ	xiv
MISE EN CONTEXTE.....	xv
CHAPITRE I	
GÉNÉRALITÉS.....	1
1.1 L'oxyde de graphène : synthèse, structure et propriétés.....	1
1.1.1 Synthèses du graphite oxydé.....	1
1.1.2 Synthèse de l'oxyde de graphène	4
1.1.3 Structure de l'oxyde de graphène.....	6
1.1.4 Propriétés de l'oxyde de graphène	10
1.1.5 Applications de l'oxyde de graphène.....	12
1.2 Les aptamères : nature et propriétés, structure, méthode de développement et applications	13
1.2.1 Nature et propriétés des aptamères.....	13
1.2.2 Structure des aptamères.....	15
1.2.3 Méthode de développement des aptamères.....	17
1.2.4 Applications des aptamères.....	20
CHAPITRE II	
TECHNIQUE D'ANALYSE ET DE CARACTÉRISATION	
2.1 Introduction.....	21
2.2 Microscopie électronique à balayage (MEB)	21
2.3 Spectroscopie Raman.....	25
2.4 Spectroscopie photoélectronique à rayonnement X (XPS)	28

2.5	Spectroscopie ultraviolet-visible	31
2.6	Spectroscopie de Photoluminescence (PL).....	33
2.7	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	35
CHAPITRE III		
FABRICATION ET CARACTÉRISATION D'UNE MOUSSE À BASE DE DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS D'OXYDE DE GRAPHÈNE		
3.1	Étapes de fabrication d'une mousse d'oxyde de graphène	38
3.1.1	Préparation des différentes concentrations d'oxyde de graphène	38
3.1.2	Étapes de fabrication de membranes 3D à base d'oxyde de graphène.....	39
3.1.3	Caractérisation des mousses à base d'oxyde de graphène	42
CHAPITRE IV		
ARTICLE: GRAPHENE OXIDE FOAM IMMOBILIZED APTAMER FOR HIGH SELECTIVITY EFFICIENT HORMONE REMOVAL MEMBRANE		
4.1	Résumé	46
4.2	Abstract.....	47
4.3	Introduction.....	48
4.4	Experimental section	51
4.4.1	Chemicals	51
4.4.2	Synthesis of Graphene Oxide.....	51
4.4.3	Preparation of GO foam conjugate polymer	52
4.4.4	Instrumental characterization of all materials	52
4.4.5	Investigating the specificity and selectively of this developed aptamer ..	52
4.4.6	Adsorption Efficiency	53
4.5	Results and discussion	53
4.5.1	The intensity of fluorescence dependent concentration of GO	53
4.5.2	Characterization of GO foam	56
4.5.3	Mechanism and DNA adsorption on GO foam	63
4.6	Conclusion	68
CONCLUSION GÉNÉRALE.....		69
RÉFÉRENCES.....		72

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1	Représentation schématique de l'exfoliation thermique, a) exfoliation à haute température et à pression atmosphérique, b) exfoliation à basse température (200 °C) sous ultravide (Lv <i>et al.</i> , 2009) 5
1.2	Modèles structuraux de l'oxyde de graphène proposé par : a) Hofmann <i>et Holst</i> , b) Ruess (Dreyer <i>et al.</i> , 2010; Szabó <i>et al.</i> , 2006) 7
1.3	Modèles structuraux de l'oxyde de graphène proposé par : a) Scholz <i>et Boehm</i> , b) Nakajima-Matsuo (Dreyer <i>et al.</i> , 2010; Szabó <i>et al.</i> , 2006) 8
1.4	Proposition de modèles de la structure de l'OG par Lerf-Klinowski; a) absence de fonctions acides carboxyliques (Dreyer <i>et al.</i> , 2010; He, H. <i>et al.</i> , 1998), b) présence d'acide carboxylique au niveau des bordures (Dreyer <i>et al.</i> , 2010; Lerf <i>et al.</i> , 1998) 9
1.5	Modèles structuraux de l'OG; a) modèle mettant en évidence la présence de fonction lactone (bleues), esters (roses), hydroxyles (noires), époxydes (rouges) et cétones (verts) (Gao <i>et al.</i> , 2009), b) modèle proposé par Dékány (Dreyer <i>et al.</i> , 2010; Szabó <i>et al.</i> , 2006)..... 10
1.6	Différences structurales entre ADN et ARN (Nucleic acid CHEMICAL COMPOUND, s.d.)..... 16
1.7	Différents motifs représentatifs des aptamères, A) motif tige-boucle, B) motif pseudo-nœud et C) le motif G-quartet (Haddache, 2015)..... 17
1.8	Diagramme général du processus de déroulement de la méthode SELEX (Contreras Jiménez <i>et al.</i> , 2015) 19
1.9	Différentes applications des aptamères dans divers domaines (Iliuk <i>et al.</i> , 2011) 20
2.1	Représentation schématique des différents constituants principaux d'un microscope électronique à balayage (Australien Microscopy and Microanalysis Research Facility, s.d.) 22
2.2	Différentes émissions électroniques relatives aux interactions d'un faisceau d'électrons avec l'échantillon étudié (PAQUETON et RUSTE, 2006)..... 24

2.3	Représentation schématique de l'appareillage de la spectroscopie Raman (University of Notre Dame, s.d.)	26
2.4	Schéma illustratif de la diffusion Raman (Gilbert, 2005).....	27
2.5	Schéma illustratif de l'instrumentation XPS (Ultra High Vacuum Lab).....	28
2.6	Processus de l'effet photoélectrique (El Kazzi, 2007).....	30
2.7	Instrumentation de la spectroscopie UV-Visible (Mettler-Toledo AG, 2015)	31
2.8	Diagramme de la transition électronique (UVED, 2008)	32
2.9	Illustration de l'instrumentation de la spectroscopie de la photoluminescence (Perret, 2001)	33
2.10	Diagramme du principe de fonctionnement de la photoluminescence (Gullapalli et Barron, 2010).....	34
2.11	Schéma illustratif de l'instrumentation de la spectroscopie FTIR (Borella, 2006)	35
2.12	Diagramme des niveaux d'énergie d'une molécule en spectroscopie FTIR (Pecsok et Shields, 1968).....	37
3.1	Différentes étapes de la synthèse de l'oxyde de graphène par la méthode de Hummers modifié	39
3.2	Schéma représentatif de la fonctionnalisation OG-PEI	41
3.3	Image MEB de la mousse d'oxyde de graphène (OG couplé au PEI).....	42
3.4	Spectre infrarouge de la mousse d'oxyde de graphène (OG couplé au PEI). 43	
3.5	Spectre Raman de la mousse d'oxyde de graphène (oxyde de graphène couplé au PEI).....	44
4.1	Intensity-dependent fluorescence from concentration of GO. a) GO solution with different concentrations, the color changes from dark (higher concentration) to clear (lower concentration). b) Fluorescence of different concentrations of GO in excitation at 280 nm and emission spectra at \approx 565 nm. c) Effect of concentration GO on fluorescence intensity.....	55
4.2	FTIR analysis spectra. a) spectra of GO. b) spectra of PEI. c) spectra of combined product GO-PEI (N'Diaye, 2016).....	57

4.3	FTIR spectra of the four concentrations of GO 3D membrane with covalent bound (C-N) and different intensity for each stretching ($C_1= 0,500$ g/l, $C_2= 0,858$ g/l, $C_3= 1,358$ g/l, $C_4= 3,716$ g/l).....	58
4.4	(A) Raman spectra of the four concentrations of GO and (B) the intensity ratio of G and D peaks from Raman spectra.....	60
4.5	SEM images of 3D membrane GO in different concentrations.....	62
4.6	Comparison of intensity fluorescence quenching efficiency between complexe GO-Analyte/ GO-Aptamer-Analyte and analyte in excitation $\lambda= 280$ nm	64
4.7	Percentage of absorption between GO-Aptamer-Analyte and GO-Analyte in different concentrations of GO	65
4.8	Different hormone analogs of Dexamethasone	66
4.9	Specificity and selectivity for Dexamethasone: fluorescence peak analog hormones measured at the same concentration of 15 ppm	67

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1 Différentes méthodes d'oxydation du graphite en graphite oxydé (Compton et Nguyen, 2010).....	3
1.2 Différences entre aptamères et anticorps (Jayasena, 1999; Tombelli <i>et al.</i> , 2005)	15

ABRÉVIATIONS

ADNdb	Acide Désoxyribonucléique double brin
ADNsb	Acide Désoxyribonucléique simple brin
C	Concentration
Et₂O	Éther Diéthylique
EtOH	Éthanol
FITC	Fluorescein Isothiocyanate
FTIR	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
H₂O₂	Peroxyde d'Hydrogène
H₂SO₄	Acide Sulfurique
H₃PO₄	Acide Phosphorique
HCl	Acide Chlorhydrique
HNO₃	Acide Nitrique
KClO₃	Chlorate de Potassium
K_a	Constante de Dissociation
KMnO₄	Permanganate de Potassium
MEB	Microscopie Électronique à Balayage

NaNO₃	Nitrate de Sodium
OG	Oxyde de Graphène
PCR	Réaction en Chaîne par Polymérase
PEI	Polyethylenimine
PL	Photoluminescence
RGO	Oxyde de Graphène Réduit
SELEX	Évolution Systématique de Ligands par Enrichissement Exponentiel
SEM	Scanning Electron Microscopy
XPS	Spectroscopie de Photoélectrons à rayons X

RÉSUMÉ

L'oxyde de graphène (OG) se compose d'un réseau à base de carbone ayant des propriétés amphiphiles par la présence de fonctions oxygénées sur les bordures (hydrophile) et un plan basal hydrophobe. L'OG présente aussi une large surface/volume ratio pouvant interagir avec les biomolécules.

Dans le présent travail, la synthèse d'une solution d'OG par la méthode de Hummers modifiée a été réalisée pour la fabrication de membranes à base d'OG et de polyéthylènimine. Les membranes ont été caractérisées par des techniques d'analyse de surface, tels que la microscopie RAMAN, la microscopie électronique à balayage (MEB) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Ces membranes sont stables en solution aqueuse et peuvent être retirées facilement de la solution. En plus, la forme oxydée du graphène en solution aqueuse permet une certaine maniabilité quant à la taille, la forme et l'épaisseur des membranes dépendamment de l'application désirée.

Les mousses d'OG (membranes) ont été mises en contact avec un aptamère (simple brin d'ADN) développé dans le laboratoire. Comme preuve de concept nous avons utilisé la dexaméthasone une hormone stéroïdienne comme analyte pour développer l'aptamère. Les mousses de l'oxyde de graphène et de l'aptamère ont une forte affinité due aux interactions intermoléculaires et aux liaisons hydrogène.

La biofonctionnalisation de la mousse d'OG avec un aptamère développé permet une décontamination spécifique des eaux. Cette spécificité est relative à l'interaction entre la mousse, l'aptamère et l'analyte absorbé. L'analyse de l'absorbance a été réalisée par la spectroscopie UV-visible et par photoluminescence. Un test de sélectivité a été réalisé par incubation de la mousse d'OG avec des hormones stéroïdiennes analogues la dexaméthasone (Progestérone, Estrone, Estradiol et 19-Norethindrone).

L'affinité entre l'OG-Aptamère et la dexaméthasone a été caractérisée par la photoluminescence. Les résultats confirment que l'aptamère développé pour la dexaméthasone a une spécificité jumelée à une sélectivité vis-à-vis de l'analyte.

MOTS-CLÉS : Oxyde de graphène, polymère, membrane, aptamère, analyte, adsorption, affinité et sélectivité.

MISE EN CONTEXTE

Depuis plusieurs années, la qualité de l'eau est devenue une problématique majeure de santé publique. L'eau est une source de vie irremplaçable et essentielle à tous les êtres vivants et au maintien des propriétés environnementales de la terre (Mahamat *et al.*, 2017). Elle est utilisée quotidiennement pour l'alimentation, pour les tâches ménagères ainsi que dans toutes les industries. Les voies de communications les plus importantes pour les transports de personnes et de marchandises sont les fleuves et les mers. Les eaux véhiculent les déchets domestiques et industriels.

De nos jours, ces eaux sont devenues une décharge publique par des substances polluantes. Ces dernières engendrent un dysfonctionnement des écosystèmes aquatiques et des organismes vivants.

Mon projet de recherche consiste à répondre à une problématique primordiale relatives à la décontamination des milieux aquatiques des différents polluants. Une nouvelle approche pratique et simple a été développée par l'utilisation de l'oxyde de graphène couplé à des aptamères comme des membranes.

Le premier objectif de mon travail est la synthèse de l'oxyde de graphène (OG) en se basant sur la méthode d'Hummers modifié (Marcano *et al.*, 2010). Cette méthode de synthèse permet ainsi la production de monocouches de OG de haute qualité avec très peu de défauts dans la structure. L'oxyde de graphène est un matériau précurseur du graphène.

Le deuxième objectif est de fabriquer des mousses à base de différentes concentrations de solution d'oxyde de graphène par l'addition d'un polymère le polyéthylèneimine (PEI) qui joue le rôle d'adduit. Cette fonctionnalisation chimique de l'oxyde de

graphène à l'aide du PEI permet l'obtention d'une membrane poreuse et recyclable pour une utilisation dans la décontamination.

Le troisième objectif est de biofonctionnaliser la mousse de OG par un ancrage d'aptamère sur sa surface pour une décontamination sélective en milieu aqueux. En effet, l'objectif de cette partie est de développer une nouvelle approche qui permet une décantation sélective et spécifique par l'utilisation d'un complexe mousse OG-Aptamère-Contaminant.

L'aptamère développé (dexaméthasone) dans le laboratoire du Pr.Siaj a une grande affinité pour le contaminant utilisé la dexaméthasone (Mehennaoui *et al.*, 2018). Après complexation, la mousse OG absorbe de manière efficace et favorise ainsi l'élimination du contaminant et l'aptamère permet une absorption additionnel d'environ 30% par rapport l'absence d'aptamère. Aussi, un test de sélectivité est réalisé par l'utilisation d'hormones analogues à la dexaméthasone. Ce test a confirmé que l'aptamère utilisé a une grande affinité et une grande sélectivité en comparaison avec les hormones analogues.

Enfin, notre conclusion révèle que l'approche développée dans ce projet pourra avoir des applications et des perspectives futures avantageuses dans le domaine des membranes sélectives.

CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉS

1.1 L'oxyde de graphène : synthèse, structure et propriétés

1.1.1 Synthèses du graphite oxydé

La synthèse de l'oxyde de graphite nécessite l'utilisation du graphite naturel, ce matériau révolutionnaire découvert en 1555 en Angleterre près de Borrowdale dans un gisement (Seligman *et al.*, 2006) malgré que sa première utilisation fût 4000 ans avant (Boardman, 1966). Le graphite est un ensemble de feuillets de structure cristalline hexagonale liés faiblement par des interactions de Van der Waals, il est constitué d'atomes de carbone en hybridation "sp²" (Tsu *et al.*, 1978).

Depuis sa découverte en 1859 par le chimiste Brodie, l'oxyde de graphite fut utilisé comme matériau de départ pour la synthèse du graphène et de l'oxyde de graphène (Boehm *et al.*, 1962). L'intérêt de Brodie était porté sur la réactivité du graphite par l'ajout du chlorate de potassium (KClO₃) en présence de l'acide nitrique fumant (HNO₃) (Costa-Coquelard *et al.*, 2011). À partir de ce mélange, Brodie avait déterminé la structure de son matériau composé de carbone (C), d'hydrogène (H) et d'oxygène (O) avec des ratios de C : H : O (61.04 : 1.85 : 37.11). Malgré les efforts de recherches de Brodie, la nature, de l'oxyde de graphite n'a pas vraiment été déterminée, mais il a pu déduire que cette molécule est de nature non stœchiométrique (Brodie, 1859).

Près de 40 ans après la découverte de Brodie, une autre méthode alternative voit le jour: la méthode de Staudenmaier (Staudenmaier, 1898), cette méthode plus améliorée que la méthode utilisée par Brodie. Staudenmaier est un chimiste allemand qui a utilisé la méthode de Brodie en gardant la procédure fondamentale et cela par l'ajout de l'acide sulfurique (H_2SO_4) pour acidifier le milieu et obtenir une bonne oxydation du graphite en ayant des propriétés similaires à l'oxyde de graphite obtenu par Brodie (Dreyer *et al.*, 2010). Aussi, il a rajouté une plus grande quantité d'agent oxydant fort le chlorate de potassium (KClO_3) mélangé avec de l'acide nitrique (HNO_3).

Le produit obtenu par Staudenmaier présente les mêmes propriétés à celui préparé par Brodie avec un ratio de C/O proche de 2. L'accès à de nouvelles méthodes pour la synthèse du graphite oxydé est passé par une période de latence, car il fallait attendre encore 60 ans pour qu'une nouvelle méthode apparaisse après celle découverte par Brodie, il s'agit de la méthode de Hummers et Offeman (Hummers Jr et Offeman, 1958).

En comparaison avec les autres méthodes décrites précédemment, la méthode de Hummers et Offeman utilise un autre oxydant qui est le permanganate de potassium (KMnO_4) et ainsi qu'un acide concentré qui est l'acide sulfurique (H_2SO_4) qui est utilisé comme réactif. La démarche utilisée par Hummers et Offeman dans l'oxydation du graphite se différencie de celle de Brodie par la durée de la réaction ainsi que par les réactifs utilisés. De ce fait un autre produit, le peroxyde d'hydrogène est utilisé pour l'élimination des ions permanganate. Les trois méthodes décrites représentent les principales voies de synthèse avec quelques modifications de la procédure initiale du protocole.

Une des plus importantes modifications réalisées pour cette synthèse est celle qui a été communiquée par Marcano et ses collaborateurs (Marcano *et al.*, 2010) ou ils ont remplacé le chlorate de sodium ou de potassium par l'acide phosphorique (H_3PO_4). Ce dernier est plus facile à utiliser et représente moins de danger par rapport aux autres

réactifs et qui se combine bien avec le permanganate de potassium pour avoir une excellente oxydation du graphite. L'acide phosphorique se combine bien avec le permanganate de potassium pour avoir une excellente oxydation du graphite. En effet, en utilisant la méthode de synthèse de Marcano et ses collaborateurs combinée avec la variation de la durée de la réaction nous avons été capables de bien contrôler le niveau d'oxydation du graphène (Zhang *et al.*, 2009).

Les méthodes décrites ci-dessus représentent les principales voies d'oxydation du graphite. Le tableau 1.1 résume brièvement ces méthodes utilisées.

Tableau 1.1 Différentes méthodes d'oxydation du graphite en graphite oxydé (Compton et Nguyen, 2010)

Synthèses	Brodie	Staudenmaier	Hummers	Hummers Modifié
Année	1859	1898	1958	2004
Oxydants (réactifs)	KClO ₃ et HNO ₃	KClO ₃ (ou NaClO ₃), HNO ₃ et H ₂ SO ₄	NaNO ₃ , KMnO ₄ , H ₂ SO ₄	NaNO ₃ , KMnO ₄ , H ₂ SO ₄
Ratio (C:O)	2.16 2.28	Non communiqué 1.85	2.25 2.17	1.18
Durée de la réaction	3-4 jours 10 h	1-2 jours 10 jours	≈ 2 h 9-10 h	≈ 5 jours
Distance entre les plans (Å)	5.9	6.2	6.7	8.3

Pour conclure, l'utilisation de réactifs différents dans l'oxydation du graphite permet d'avoir des réactions différentes. Donc le résultat final de la réaction dépend de l'oxydant utilisé, sans oublier que la nature du graphite utilisé affecte aussi la réaction.

Dans les réactions précédentes, l'utilisation d'un fort oxydant comme le chlorate de potassium ainsi que l'acide nitrique présente une très grande capacité à réagir avec des surfaces carbonées aromatiques (Lakshminarayanan *et al.*, 2004).

1.1.2 Synthèse de l'oxyde de graphène

L'oxyde de graphène est la forme la plus utilisée dans plusieurs disciplines. Il est synthétisé à partir de l'oxydation du graphite ou se dernier est constitué d'un empilement ABAB de couches de graphène. Cette oxydation se fait par l'ajout d'acide comme réactif pour incorporer des groupements fonctionnels à base d'oxygène sur la surface du graphène tel que les groupements carbonyles, époxy, hydroxyles (Cai *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2009).

Après avoir oxydé le graphite, il est encore nécessaire de l'exfolier pour obtenir des feuillets d'OG. Cette exfoliation peut être réalisée sous différentes façons. La méthode la plus répandue et la plus utilisée est celle de la sonication du graphite oxydé dans un solvant. D'autres méthodes d'exfoliation sont aussi utilisées pour avoir le OG telles que l'exfoliation thermique.

1.1.2.1 Exfoliation thermique

Cette exfoliation se fait par le chauffage du graphite oxydé afin de permettre l'augmentation de la pression entre les feuillets. En effet, cette augmentation se fait par la décomposition des groupements oxygénés et la production de gaz associée. L'exfoliation est dite effective quand la pression appliquée est plus forte que les interactions de Van der Waals. Malgré que cette méthode soit plus rapide que d'autre méthode pour avoir des feuillets monocouches, mais elle reste limitée, car l'augmentation de la température provoque une réduction de l'OG obtenu. Notons alors que cette méthode n'est pas adéquate pour avoir du OG, mais elle est plus liée à l'exfoliation du graphite oxydé pour avoir de l'oxyde de graphène réduit. (Schniepp *et al.*, 2006; Wu, Z.-S. *et al.*, 2009). La méthode de l'exfoliation thermique est brièvement décrite dans la figure 1.1.

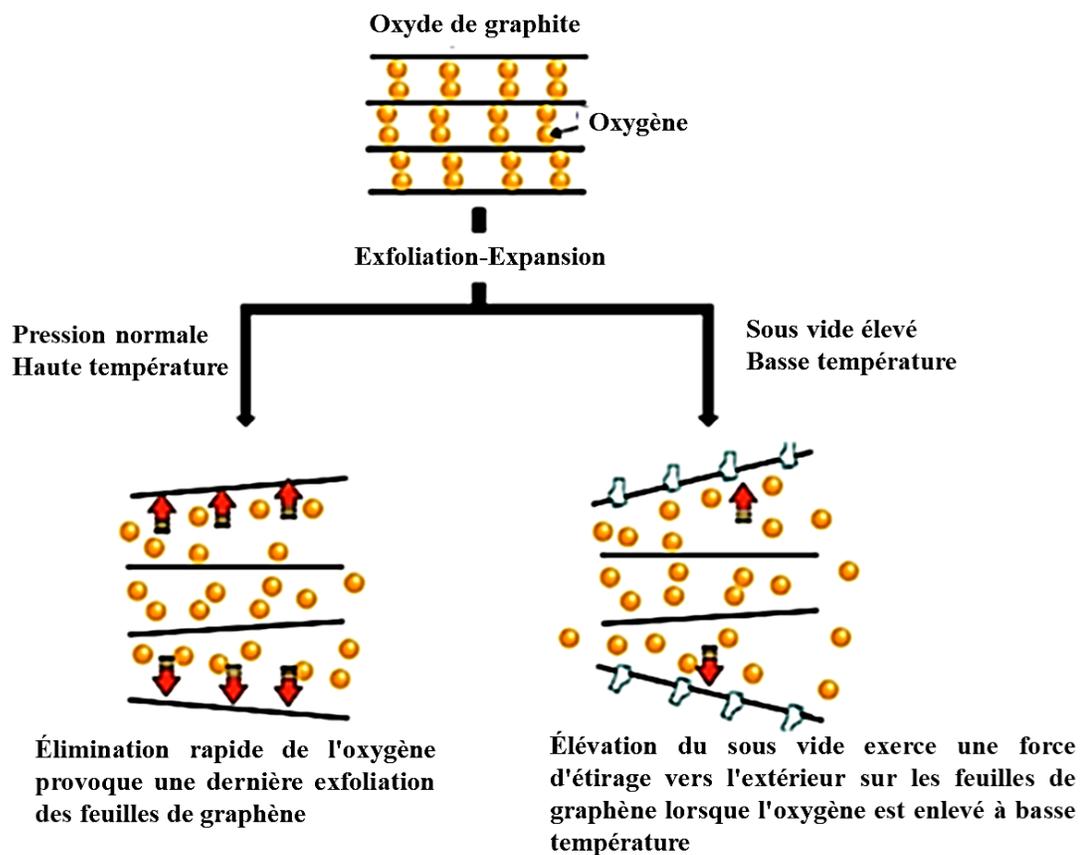


Figure 1.1 Représentation schématique de l'exfoliation thermique, a) exfoliation à haute température et à pression atmosphérique, b) exfoliation à basse température (200 °C) sous ultravide (Lv *et al.*, 2009)

1.1.2.2 Sonication de l'oxyde de graphite dans un solvant

Afin d'avoir l'oxyde de graphène, l'oxyde de graphite peut être exfolié dans un milieu aqueux et cela grâce aux groupements oxygénés qui se trouvent sur sa surface qui provoque l'augmentation de la distance entre les plans au niveau du graphite oxydé. Pour ce faire, cette exfoliation introduit dans son procédé des solvants organiques (Ozbas *et al.*, 2012). En effet, cette exfoliation peut se faire par l'utilisation de l'isocyanate de phényle qui permet une fonctionnalisation covalente par la réduction du nombre de liaisons hydrogène (Stankovich *et al.*, 2006). Un autre produit est utilisé aussi pour l'exfoliation par sonication qui est le bromure de didodecyldiméthylammonium, mais cette fois-ci la fonctionnalisation est non covalente (Hill *et al.*, 2011). Les solvants organiques utilisés dans l'exfoliation du graphite oxydé ne se résument pas aux deux produits cités dessus, mais inclure également l'éthylène glycol, le tétrahydrofurane, le diméthylformamide et finalement le N-Méthyl-2-Pyrrolidone (Paredes *et al.*, 2008).

1.1.3 Structure de l'oxyde de graphène

La structure de l'oxyde de graphène est très variable et sa structure absolue dépend des conditions utilisées pour sa synthèse. En effet, aucune formule moléculaire ne peut être donnée avec précision pour l'oxyde de graphène malgré les différentes avancées de la recherche. Plusieurs structures ont été conceptionnalisées relativement à la variation de groupements fonctionnels. Cependant pour établir une chimie contrôlée de l'OG, il faut connaître strictement la structure exacte de l'OG. Le développement du modèle de la dynamique structurelle de l'OG peut être expliqué par Tour et Dimiev et cela par leurs nombreux résultats (Dimiev *et al.*, 2012).

En 1940, un premier modèle explicatif de la structure de l'OG a été présenté par Hofmann et Holst par déduction que la distribution des groupements hydroxyle (-OH) et époxyde (1,2-éther) étaient distribués de manière randomiser sur le plan basal parallèle à l'axe horizontal de l'OG (figure 1. 2.a) (Hofmann et Holst, 1939).

Un autre modèle a été proposé par Ruess en 1946. Ce modèle introduit des groupements hydroxyles et il suggère que la structure est composée de carbone sp^3 (Figure 1.2.b) (Ruess, 1947).

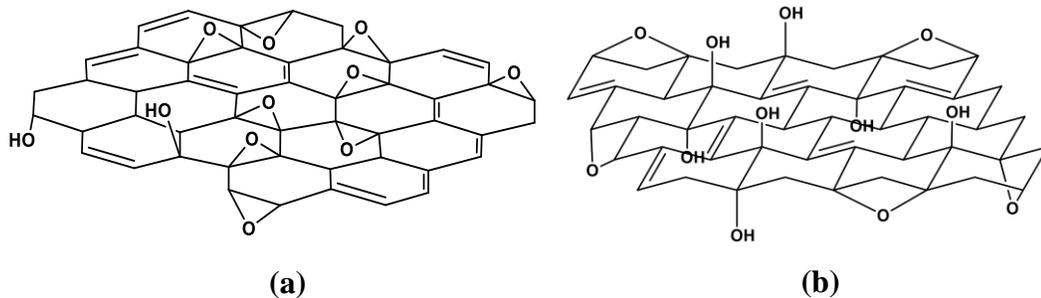


Figure 1.2 Modèles structuraux de l'oxyde de graphène proposé par : a) Hofmann et Holst, b) Ruess (Dreyer *et al.*, 2010; Szabó *et al.*, 2006)

En 1969, une autre structure de l'OG a été suggérée par Scholz et Boehm, ou celle-ci sera dépourvue des fonctions époxydes (figure 1.3.a) (Scholz et Boehm, 1969). Cependant, Nakajima-Matsuo en 1994 proposa le même modèle de celui de Scholz et Boehm, ou il remplaça les fonctions époxydes de la structure de l'OG par des unités carbonyles et hydroxyle avec une distribution intermittente sur la surface sa surface (figure 1.3.b) (Nakajima, T *et al.*, 1988).

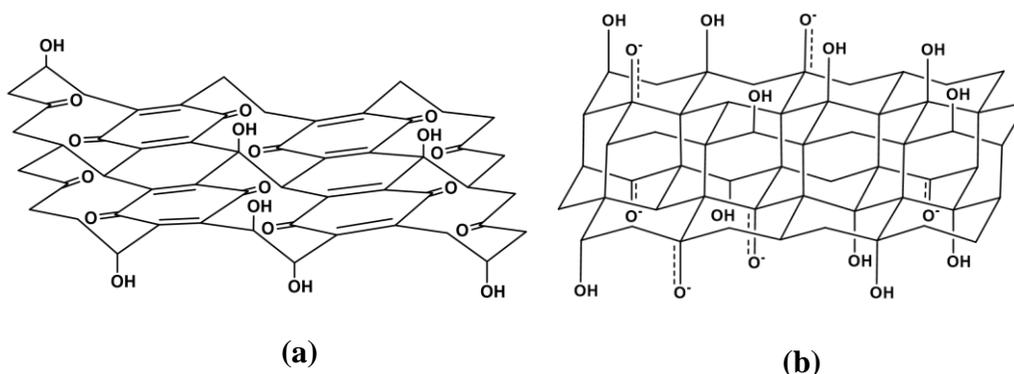


Figure 1.3 Modèles structuraux de l'oxyde de graphène proposé par : a) Scholz et Boehm, b) Nakajima-Matsuo (Dreyer *et al.*, 2010; Szabó *et al.*, 2006)

Lerf et Klinowski, a développé un autre modèle de l'OG qui est le plus répondu contrairement aux modèles développés précédemment, utilisent ainsi une alternative qui considère la nature amorphe et non stœchiométrique de l'OG. Ce dernier a été analysé par résonance magnétique nucléaire (Lerf *et al.*, 1998). Leurs procédés étaient de faire réagir le OG dans différentes conditions afin d'établir une structure adéquate. Finalement, ils ont pu établir après plusieurs tentatives que les fonctions oxygénées sont plus importantes et sont imposantes à la surface des feuillets de l'OG et se manifestent sous forme d'alcools tertiaires et d'éthers. Ces deux chercheurs ont démontré aussi la présence des doubles liaisons C=C (figure 1.4.a). Ces résultats obtenus étaient définis et basés aussi par la caractérisation faite par spectroscopie infrarouge (Rodriguez et Jimenez, 1986; Scholz et Boehm, 1969). Par la suite, un autre modèle a été proposé, il est plus perfectionné et représente l'existence de fonctions carboxyliques et cétones, ces dernières ont permis l'explication de la structure de l'OG au niveau des bordures (figure 1.4.b).

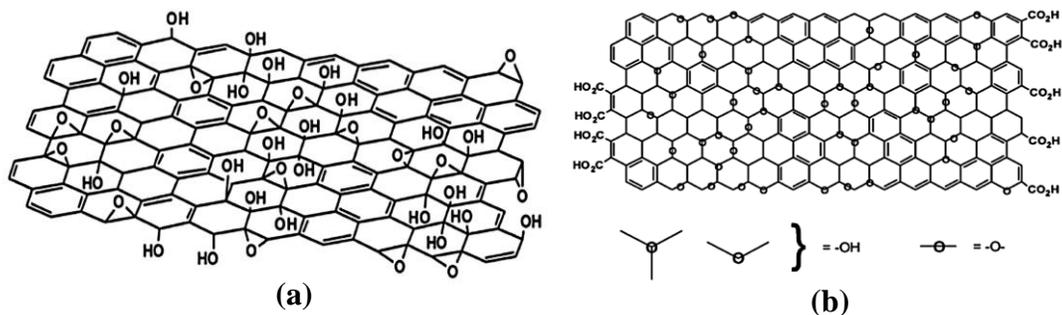


Figure 1.4 Proposition de modèles de la structure de l'OG par *Lerf-Klinowski*; a) absence de fonctions acides carboxyliques (Dreyer *et al.*, 2010; He, H. *et al.*, 1998), b) présence d'acide carboxylique au niveau des bordures (Dreyer *et al.*, 2010; Lerf *et al.*, 1998)

La structure de l'OG n'a pas vraiment été définie exactement, cependant ce modèle ne cesse d'évoluer. Récemment un nouveau modèle a été proposé en contenant des groupements lactones en bordure des feuillets de l'OG ainsi que des fonctions esters (figure 1.5.a) (Gao *et al.*, 2009). L'évolution de la structure de l'OG ne cesse de nous étonner, c'est en 2006 qu'un autre modèle a été établi par Dékány (figure 1.5.b) qui représente une différence fondamentale des modèles précédents, mais qui ressemble davantage aux modèles de Ruess et Scholz-Boehm et cela au niveau de la répétition des motifs ainsi que par l'absence des acides carboxyliques (Szabó *et al.*, 2006).

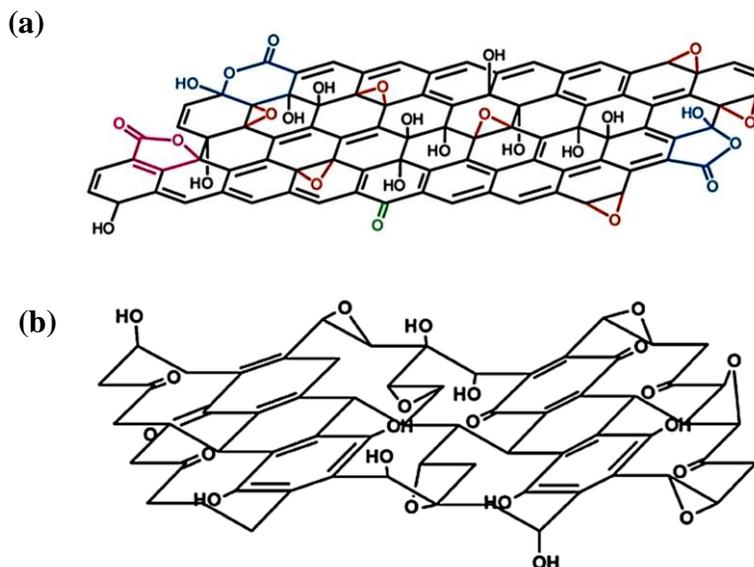


Figure 1.5 Modèles structuraux de l'OG; a) modèle mettant en évidence la présence de fonction lactone (bleues), esters (roses), hydroxyles (noires), époxydes (rouges) et cétones (verts) (Gao *et al.*, 2009), b) modèle proposé par Dékány (Dreyer *et al.*, 2010; Szabó *et al.*, 2006)

1.1.4 Propriétés de l'oxyde de graphène

L'oxyde de graphène a des propriétés importantes qui se manifestent par la présence sur sa surface des groupements fonctionnels oxygénés, il est le précurseur du graphène. Cependant, dans la plupart des cas, les chercheurs n'arrivent pas à définir exactement les propriétés particulières du matériau qui le rend approprié à son utilisation spécifique ou dans des réactions déterminées. Plusieurs modèles structuraux ont été proposés pour l'oxyde de graphène (Hofmann et Holst, 1939; Nakajima, Tsuyoshi et Matsuo, 1994), mais la structure proposée par Lerf et al. (Lerf *et al.*, 1998) est la plus utilisée est c'est la seule structure qui a été approuvée.

La structure de l'OG est formée par un ensemble répétitif de carbone de forme hexagonale ayant à la fois des atomes de carbone hybridés sp^2 et d'atomes de carbone hybridé sp^3 . Les fonctionnalisations oxygénées créent des défauts au niveau de sa structure qui se traduit par la présence de trou entre la valence et sa bande de conductance en le transformant en un semi-conducteur ou même en un isolant, et cela dépendamment de son degré de dérivation (Eda *et al.*, 2009; Li, S.-S. *et al.*, 2010). En effet, la conductivité est une propriété qui peut être facilement accordée à l'OG (Jung, I. *et al.*, 2008). Cette propriété est relative à la perturbation du réseau des liaisons sp^2 et qui est manifestée faiblement au niveau de certains $\mu S\ cm^{-1}$ (Machado et Serp, 2012; Punckt *et al.*, 2013).

D'autres propriétés se confèrent à l'oxyde de graphène tel que les propriétés amphiphiles ou il est chargé négativement dans des conditions physiologiques. Il présente un plan basal hydrophobe et des bordures hydrophiles, ce qui est différent du graphène. Cette différence permet à l'OG d'avoir une meilleure solubilité dans différents solvants. La charge de l'oxyde de graphène peut être inversée en interagissant avec des réactifs polycationiques tels que les polymères ou alors les dendrimères. En effet, la présence de l'OG dans les cellules peut potentiellement interagir avec des surfaces hydrophile chargées positivement ou bien négativement telles que les protéines, ADN, Aptamères et acides nucléiques (Bianco, 2013; Skoda *et al.*, 2014).

L'oxyde de graphène présente aussi une très grande surface spécifique qui le rend attrayant non seulement pour son utilisation dans la catalyse, mais aussi dans plusieurs applications. Sa large surface a été déterminée par la méthode de Brunauer–Emmett–Teller (BET). La surface calculée pour l'OG est de $890\ m^2\ g^{-1}$, tandis que celle calculée expérimentalement en solution aqueuse est de $736.6\ m^2\ g^{-1}$ (Montes-Navajas *et al.*, 2013).

1.1.5 Applications de l'oxyde de graphène

La présence des groupements fonctionnels oxygénés dans la structure de l'OG lui confère un avantage potentiel pour son utilisation dans plusieurs domaines et applications. En effet, la polarité des groupements fonctionnels lui permet d'avoir une bonne dispersibilité dans l'eau ainsi que dans différents solvants (Bissessur et Scully, 2007; Compton et Nguyen, 2010; Park et Ruoff, 2009). Cependant, après la dispersion de l'OG dans l'eau, on obtient une suspension stable qui peut être efficacement déposée sur divers substrats pour une préparation ultérieure sous forme de films conducteurs minces par utilisation de différentes méthodes telles que la pulvérisation, le revêtement ainsi que par la coulée (Kim *et al.*, 2010).

Les applications de l'oxyde de graphène ne se résument pas seulement ici, il peut être utilisé aussi en optoélectronique, détection et imagerie. Après la découverte de la photoluminescence relative à l'OG, son utilisation potentielle dans les dispositifs photoniques, y compris les cellules électroluminescentes et les photodétecteurs ne cesse d'évoluer (Eda et Chhowalla, 2010).

L'oxyde de graphène a été utilisé avec succès dans les recherches biomédicales comme transporteur dans la libération des médicaments/des gènes et dans l'imagerie biomédicale (Liu *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2008; Wang, Y. *et al.*, 2011).

Sans oublier que l'OG a été largement utilisé dans la science de l'environnement pour des détections multiples ou encore dans la décontamination des eaux de divers déchets liés aux rejets pharmaceutiques. Cette détection est basée sur la désactivation de la photoluminescence qui est due à la liaison entre l'OG et les molécules biologiques telles que les protéines, anticorps ainsi que les aptamères, ou l'OG est appliquée comme biocapteurs (Chen, J.-L. *et al.*, 2011; Jung, J. H. *et al.*, 2010).

1.2 Les aptamères : nature et propriétés, structure, méthode de développement et applications

1.2.1 Nature et propriétés des aptamères

En 1990, des petites séquences synthétiques d'oligonucléotides ont été développées dans plusieurs laboratoires par une technique *in vitro* de sélection et d'amplification par l'isolation des acides nucléiques spécifiques qui ont une excellente affinité et spécificité avec des molécules cibles (Ellington et Szostak, 1990; Robertson, D. L. et Joyce, 1990; Tuerk et Gold, 1990) telles que des peptides, protéines, des bactéries ou même des cellules entières (Famulok *et al.*, 2000; Mairal *et al.*, 2008). La technique SELEX (*Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment*) est la technique utilisée pour la sélection de ces oligonucléotides synthétiques qui sont appelés aptamères (Sampson, 2003; Stoltenburg *et al.*, 2007).

Les aptamères sont conçus par une synthèse chimique avec un taux de reproductibilité élevé et une grande pureté (Walter *et al.*, 2012). En effet un meilleur aptamère pour une application multiple doit être de préférence de petite taille. Par exemple l'aptamère utilisé pour la fixation de la guanine et la xanthine doit contenir 32 nucléotides (Kiga *et al.*, 1998) et 46 nucléotides pour celui qui fixe la streptomycine (Wallace et Schroeder, 1998)

La liaison des aptamères avec leurs molécules cibles se traduit par des liaisons hydrogène, des interactions de Van der Waals et électrostatiques, des empilements de cycles aromatiques ou encore une combinaison de ces interactions (Hermann et Patel, 2000; Patel *et al.*, 1997). Les aptamères sélectionnés sont caractérisés par des constantes d'équilibre de dissociation (James, 2007; Jayasena, 1999).

1.2.1.1 Affinité et spécificité des aptamères

Les aptamères se lient fortement avec leurs molécules cibles par une affinité et sélectivité élevée. Cette affinité peut être identifiée ou quantifiée par des pico- et des

nanomolaires (constante de dissociation K_d) (Meure *et al.*, 2008). Cette constante de dissociation peut varier d'une molécule cible à une autre. Par exemple pour les protéines la constante de dissociation (K_d) du complexe aptamère-protéine se situe entre nanomolaire et subnanomolaire (10^{-9} à 10^{-11} M) et pour des petites molécules telles que les antibiotiques le K_d est de l'ordre de la micromolaire (10^{-6} à 10^{-7} M) (Gold *et al.*, 1995). En effet, pour que l'aptamère sélectionné ait une forte affinité avec la molécule cible la valeur de K_d doit être faible (Nieuwlandt *et al.*, 1995).

L'autre particularité des aptamères est leur spécificité, qui est décrite par la reconnaissance des molécules cibles par rapport à des molécules en compétition. Plus précisément cette spécificité est une capacité de discrimination qui se traduit en général par la différence d'énergie libre d'interaction. Dans le cas des aptamères ainsi que dans certains systèmes, la spécificité est traduite par des discriminations cinétiques (Eaton *et al.*, 1995).

1.2.1.2 Avantages des aptamères

Les aptamères possèdent des reconnaissances moléculaires semblables aux anticorps, mais encore plus d'avantages (tableau 1.2). En effet, les aptamères n'ont pas recours à des animaux ou à des cellules pour leur sélection et leur production, et ont surtout une excellente stabilité et ne présentent pas de réaction immunitaire. Ils peuvent être conservés à température ambiante et à long terme et peuvent facilement être régénérés après dénaturation (Jayasena, 1999; Tombelli *et al.*, 2005).

Malgré que les aptamères présentent plusieurs avantages, leur utilisation optimale nécessite des conditions physicochimiques spécifiques (Walter *et al.*, 2012).

Tableau 1.2 Différences entre aptamères et anticorps (Jayasena, 1999; Tombelli et al., 2005)

Paramètres	Aptamères	Anticorps
Production	Sélection <i>in vitro</i>	Production <i>in vivo</i>
Immunologie	Non immunogène, toutes sortes de cibles	Cibles immunogènes
Temps et cout de production	Rapide à faible cout	Long et couteux
Stabilité	Dénaturation réversible et régénération rapide	Dénaturation irréversible
Paramètres cinétiques	Dépendant du procédé SELEX employé	Non modifiables

1.2.2 Structure des aptamères

Les aptamères sont formés par un seul brin de 20 à 150 nucléotides se repliant dans une conformation tridimensionnelle (structure secondaire et tertiaire) tout en respectant les règles d'appariement des bases afin d'avoir une structure stable. Ce sont soit de l'ADN ou de l'ARN, composés de bases azotés tels que l'adénine, guanine, cytosine et la thymine pour l'ADN et avec une seule différence de base pour l'ARN en remplaçant la thymine par l'uracile (Sassolas *et al.*, 2011) (figure 1.6).

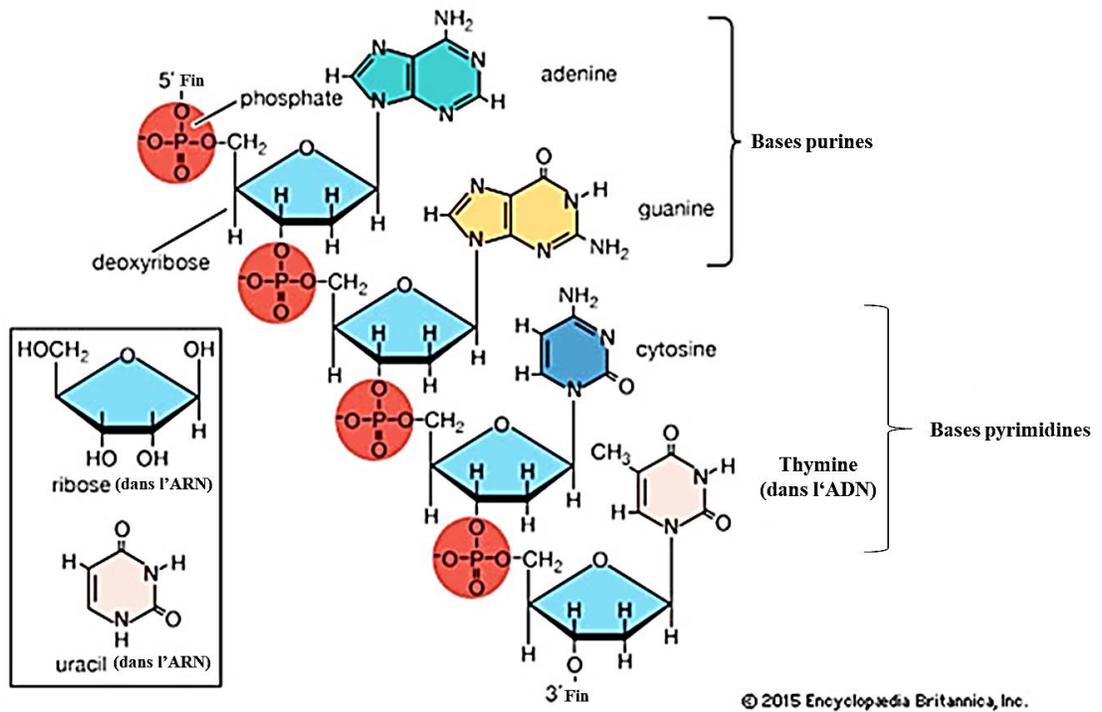


Figure 1.6 Différences structurales entre ADN et ARN (Nucleic acid Chemical Compound, s.d.)

Les aptamères peuvent avoir différents motifs tels que les motifs en épingle de cheveux ou encore en tige-boucle (figure 1.7.A) (Fan *et al.*, 1996). Citant aussi le motif en pseudo-nœud (figure 1.7.B) (Hermann et Patel, 1999), enfin une dernière structure dont le motif en G-quadruplex (figure 1.7.C) (Macaya *et al.*, 1993).

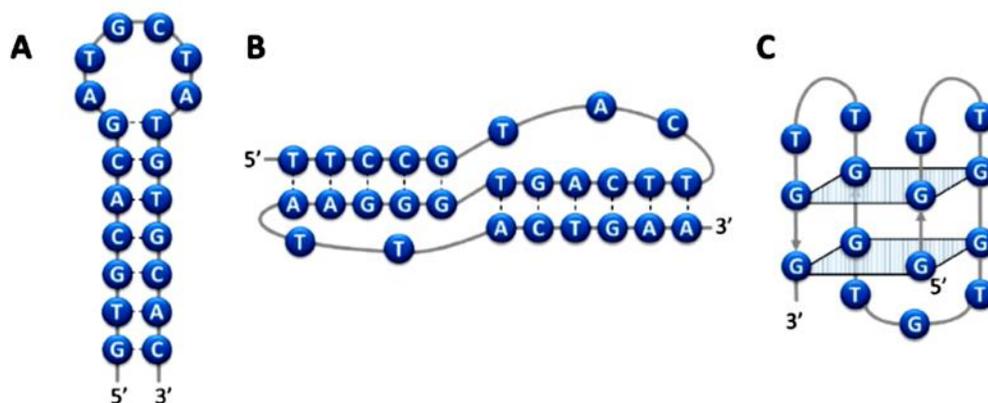


Figure 1.7 Différents motifs représentatifs des aptamères, A) motif tige-boucle, B) motif pseudo-nœud et C) le motif G-quartet (Haddache, 2015)

1.2.3 Méthode de développement des aptamères

Les aptamères sont des molécules synthétiques développés *in vitro* par sélection afin d'avoir des ADN ou des ARN de façon systématique, ces dernières possèdent une excellente capacité de se lier par affinité avec des molécules cibles (Ellington et Szostak, 1990; Tuerk et Gold, 1990). La méthode de sélection est appelée ainsi *Évolution Systematique de Ligands par Enrichissement Exponentiel* (SELEX) (Tuerk et Gold, 1990) d'où cette technique est largement utilisée dans plusieurs domaines. Le principe du SELEX est basé sur la maîtrise de plusieurs étapes essentielles qui vont être décrites ultérieurement.

La méthode SELEX, est une technique de la chimie combinatoire qui permet d'isoler des aptamères à partir d'une banque aléatoire d'oligonucléotides synthétiser chimiquement ou chaque nucléotide est formé de deux régions variables à l'extrémité

5' et 3' ainsi qu'une région constante au milieu. Cette méthode est basée sur des cycles répétitifs et d'une amplification pour enrichir les séquences. En effet la première étape de cette sélection consiste à incuber une banque aléatoire d'ADN à simple brin (ADNsb) composé d'environ 10^{15} avec une molécule cible spécifique. Ce dernier est immobilisé sur un support afin de faciliter son interaction avec l'ADNsb qui est une matrice d'affinité (Stoltenburg *et al.*, 2007). Après l'incubation, une série de lavages est réalisée pour la séparation des séquences d'ADNsb non liées à la cible, et enfin une autre série d'éluion est faite cette fois-ci pour le partitionnement des bonnes séquences d'ADNsb de la molécule cible.

Sans s'étaler dans la description des autres étapes, voici en quelques lignes la suite du processus SELEX (figure 1.8) :

- a. Amplification des séquences sélectionnées par la méthode PCR « Polymérase Chain Reaction » et la régénération de celle-ci afin d'avoir une nouvelle banque qui va être réutilisée dans le prochain cycle (Toulmé *et al.*, 2007);
- b. Dénaturation de l'ADN double brin issu de la PCR par électrophorèse à gel de polyacrylamide (Stellwagen, 2009), ou encor par utilisation d'électrophorèse à gel d'agarose pour des tailles plus grosses d'ADN
- c. (Materna *et al.*, 1998);
- d. Clonage de l'aptamère issu de la dernière sélection afin d'en produire une population génétiquement identique (McFarland, 2000);
- e. Séquençage de l'aptamère par la détermination de l'ordre des nucléotides par l'utilisation d'un logiciel spécifique et efficace (Morgenstern, 2004);
- f. Caractérisation de l'aptamère obtenu par la détermination de son affinité, sa spécificité ainsi que sa stabilité.

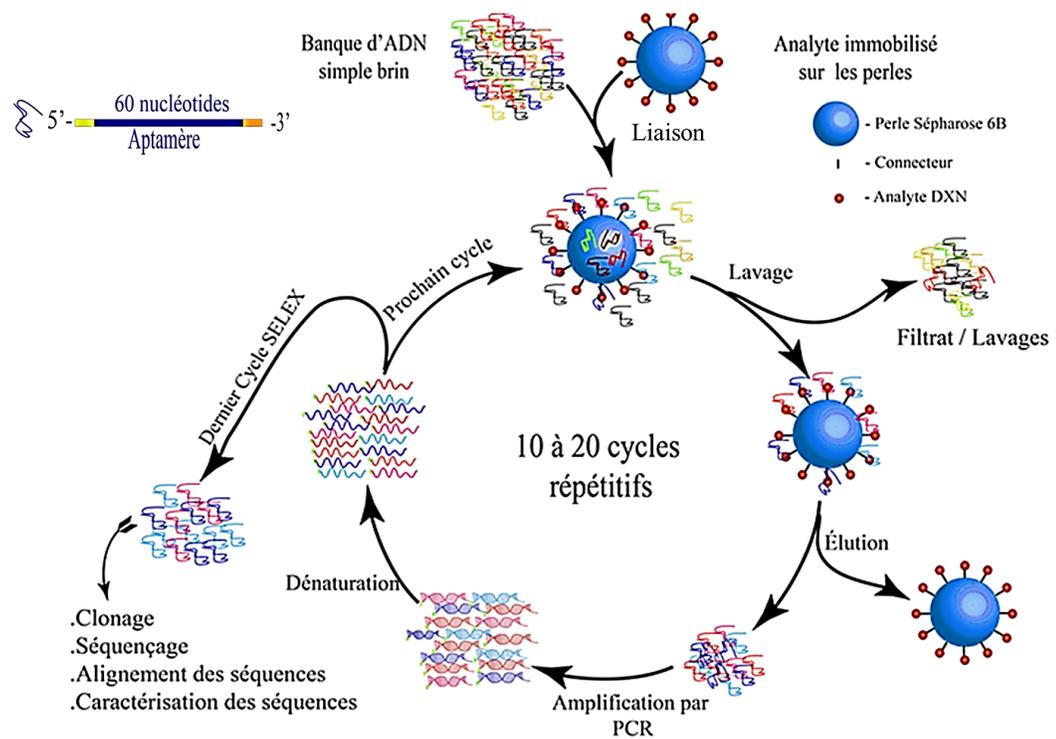


Figure 1.8 Diagramme général du processus de déroulement de la méthode SELEX (Contreras Jiménez *et al.*, 2015)

1.2.4 Applications des aptamères

Les propriétés des aptamères leur confèrent des applications multiples (figure 1.9). En effet, ils peuvent être utilisés dans des thérapies *in vivo* (Ng *et al.*, 2006) spécifiquement dans des thérapies contre le cancer (Wu, C. *et al.*, 2013), dans les systèmes de libération des médicaments (Zhang, Y. *et al.*, 2011), en chromatographie d'affinité comme phase stationnaire (Huy *et al.*, 2011). Aussi les aptamères sont très utilisés dans les biocapteurs (appelés aussi aptasensors) pour une détection diverse (Han *et al.*, 2010).

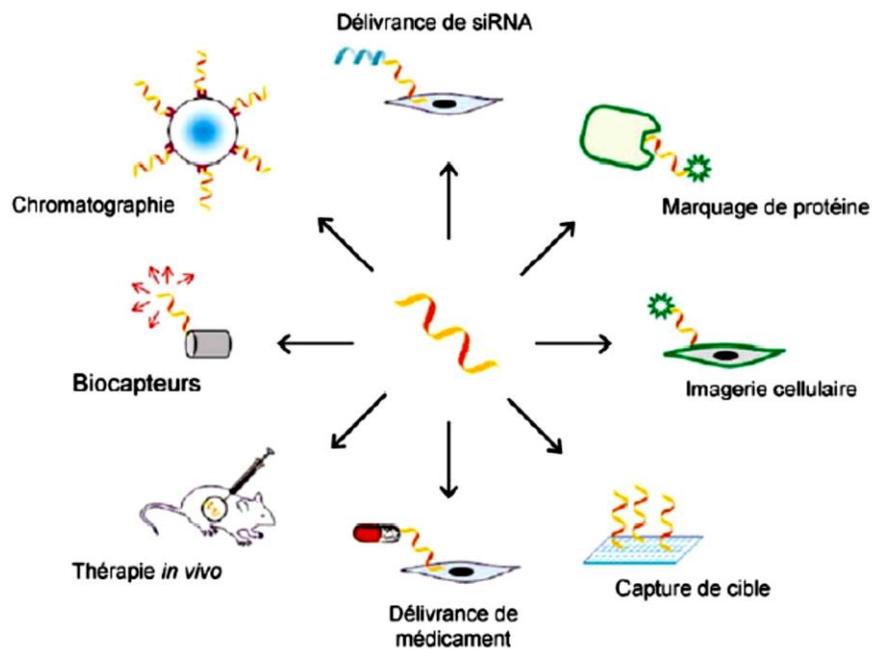


Figure 1.9 Différentes applications des aptamères dans divers domaines (Iliuk *et al.*, 2011)

CHAPITRE II

TECHNIQUE D'ANALYSE ET DE CARACTÉRISATION

2.1 Introduction

Ce chapitre va être consacré à la présentation et la description des différentes techniques utilisées pour la caractérisation de l'oxyde de graphène ainsi que de l'aptamère. Ces techniques sont : la microscopie électronique à balayage (MEB), la spectroscopie Raman, la spectroscopie de photoélectrons induits par rayons X (XPS), la spectroscopie à transformée de Fourier (FTIR), la spectroscopie ultraviolette visible ainsi que la spectroscopie de photoluminescence (PL).

2.2 Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage est considérée comme l'une des techniques analytiques les plus puissantes et les plus utilisées dans divers domaines de recherches pour l'étude de la topographie de la surface, la cristallographie ainsi que dans l'étude de la composition chimique de l'échantillon. Elle produit des images de surface d'un échantillon en profondeur avec de très bonnes résolutions ce qui la différencie du microscope optique (figure 2.1).

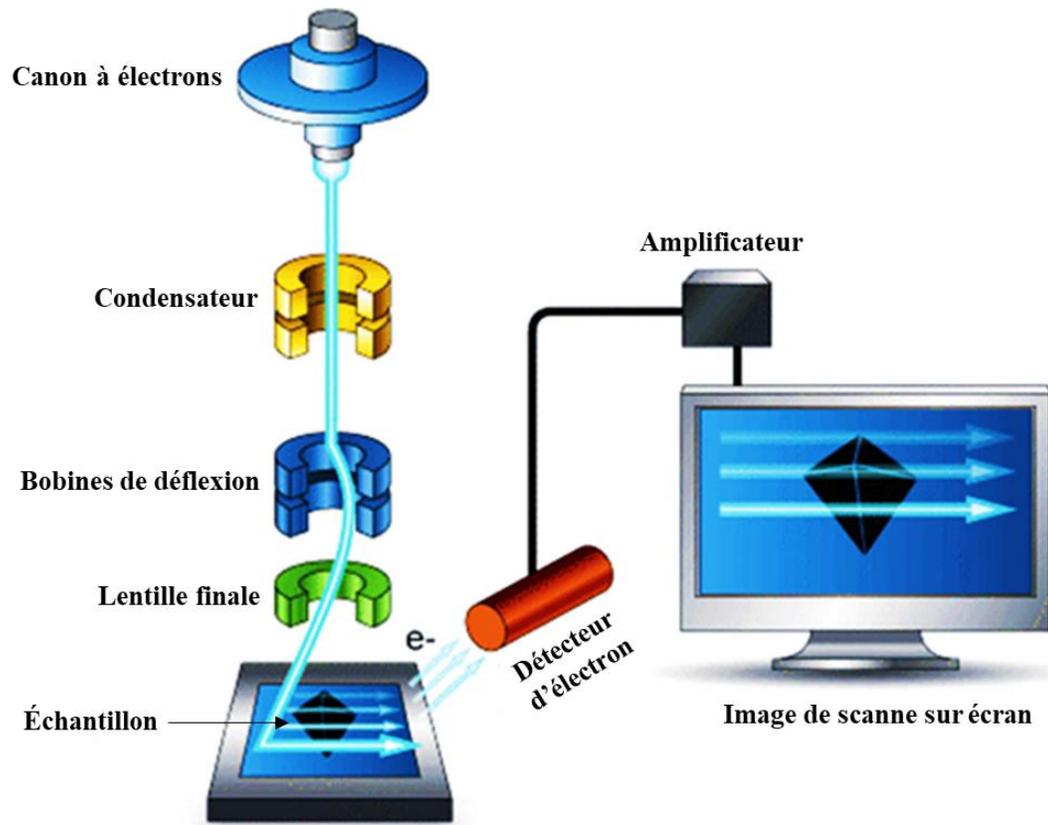


Figure 2.1 Représentation schématique des différents constituants principaux d'un microscope électronique à balayage (Australien Microscopy and Microanalysis Research Facility, s.d.)

Principe de fonctionnement

Le principe de balayage est fondé sur les interactions électrons-matières. Cette technique consiste à explorer la surface d'un échantillon mis sous vide par projection d'un faisceau d'électrons focalisé sur celui-ci de telle sorte que le déplacement d'un faisceau d'électrons se fait en parallèle sur un écran cathodique (Paqueton et Ruste, 2006).

En effet, l'échantillon est bombardé par des électrons primaires issus du canon à électron pour produire à la fin des électrons secondaires de très faible énergie. Des interactions se créent sous forme élastique sans perte d'énergie qui sont appelées des électrons rétrodiffusés et celles inélastiques avec perte d'énergie.

Toutefois, ces interactions peuvent être décrites comme dans la figure 2.2.

- a. Émission **électronique rétrodiffusée** : est une émission sensible au numéro atomique de l'élément cible. Elle provient du faisceau primaire avec une énergie comprise entre 0 et E_0 , donc c'est une énergie qui a subi un certain nombre de chocs élastiques avec les noyaux atomiques et inélastiques avec les atomes orbitaux;
- b. Émission **électronique secondaire** : ce sont des électrons secondaires issus des interactions inélastiques des électrons primaires avec les électrons orbitaux. Ces électrons secondaires possèdent une faible énergie (< 50 eV) (Benarroudj, 2012);
- c. Émission d'**électron Auger** : c'est une désexcitation Auger après ionisation. Elle se traduit par l'interaction inélastique d'un électron primaire avec un électron d'un niveau de cœur de l'échantillon provoquant ainsi une émission d'un électron secondaire (Paqueton et Ruste, 2006) ;
- d. Émission d'un **rayonnement X** : cette émission est due à l'arrachement des électrons provenant des différentes couches des atomes. Elle se traduit par

l'interaction des électrons avec le noyau ou est appelée rayonnement de freinage (Bremsstrahlung) (Benarroudj, 2012).

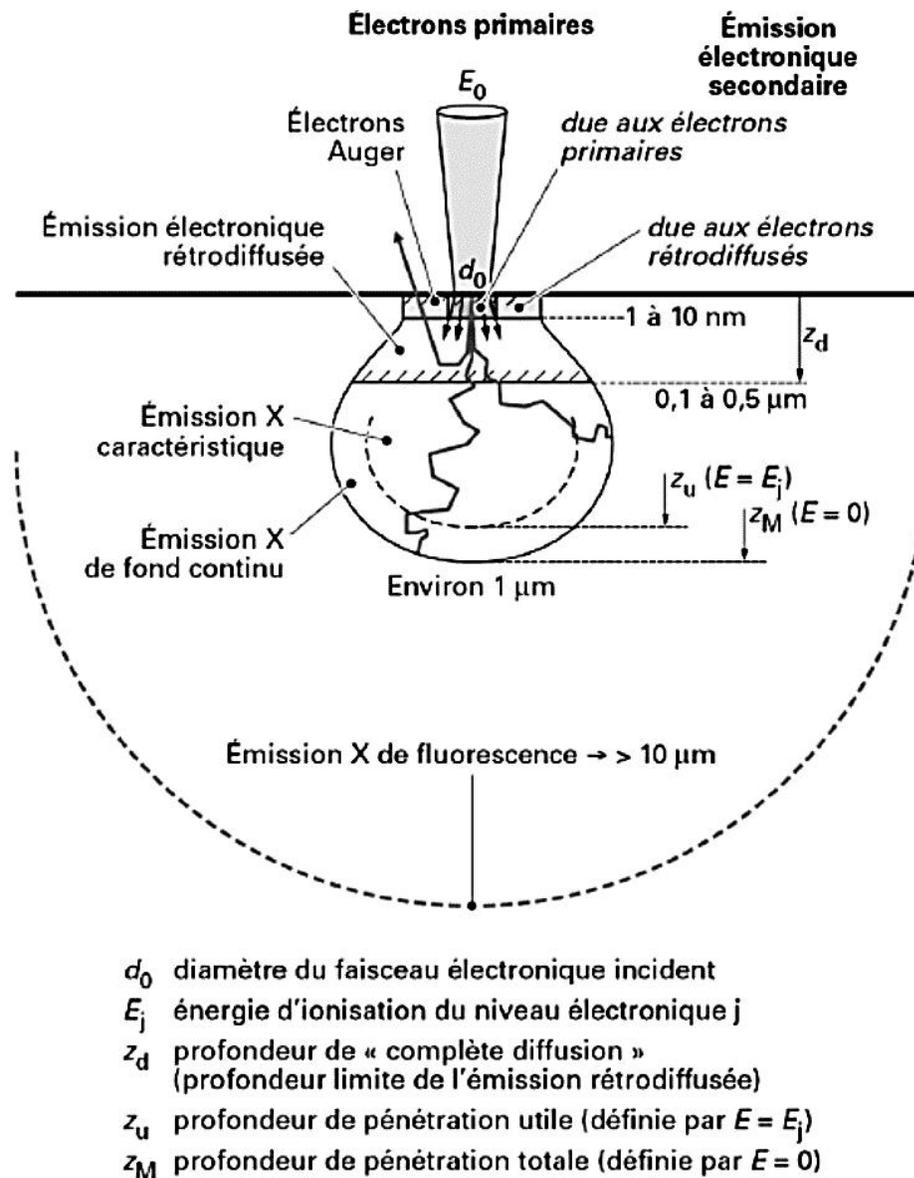


Figure 2.2 Différentes émissions électroniques relatives aux interactions d'un faisceau d'électrons avec l'échantillon étudié (Paqueton et Ruste, 2006)

2.3 Spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman est une technique non destructive qui ne nécessite pas le contact avec l'échantillon étudié et ne demande pas d'avoir un prélèvement (Vandenabeele *et al.*, 2007). C'est une technique utilisée pour la caractérisation d'un matériau tel que l'analyse des pigments, des minéraux ainsi que les produits de corrosion (Bell *et al.*, 1997; Edwards et Chalmers, 2005). En 1928, les chercheurs Sir C.V. Raman et Krishnan ont démontré expérimentalement pour la première fois le phénomène de la diffusion de la lumière pour les liquides (Raman, 1929).

Principe de fonctionnement

Le principe de la spectroscopie Raman étant très simple (figure 2.3). En effet, il utilise le principe de la diffusion élastique par la matière, où une excitation par un faisceau de lumière monochromatique interagit avec la matière pour la production de plusieurs phénomènes. La matière étudiée expose plusieurs transitions avec plusieurs niveaux vibrationnels.

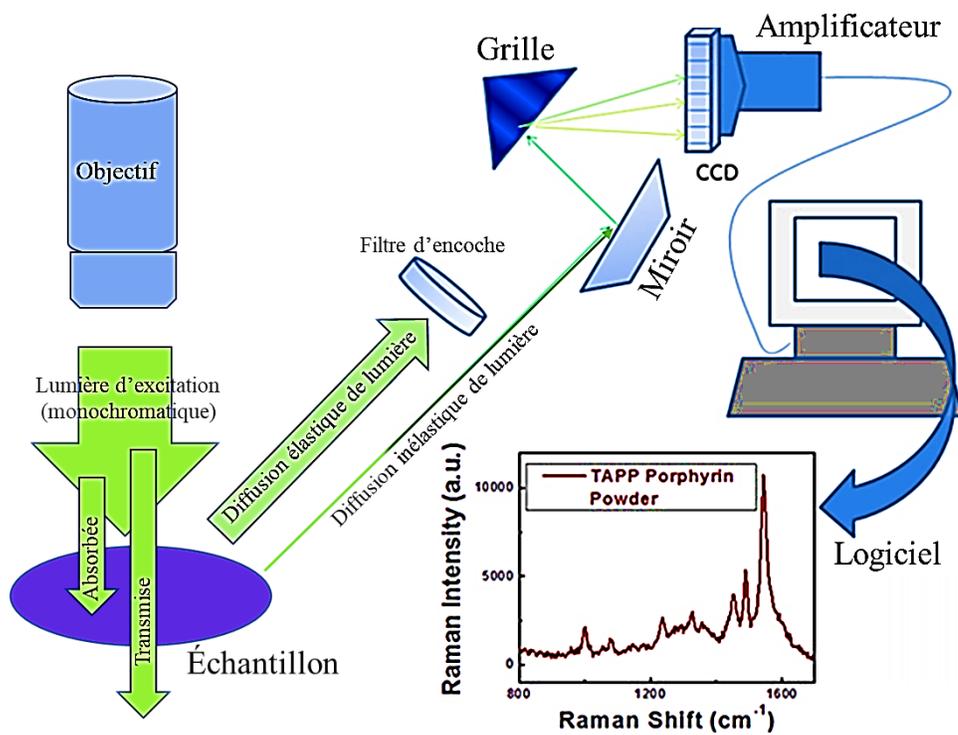


Figure 2.3 Représentation schématique de l'appareillage de la spectroscopie Raman (University of Notre Dame, s.d.)

Ces phénomènes sont (figure 2.4) :

- La diffusion élastique de la lumière se manifeste par la déviation d'une partie du faisceau lumineux dans différentes trajectoires, ou la lumière diffusée à la même énergie que la lumière incidente. Cette diffusion est nommée diffusion de Rayleigh;
- La diffusion inélastique est une diffusion avec changement de fréquence, si la désexcitation est inférieure à celle de l'excitation, alors la diffusion est dite diffusion Raman inélastique Stokes, et si la désexcitation est supérieure à celle de l'excitation, alors la diffusion Raman inélastique est dite anti-Stokes (Barbillat *et al.*, 1999).

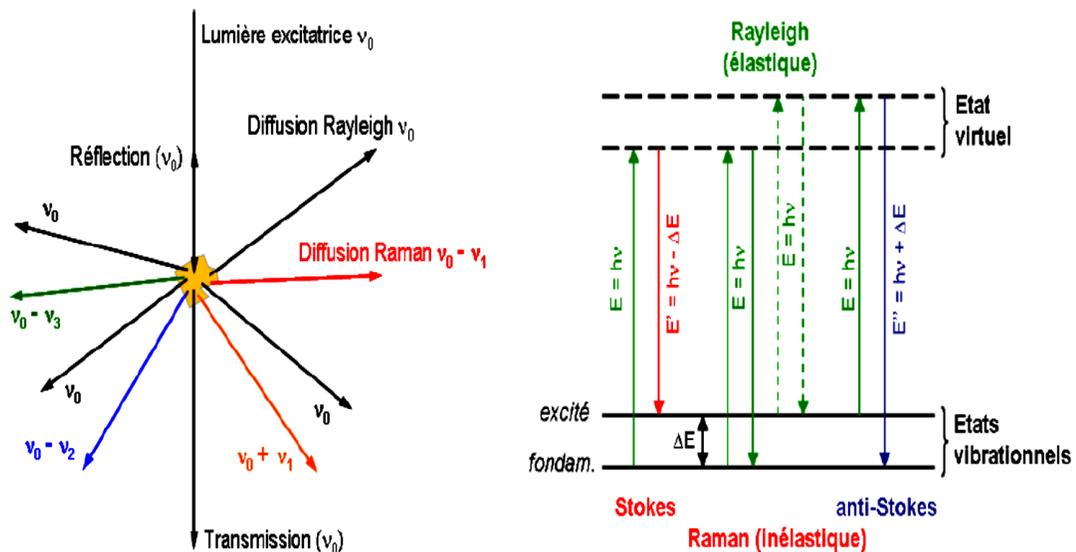


Figure 2.4 Schéma illustratif de la diffusion Raman (Gilbert, 2005)

2.4 Spectroscopie photoélectronique à rayonnement X (XPS)

La spectroscopie photoélectronique à rayonnement X est une technique non destructive, elle est la plus adaptée pour l'analyse de la composition des surfaces et nous renseignent ainsi sur la nature des atomes et des liaisons chimiques (figure 2.5). Elle repose sur l'utilisation de l'effet photoélectrique. Dans les années cinquante, le professeur Kai Siegbahn et son équipe ont développé cette technique (Siegbahn *et al.*, 1968) qui leur a valu le prix Nobel de physique en 1981.

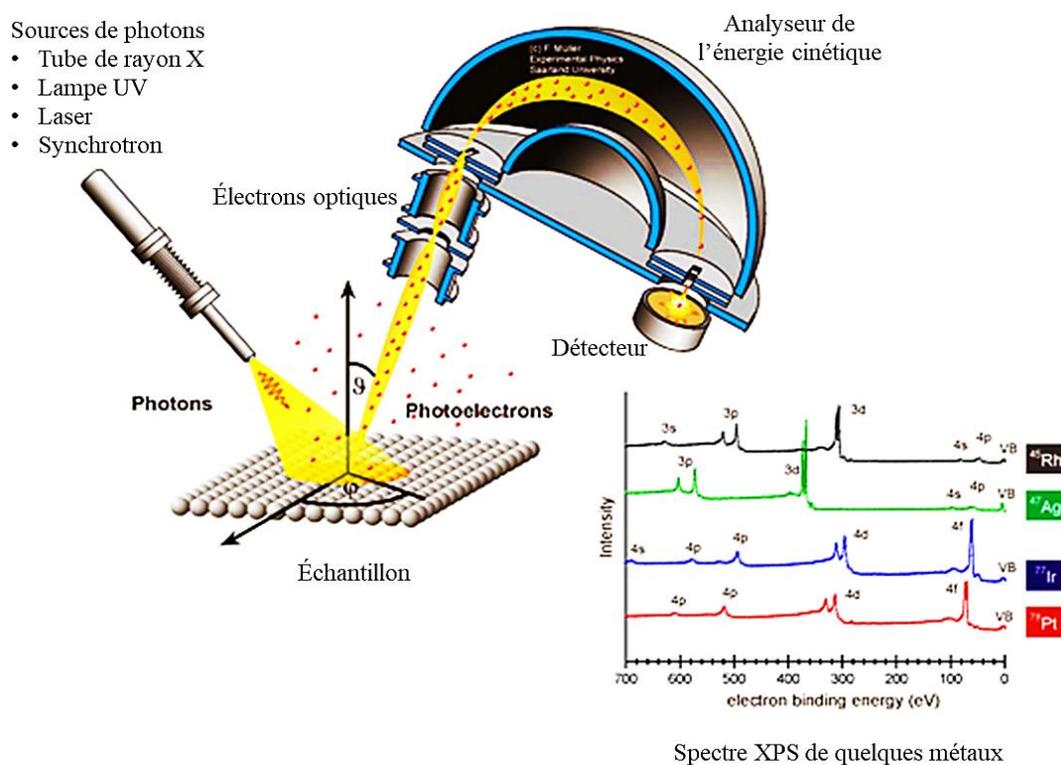


Figure 2.5 Schéma illustratif de l'instrumentation XPS (Ultra High Vacuum Lab)

Principe de fonctionnement

Le principe de l'XPS est basé sur l'irradiation d'un échantillon par un faisceau de photons d'énergie ($h\gamma$) afin de mesurer l'énergie cinétique (E_{Cin}) des électrons émis par le même échantillon. En effet, l'interaction entre les photons et les atomes de l'échantillon provoque une éjection d'électrons de cœur de valence. Tout électron de cœur ou de valence ayant une énergie de liaison inférieure à $h\gamma$ ont la possibilité d'être éjectés (Souici, 2007). Finalement, l'énergie de liaison (E_L) ainsi que l'énergie cinétique E_{Cin} permettent le classement et le dénombrement des électrons (Davoisne, 2006). Afin d'atteindre l'analyseur avec une énergie cinétique E_{Cin} égale à $(E_0 - \phi_{sp})$ et conserver ainsi l'énergie durant l'absorption d'un photon d'énergie $h\gamma$, la relation suivante est appliquée (Souici, 2007) (figure 2.6) :

$$h\gamma = E_{Cin} + E_L + \phi_{sp}$$

$h\gamma$: Énergie du photon incident;

E_{Cin} : Énergie de liaison d'électron;

E_L : Énergie cinétique;

ϕ_{sp} : Constante de travail de sortie du spectromètre, résultante de la différence de potentiel électrique entre l'échantillon et l'analyseur.

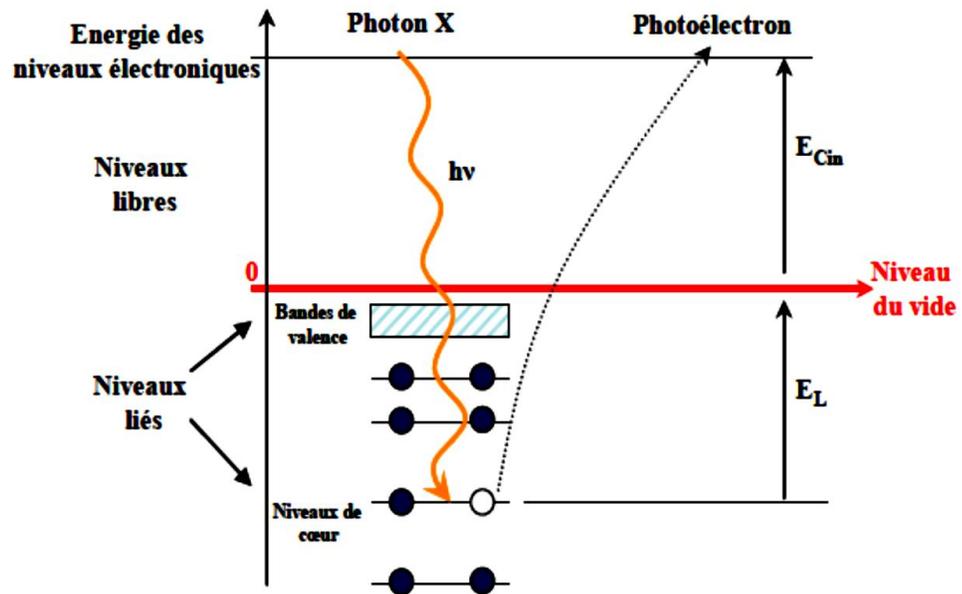


Figure 2.6 Processus de l'effet photoélectrique (El Kazzi, 2007)

2.5 Spectroscopie ultraviolet-visible

La spectroscopie UV-visible (figure 2.7) est une méthode simple et rapide qui fournit des renseignements sur la nature des liaisons présentes dans l'échantillon mais également de déterminer ces propriétés physico-structurales, ces caractéristiques optiques ainsi que ces modes de vibration caractéristiques. Non destructive, cette spectroscopie est largement répandue en travaux pratiques de chimie ainsi qu'en analyse chimique ou biochimique. En effet, cette technique est basée sur l'étude d'un milieu en mesurant sa densité optique et cela avec une longueur d'onde donnée (Haddou, 2010).

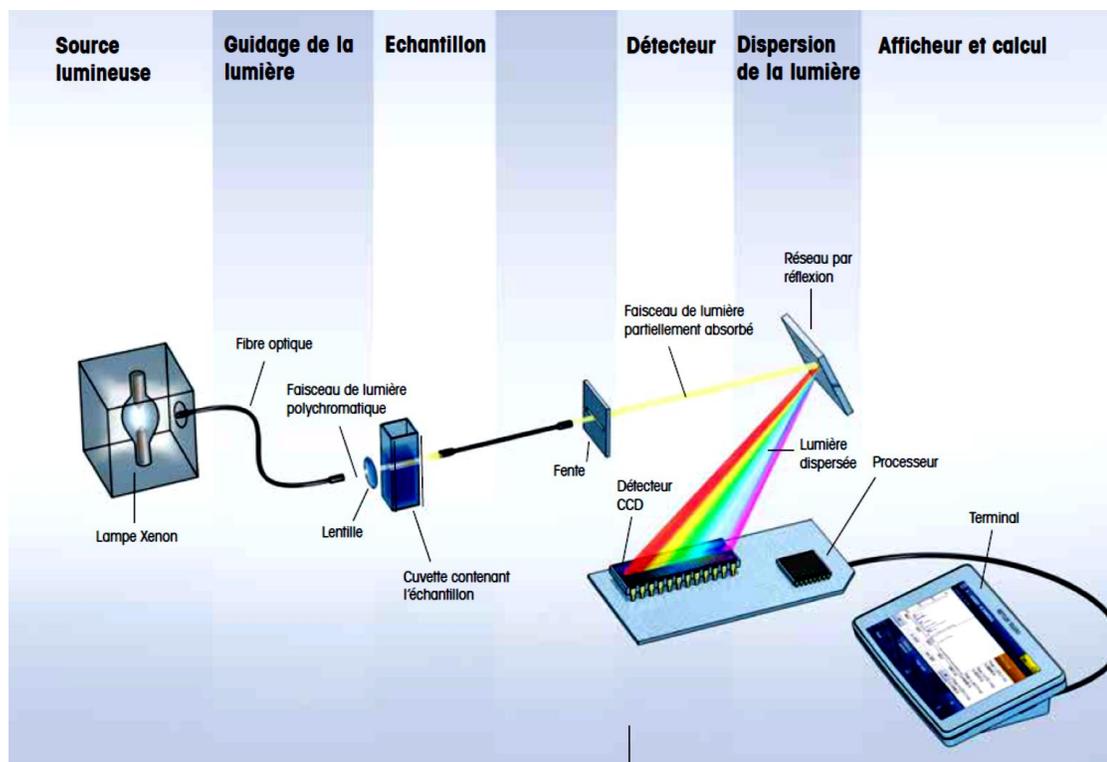


Figure 2.7 Instrumentation de la spectroscopie UV-Visible (Mettler-Toledo AG, 2015)

Principe de fonctionnement

Le mécanisme de fonctionnement de la spectroscopie UV-Visible consiste à un monochromateur permettant de sélectionner les longueurs d'onde. Ensuite une lumière monochromatique traverse l'échantillon avec une intensité (I_0), une mesure de l'intensité (I) de la lumière transmise s'effectue par le spectromètre (Haddou, 2010).

Le principe de l'UV-visible repose sur une transition relative à un déplacement d'un électron d'une orbitale moléculaire fondamentale occupée vers une orbitale moléculaire excitée vacantes (figure 2.8). L'excitation de cette orbitale se traduit par une interaction avec une onde électromagnétique (Gross, 2011). En effet, son principe consiste par l'absorption de photons par l'échantillon dont l'énergie est relative à la différence de cette entre le niveau fondamental et le niveau excité. Des mesures de l'absorbance sont réalisées par un spectrophotomètre et un spectre représentatif de cette absorbance est tracé (Zaydoun, s.d.).

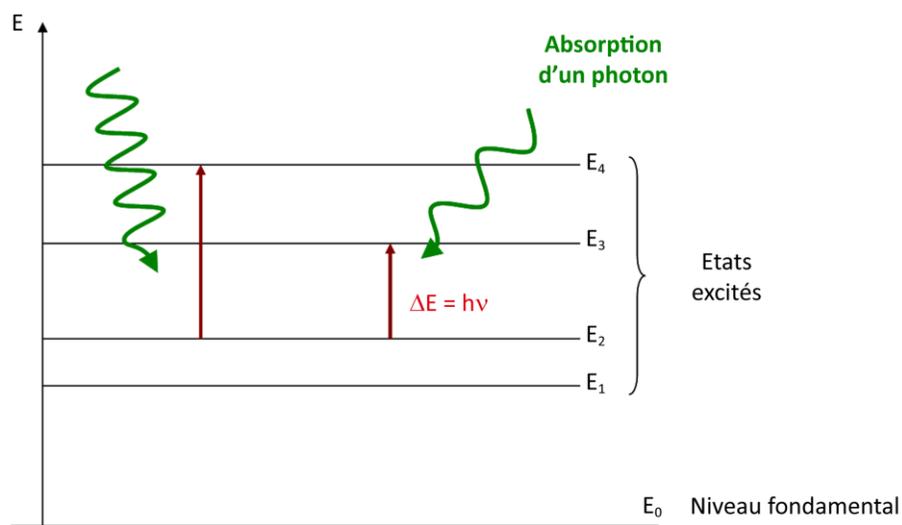


Figure 2.8 Diagramme de la transition électronique (UVED, 2008)

2.6 Spectroscopie de Photoluminescence (PL)

La spectroscopie de photoluminescence est une technique non destructive, elle est largement utilisée pour l'analyse des propriétés optoélectriques des semi-conducteurs et surtout ne nécessite pas une grande manipulation de l'échantillon. Cette technique est définie comme une émission spontanée de la lumière par l'échantillon étudié sous l'effet d'une excitation optique, fournissant ainsi des informations détaillées sur son état électronique (Freie Universitat Berlin). La figure 2.9 illustre l'instrumentation de la photoluminescence.

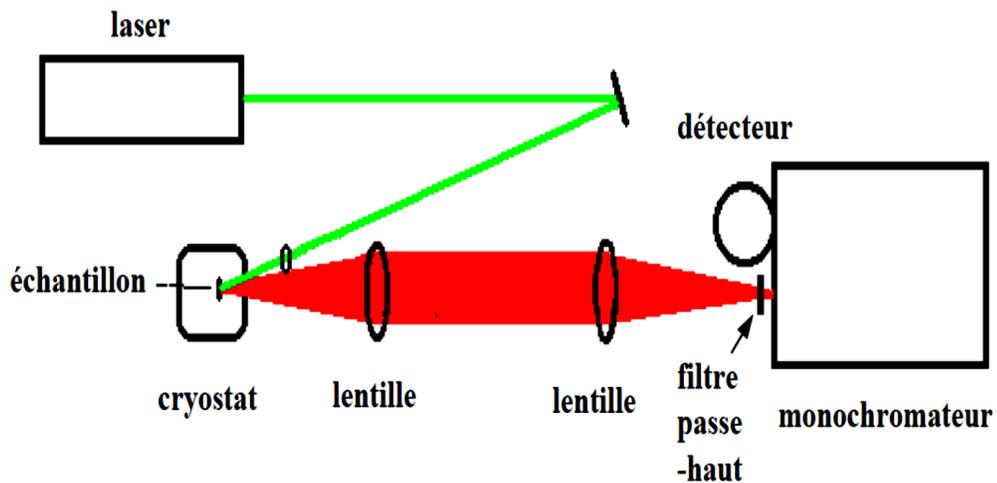


Figure 2.9 Illustration de l'instrumentation de la spectroscopie de la photoluminescence (Perret, 2001)

Principe de fonctionnement

Le principe de la photoluminescence repose sur l'interaction électron-photon dans l'échantillon à étudier (Lefevre, 2008). En effet, l'échantillon est excité par une lumière monochromatique et produit ainsi des paires d'électrons-trous (électrons dans la bande de conduction et des trous dans la bande de valence). Finalement pour retrouver l'équilibre thermodynamique, une relaxation va se produire par la recombinaison des électrons-trous, ceux de la bande de valence ainsi que ceux de la bande de conduction (figure 2.10) (Lefevre, 2008).

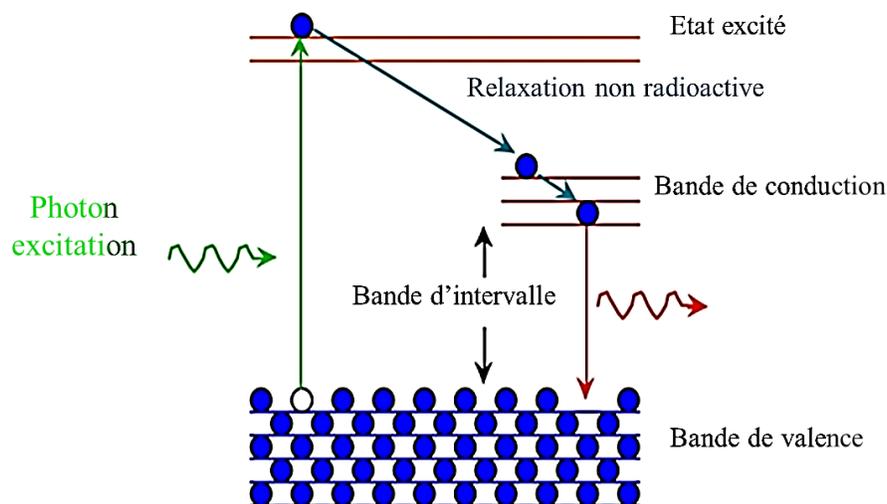


Figure 2.10 Diagramme du principe de fonctionnement de la photoluminescence (Gullapalli et Barron, 2010)

2.7 Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie FTIR est une technique performante et utilisée dans plusieurs domaines. Elle permet la détermination de l'interaction entre un rayonnement infrarouge et un échantillon solide, liquide ou gazeux. Cette technique nous renseigne sur les différentes fréquences de mesure ou l'échantillon peut absorber ainsi que les intensités relatives à cette absorbance (Simonescu, 2012). Contrairement aux autres instruments dispersifs, la FTIR présente une rapidité dans l'analyse de l'échantillon ainsi qu'une sensibilité élevée (Manohar, 2008). La figure 2.11 illustre un schéma représentatif de la spectroscopie FTIR.

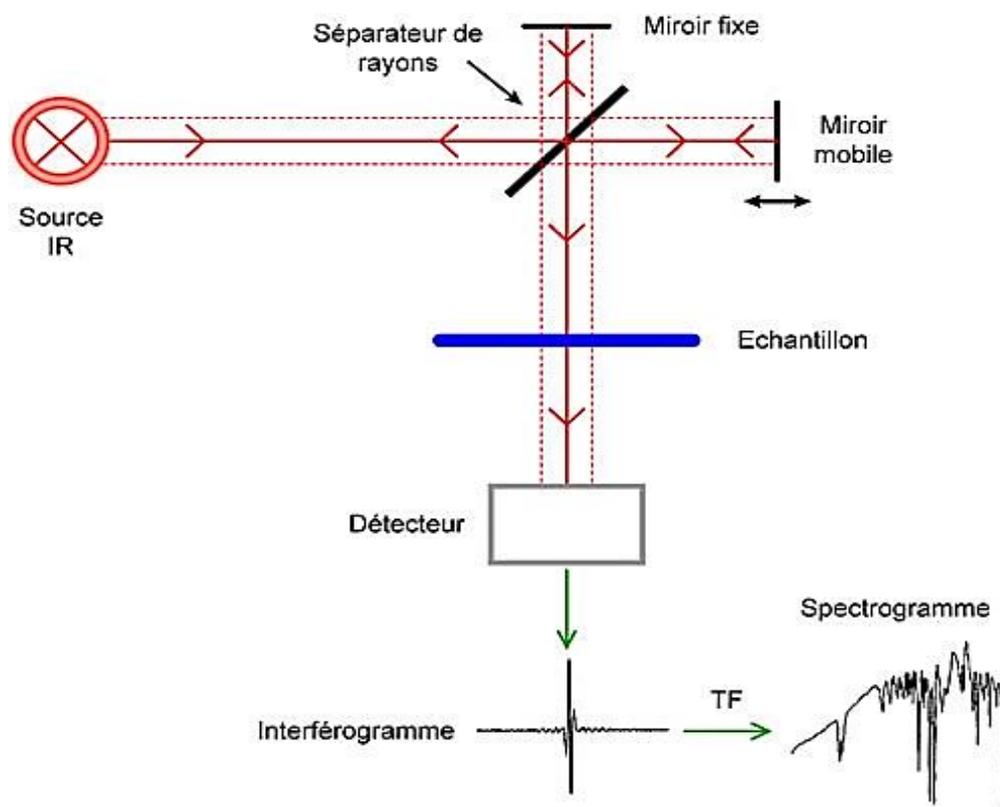


Figure 2.11 Schéma illustratif de l'instrumentation de la spectroscopie FTIR (Borella, 2006)

Principe de fonctionnement

La spectroscopie FTIR nous fournit les informations spécifiques de chaque échantillon à analyser, et cela dépendamment de ces vibrations et la rotation de ces liaisons ainsi que de sa structure moléculaire, donc elle permet la détermination de la nature des liaisons chimiques présentes dans une molécule (Brugel, 1962) (figure 2.12). En effet, l'énergie des photons provoque une vibration au niveau des atomes due aux liaisons présentes dans la molécule. Ces transitions vibratoires représentent des énergies distinctes, ainsi les molécules absorbent le rayonnement infrarouge à des longueurs d'onde et fréquences spécifiques. Finalement, un spectre se produit relatif à la mesure de la fréquence du rayonnement afin d'identifier la composition et les groupements fonctionnels de la molécule étudiée (Panchal, 2011). Ainsi, la spectroscopie FTIR est une technique très performante pour la détermination des groupements moléculaires et surtout nous donne l'information sur la conformation de la molécule et ces différentes interactions (Conley, 1972).

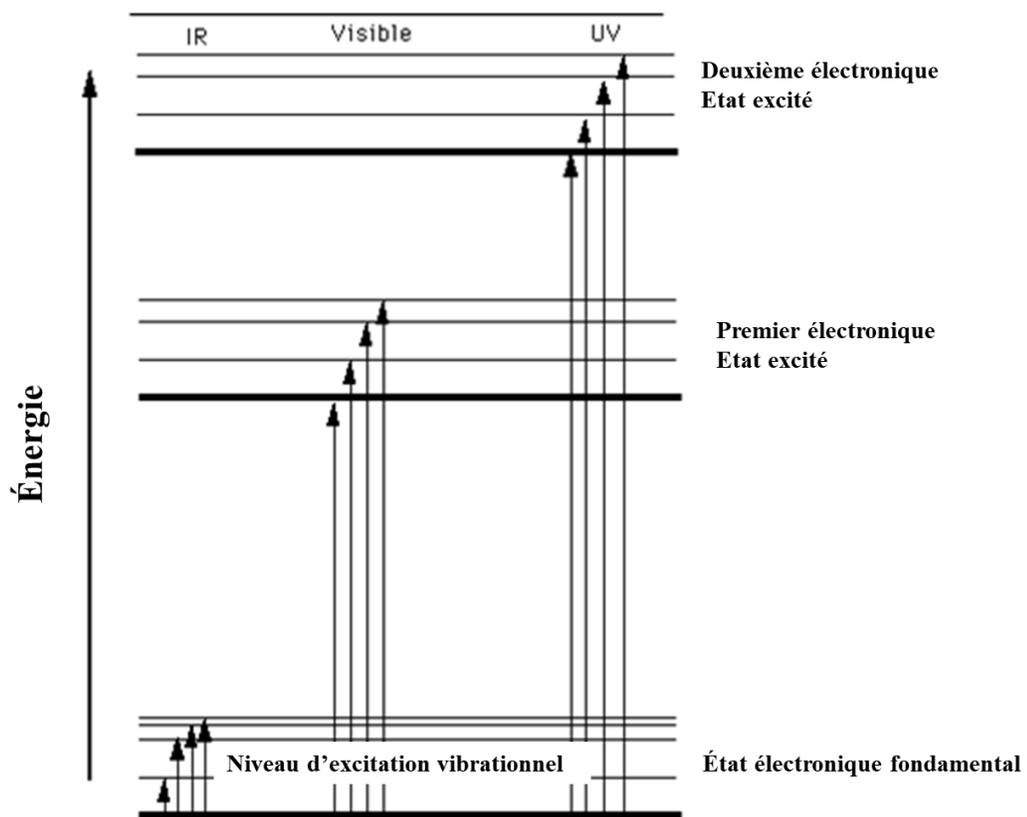


Figure 2.12 Diagramme des niveaux d'énergie d'une molécule en spectroscopie FTIR (Pecsok et Shields, 1968)

CHAPITRE III

FABRICATION ET CARACTÉRISATION D'UNE MOUSSE À BASE DE DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS D'OXYDE DE GRAPHÈNE

3.1 Étapes de fabrication d'une mousse d'oxyde de graphène

3.1.1 Préparation des différentes concentrations d'oxyde de graphène

La synthèse de l'oxyde de graphène a été réalisée par la méthode de Hummers modifié (Marcano *et al.*, 2010) en suivant plusieurs étapes qui sont résumées dans la figure 3.1. Ces étapes sont décrites dans le manuscrit du chapitre IV. Après avoir synthétisé le OG, une utilisation de cette solution en premier lieu pour la fabrication d'une membrane 3D. Puis une autre initiative a été réalisée pour voir l'influence de la concentration de l'OG sur la structure ou la morphologie de la membrane. En effet, trois différentes concentrations ont été préparées pour une éventuelle fabrication de membranes 3D.

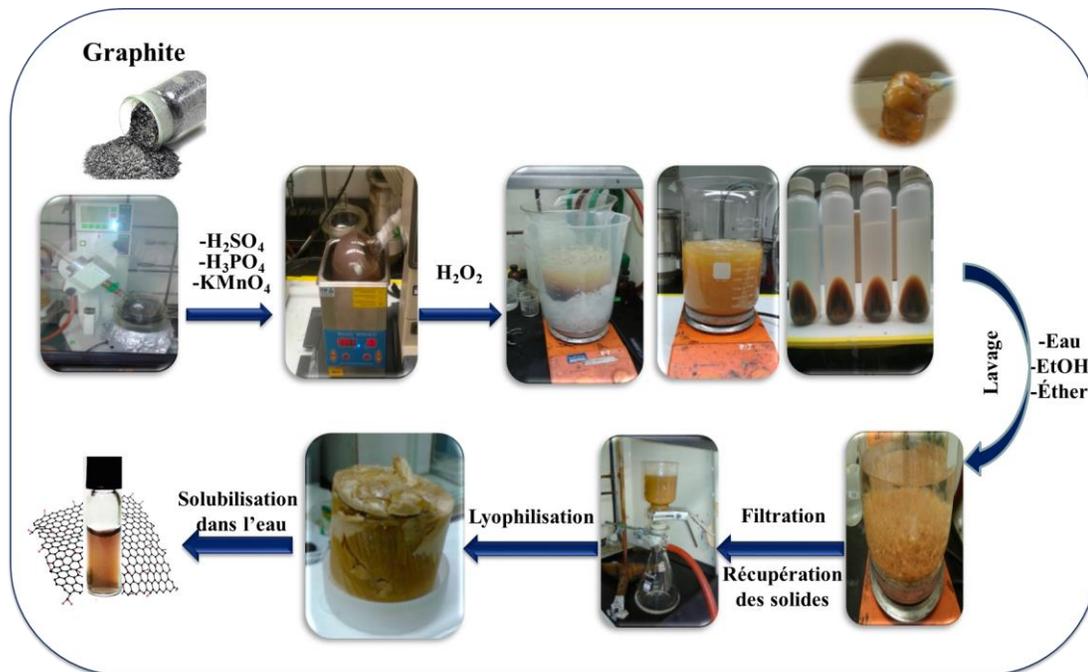


Figure 3.1 Différentes étapes de la synthèse de l'oxyde de graphène par la méthode de Hummers modifié

3.1.2 Étapes de fabrication de membranes 3D à base d'oxyde de graphène

La synthèse de l'oxyde de graphène nous a permis la fabrication d'une membrane 3D ou mousse par incorporation du polyéthylèneimine (PEI) (Sui *et al.*, 2013) (figure 3.2), les étapes de fabrication de la mousse sont décrites dans le manuscrit du chapitre IV. L'utilisation du polymère permet à la mousse d'avoir une structure poreuse, stable et recyclable (N'Diaye, 2016). Cette mousse de OG va être utilisée pour une application dans la décontamination spécifique des eaux par addition d'aptamère. Tout au début de mon expérimentation, des mousses d'oxyde de graphène avec une grande forme et à grande échelle ont été fabriquées. Lors de l'incubation de la mousse de OG avec des aptamères et analytes, une différence remarquable de l'absorbance a été observée. Cette différence est expliquée par l'utilisation dans un premier temps les côtés de la mousse et en deuxième temps le milieu de la mousse ce qui nous a permis de déterminer que le

milieu de la mousse présente des pores à grand diamètre en comparaison avec les côtés. Finalement, une autre stratégie a été adoptée pour la fabrication des mousses de OG à petit format pour pouvoir utiliser toute la surface de la mousse et tout homogénéiser (partie décrite dans le manuscrit du chapitre IV). Plusieurs caractérisations sont utilisées pour l'étude de la structure de la membrane 3D de l'oxyde de graphène telles que la microscopie électronique à balayage, la spectroscopie FTIR ainsi que la spectroscopie Raman.

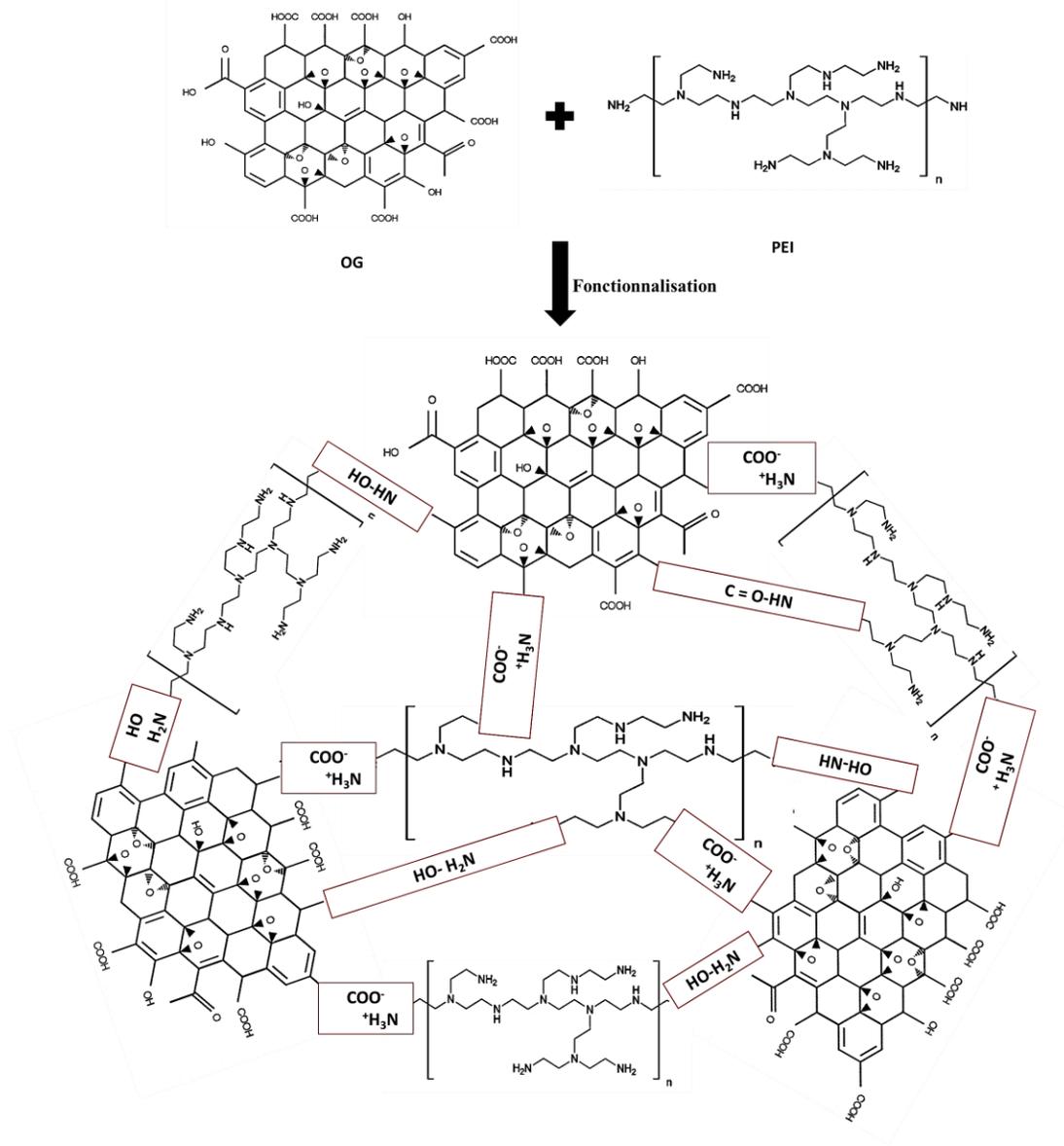


Figure 3.2 Schéma représentatif de la fonctionnalisation OG-PEI

3.1.3 Caractérisation des mousses à base d'oxyde de graphène

3.1.3.1 Microscopie électronique à balayage (MEB)

La technique de la microscopie électronique à balayage révèle la structure microscopique de la mousse d'oxyde de graphène. La figure 3.3 montre la différence de diamètre de pores au niveau des côtés de la mousse (figure 3.3.a) et du milieu de la mousse (figure 3.3.b). Cette différence de porosité affiche un taux d'absorbance plus élevé au niveau du milieu de la mousse. Aussi ces images MEB nous renseignent sur la non-homogénéisation de la mousse.

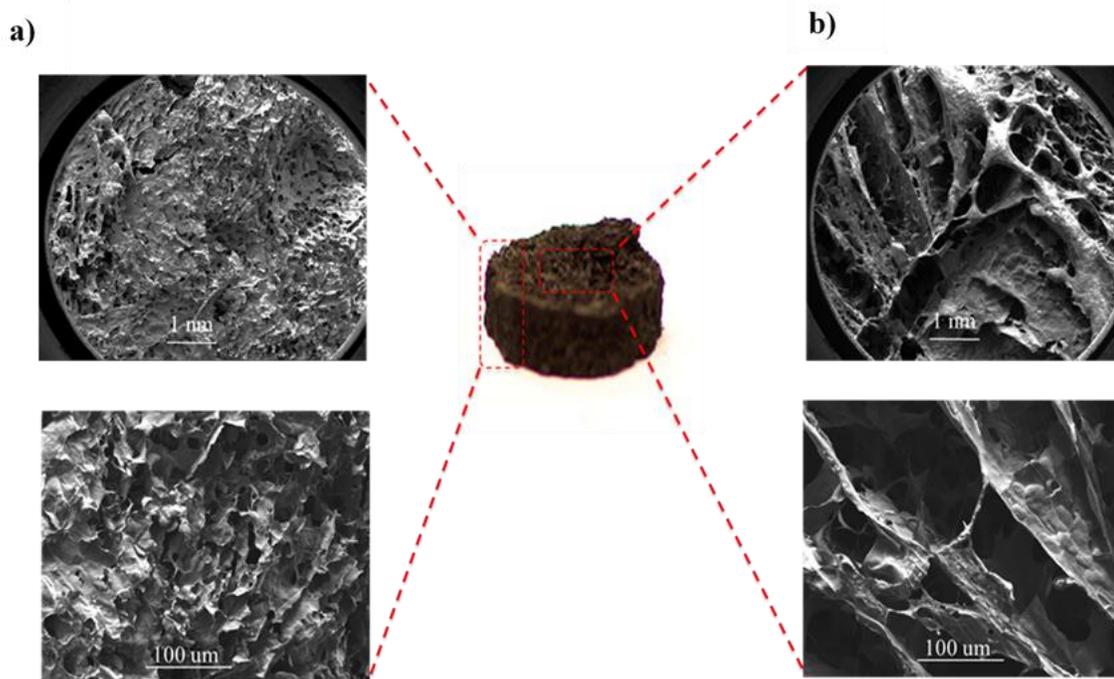


Figure 3.3 Image MEB de la mousse d'oxyde de graphène (OG couplé au PEI)

3.1.3.2 Spectroscopie FTIR

La spectroscopie FTIR nous renseigne sur la présence des groupements fonctionnels. La figure 3.4 représente le spectre FTIR de la mousse OG-PEI, on confirme la formation des liaisons amides entre les groupements carboxyliques de l'OG et les groupements amines du PEI. En effet, on observe la présence de pics relatif à la liaison (C=O)-(CN) et cela dans l'intervalle entre 1750 et 1124 cm^{-1} . La comparaison des spectres FTIR de l'OG seul, le PEI seul et le produit final OG-PEI est décrite dans le manuscrit du chapitre IV.

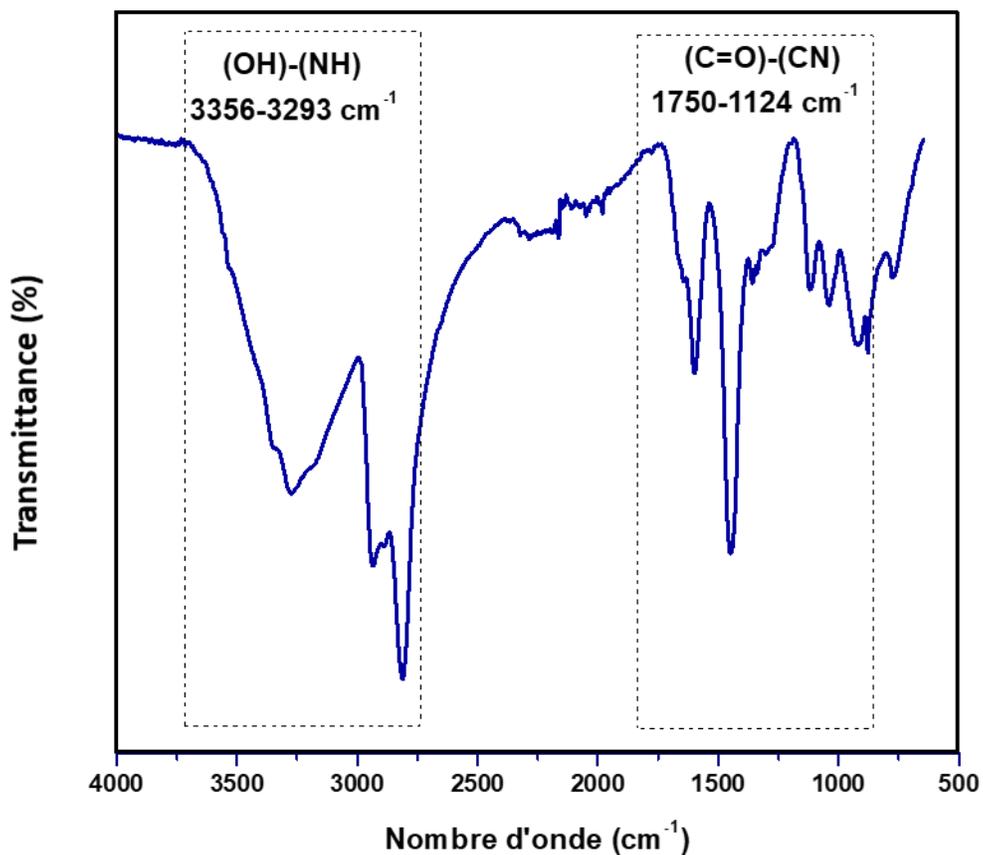


Figure 3.4 Spectre infrarouge de la mousse d'oxyde de graphène (OG couplé au PEI)

3.1.3.3 Spectroscopie Raman

La figure 3.5 montre le spectre Raman de la mousse d'oxyde de graphène, la comparaison des spectres Raman de la mousse OG seule et ainsi que la mousse OG-PEI a été décrite dans le manuscrit du chapitre IV. On peut constater que le spectre Raman de la mousse comprend les deux bandes D et G respectivement avec des pics à 1350 cm^{-1} et 1600 cm^{-1} . La bande D est attribuée à la présence de défauts structuraux et la bande G est la résultante des vibrations des liaisons carbonées sp^2 . En effet, la présence de ces deux bandes après avoir rajouté le PEI, indique que la méthode utilisée pour la fabrication de la mousse n'est pas destructible (N'Diaye, 2016).

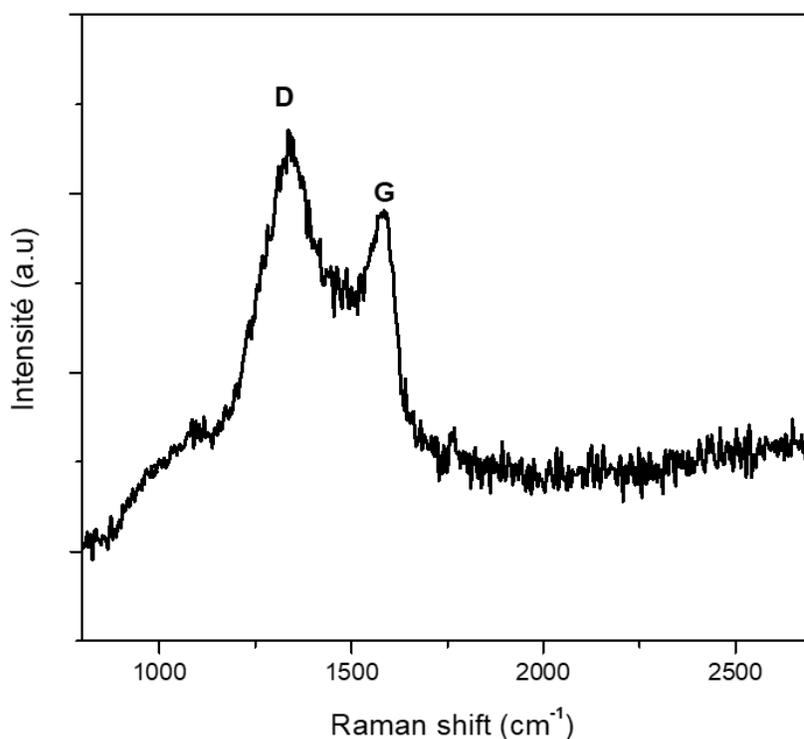


Figure 3.5 Spectre Raman de la mousse d'oxyde de graphène (oxyde de graphène couplé au PEI)

CHAPITRE IV

ARTICLE: GRAPHENE OXIDE FOAM IMMOBILIZED APTAMER FOR HIGH SELECTIVITY EFFICIENT HORMONE REMOVAL MEMBRANE

Siham Chergui^a, Sujitra Poorahong^a and Mohamed Siaj^{a,*}

^a Department of Chemistry and Biochemistry, Université du Québec à Montréal, Montréal QC, H3C 3P8, Canada

*Corresponding author at: Email: siaj.mohamed@uqam.ca

Contribution des auteurs

SIHAM CHERGUI

L'auteure principale a effectué toutes les manipulations expérimentales incluant la synthèse du produit ainsi que les caractérisations, la recherche bibliographique et le traitement des résultats. Aussi, elle a écrit la première version du manuscrit et a contribué à la version finale du manuscrit.

SUJITRA POORAHANG

La co-auteure a effectué les analyses de spectroscopie Raman et la caractérisation MEB. A participé à la révision du manuscrit.

MOHAMED SIAJ

L'auteur de correspondance a effectué la supervision des travaux et il a participé à l'interprétation des résultats, à l'écriture ainsi qu'à la révision de la version finale du manuscrit.

ACS Applied Materials & Interfaces, en préparation pour soumission (2018)

4.1 Résumé

La mousse à base d'oxyde de graphène réduit (OGR)/polyéthylèneimine (PEI) est synthétisée dans le but d'utiliser en premier lieu les excellentes propriétés du graphène et aussi celle de la mousse avec sa structure poreuse en 3D pour l'immobilisation des aptamères. Cette mousse de l'OG liée avec des aptamères a été appliquée en tant que membrane pour une décontamination des eaux des hormones. Cependant, pour obtenir de meilleures performances de décontamination, la concentration de la solution de l'OG a été variée. Cette membrane obtenue est stable et ne se dissout pas dans l'eau et elle est facile à retirer. Les techniques d'analyse de surface tels que la microscopie RAMAN, la microscopie électronique à balayage (MEB) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) ont été utilisées pour la caractérisation du produit final. L'approche de la méthode utilisée a été établie par une interaction entre l'OG-aptamère de dexaméthasone et l'analyse de dexaméthasone. L'adsorption relative à ce complexe est réalisée par des interactions intermoléculaires et des liaisons hydrogène. Un test de sélectivité a été réalisé en utilisant la dexaméthasone ainsi que des hormones stéroïdiennes analogues ayant la même structure que celle-ci (Progestérone, Estrone, Estradiol et 19-Norethindrone). Les résultats obtenus ont été démontrés par l'UV-visible et la photoluminescence. Cette étude a confirmé l'effet de la variation de la concentration de l'OG sur son interaction avec l'aptamère et son importance cruciale dans l'augmentation du taux d'absorbance. Aussi, l'aptamère a démontré une spécificité jumelée à une sélectivité vis-à-vis de l'analyte.

4.2 Abstract

Reduced graphene oxide (RGO)/polyethyleneimine (PEI) foam is synthesized for immobilization of aptamer. This GO foam incorporated with aptamer was applied as a membrane for hormone removal of water samples. For best removal performance, an effect of GO at different concentrations was studied. The obtained membranes are stable and did not dissolve in water and could be removed easily from liquid media. Surface analysis tools such as Raman spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) were used to characterize the final product. For highly efficient capture, we designed a new method based on an interaction between GO foam-aptamer of dexamethasone and dexamethasone analyte. The adsorption for this complex is carried out by intermolecular interactions and hydrogen bonds. A selectivity test was performed using dexamethasone and different steroid hormones analogs *i.e.*, Progesterone, Oestrone, Estradiol and 19-Norethindrone. The result has been demonstrated by UV-visible and photoluminescence. This study showed clearly the GO concentration effect on the physical interaction with aptamers, which is important to amplify the recovery rate absorption, the specificity and the selectivity.

Keywords: Graphene oxide, polymer, membrane, aptamer, analyte, adsorption, affinity and selectivity

4.3 Introduction

Graphene is one of the most studied carbon nano-materials discovered in 2004 by Novoselov and Geim (Geim et Novoselov, 2007). It possesses multiple properties such as a 2-dimensional honeycomb lattice, it exhibits a high surface area, outstanding mechanical properties with a high Young's modulus, a high thermal conductivity and an electron mobility higher than most of the semi-conductor material (Balandin *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2008). Graphene and graphene oxide can be synthesis by different methods. For synthesizing graphene, six major methods were developed and divided into two categories, ‘*top down and bottom-up*’. The categories ‘*top down*’ can be grouped into, i.e., chemical synthesis, mechanic and chemical exfoliation. For the ‘*bottom up*’ we can cite; epitaxial growth, chemical vapor deposition (CVD) and pyrolysis method (Gong, 2011; Zhu *et al.*, 2010). However, graphene oxide can be synthesized by Brodie synthesis (Brodie, 1859), Staudenmaier-Hoffman-Hamdi synthesis (Staudenmaier, 1898), Hummers and modified Hummers synthesis (Hummers Jr et Offeman, 1958; Marcano *et al.*, 2010), enzymatic method (Kotchey *et al.*, 2011), oxygen plasma treatment method (Nourbakhsh *et al.*, 2010) and the last sophisticated method named hydrothermal method developed by Tang and collaborators (Tang *et al.*, 2012).

One of the methods to produce a high quantity of graphene is the chemical exfoliation of graphite. Starting from graphite, which was oxidized to be graphite oxide and then graphene oxide. (Dreyer *et al.*, 2010; Ruoff, 2008). The structure of GO resembling a graphene decorated with oxygen groups such as carboxylic acid groups at its edges and defects, as well as epoxy and hydroxyl groups on the basal plane (Park et Ruoff, 2009). This functional group makes GO has a hydrophobic basal plane and hydrophilic edges, which is different from graphene. Thus, GO will have better solubility in different solvents (Bissessur et Scully, 2007; Compton et Nguyen, 2010; Park et Ruoff, 2009).

Furthermore, the presence of oxygen functional groups in the GO structure gives it a potential advantage to be used in several disciplines and applications.

The other advantage of GO is photoluminescent properties. Graphene oxide is photoluminescent which allows the researchers focused on its fluorescence quenching effect with biomolecules. This effect of quenching will be the most important indicator for interaction with fluorophore aptamer to get amplification for contaminate adsorption these made them successfully applied in biomedical research as a carrier for drug delivery systems/genes and in biological imaging (Liu *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2008; Wang, Y. *et al.*, 2011).

GO can be applied as an adsorption material due to non-covalent interaction via Van der Waals force, hydrogen bonding, π - π stacking or cation- π (Dreyer *et al.*, 2010; Lu *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2008). However, these can face poor selectivity problems since many molecules can bind with these interactions. Thus, in order to increase the selectivity, the GO is further immobilize and interact with positively or negatively charged hydrophobic surfaces, such as proteins, DNA, Aptamers and nucleic acids (Bianco, 2013; Skoda *et al.*, 2014). The aptamer makes it an ideal material for adsorption of target molecules. Importantly, an aptamer can be strongly interfaced onto the graphene oxide surface. Patterning aptamer on graphene oxide increases adsorption.

In addition, for the practical usage, many applications have been developed based on graphene material, such as the preparation of nanocomposites with polymers fillers e.g., polyvinyl alcohol (PVA), poly(methyl methacrylate) (PMMA) or polyethylene amine (PEI) (Liang *et al.*, 2009; Ramanathan *et al.*, 2008; Sui *et al.*, 2013). Functional groups of GO are excellent to interact, and forms covalently bound with small molecules or polymers to prepare nanocomposites. This interaction is due via coupling reactions of amidation or esterification (Fang *et al.*, 2009; Niyogi *et al.*, 2006). These

composite materials were synthesized in order to enhance mechanical, electrical or structural properties of the polymers.

Therefore in the present work, we synthesized porous 3D membranes based GO/polymer in order to use its mechanical strength, large surface area, biocompatibility and chemical stability of graphene and the excellent 3D structural characteristics of the foam (Liang *et al.*, 2009; Ramanathan *et al.*, 2008). The GO foam prepared exhibited an excellent stability in solutions. The use of the polymer allows the foam to have a porous and recyclable structure (N'Diaye, 2016). This GO foam will be used for a specific application in the decontamination of waters by the addition of aptamer. We show that the used GO concentrations have an effect in the pore size distribution foam-formed leading to different ssDNA labeled (aptamer) adsorption and dexamethasone contaminant. The dexamethasone was used as a model analyte for the removal from aqueous solutions. The interaction between GO foam and fluorophore-labeled aptamer was demonstrated by fluorescence quenching. The adsorption is due through intermolecular interactions, including hydrogen bonds. The effect of GO concentration on the removal efficiency contaminant such as dexamethasone was systematically explored. The specificity was performed by using a specific aptamer labeled for dexamethasone and the selectivity test by using different analogs steroid hormones (Progesterone, Oestrone, Estradiol, and 19-Norethindrone) for dexamethasone. The development of new method to decontaminate waste water has significantly grown. The most efficacy and specificity of the interaction between graphene oxide (GO) and aptamer were improved.

4.4 Experimental section

4.4.1 Chemicals

DNA sample was synthesized in vitro in our laboratory by SELEX method. The ssDNA (aptamer) was composed of 59 nucleotides and was labeled with fluorescein isothiocyanate (FITC) fluorophore: Fluor: 5'-/5FluorT/AC ACG ACG AGG GAC GAG GAG TAC TTG CCA ACG ATA ACG TCG TTG GAT CTG TCT GTG CCC-3'. Dexamethasone, Progesterone, Estrone, Estradiol and 19-Norethindrone were purchased from Sigma-Aldrich (Canada).

4.4.2 Synthesis of Graphene Oxide

Graphene oxide was obtained according to the modified Hummers method (Marcano *et al.*, 2010). Briefly 3 g of graphite flacks were mixed with 360 ml concentrated H₂SO₄ and 40 ml 85% H₃PO₄. Then 18 g KMNO₄ was added gradually over a period of 10 minutes. The mixture was kept under vigorous stirring at 55 °C for 4 h. Four periods of ultrasonication of 15 min were applied to the solution to further in situ exfoliation of graphite oxide. Then the mixture was kept under stirring at room temperature. The solution was neutralized with a mixture of ice and 10 ml of H₂O₂ (30%), the color changed to a bright yellow. Successive washes with (2x1 L) water, 100 ml solution of 37% HCl and (2x2 L) of EtOH have been carried to remove metallic impurities contained. Each wash was kept under stirring in order to have a homogeneous solution. After the last centrifugation, the material was recovered in the form of an orange-colored hydrogel. Finally, 1 L of Et₂O was added to the hydrogel to separate GO sheets under stirring. The resulting material was filtered and dried under vacuum at 30°C for 2 days to obtained graphene oxide powder. Finally, the GO powder was diluted in nanopore water under stirring to have 4g/L concentration and the solution was stored at room temperature.

4.4.3 Preparation of GO foam conjugate polymer

Graphene oxide solution was functionalized with branched PEI to form covalent linking (Chen, B. *et al.*, 2011; Zhang, L. *et al.*, 2011). An amount of 10 ml of the GO solution was mixed with 200 mg PEI and heated at 90°C overnight on an oil bath. After, the mixture was placed in a refrigerator at -80°C for 4 hours and freeze-drying for 4-5 days. The resulting product (foam) was kept in an oven at 100°C for 2 days. In order to study the effect of GO on adsorption ability (Sui *et al.*, 2013). Graphene oxide foam was prepared by using different concentrations of GO solution 0,500; 0,858; 1,358 and 3,716 g/L.

4.4.4 Instrumental characterization of all materials

The morphology and porosity of GO foam were investigated with SEM (JEOL-JSM7600F), Raman spectroscopy (invia) for exhibit presence of D and G bands and to confirm non-destructible method to fabricate GO foam, InfraRed (Nicolet 6700 FTIR) to determine binding GO-PEI and presence of oxygen groups, finally UV-Visible (LAMBDA 750 UV/Vis/NIR Spectrophotometer) and Photoluminescence at 280 nm (Spectrofluorimètre Perkin Elmer LS45) to measure rate of adsorption.

4.4.5 Investigating the specificity and selectively of this developed aptamer

The study of the high-binding specificity and selectively of the developed aptamer was done using different analog steroid hormones (Progesterone, Estrone, Estradiol and 19-Norethindrone). Four types of dexamethasone analogs were tested at a concentration of 10 nM, using the same concentration of dexamethasone. Finally, all the dexamethasone analogs were incubated with Aptamer and GO foam.

4.4.6 Adsorption Efficiency

To prepare GO foam/Aptamer complexes, different concentrations of as-prepared GO foam were incubated in 10 nM of dexamethasone aptamer in 1 mL of pH 7.4 binding buffer at room temperature with end-over-end rotation. After 2 hours, the mixture was centrifuged and collected the solution which contained non-binding aptamer. Then the same GO foam was mixed with dexamethasone analyte and incubated for one hour. Another GO foam was only mixed with dexamethasone analyte for comparison. The solution collected after incubation was analyzed with UV-visible and fluorescence measurement excitation at 280 nm in order to determine the absorption efficiency and recovery rate.

4.5 Results and discussion

4.5.1 The intensity of fluorescence dependent concentration of GO

The excellent optical property of GO makes it a good quencher of fluorescence in combination with molecules such as biomolecules labeled (Feng *et al.*, 2011; Wang, H. *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2010), quantum dots (Dong *et al.*, 2010) and organic dye molecules. The concentration of GO solution is one of the important factors of absorption. Therefore, we investigated the influence of the quenching effect at different concentrations of GO in conjugate with 10 nM ssDNA. As shown in figure 4.1.a, the color of solution changes gradually from dark (higher concentration) to clear (lower concentration). Figure 4.1.b, illustrates the intensity spectrum for the PL emission of different concentrations of GO. The excitation wavelength was at 280 nm and the maximum emission photoluminescence peak was at 565 nm. The position of the fluorescence peak was depending on the excitation wavelength. As you can see from figure 4.1.c, when the concentration of GO increased, the intensity decreased. Because of the fact that the functionalized groups and some oxidized sp³ sites had an important contribution to the fluorescence. When concentration of GO increased, there were more defects and disorder on the structure of GO (more sp³ sites). This is supported by Edna

and co-workers. The recombination of electron-hole (e-h) localized in small carbon clusters sp^2 integrated into a sp^3 matrix are principal origin of the PL (Eda *et al.*, 2010). In fact, in carbon systems these recombination's behave essentially as luminescence centers or chromophores (Heitz *et al.*, 1999). Thus, the PL emission can be achieved by control of the nature of sp^2 sites especially since the band gap depends on the size, shape and the fraction of these sites (Robertson, J., 1996). Moreover, the nature of the reduction process may lead to a variation in the intensity and can contribute to the evolution of very small clusters sp^2 (Eda *et al.*, 2010).

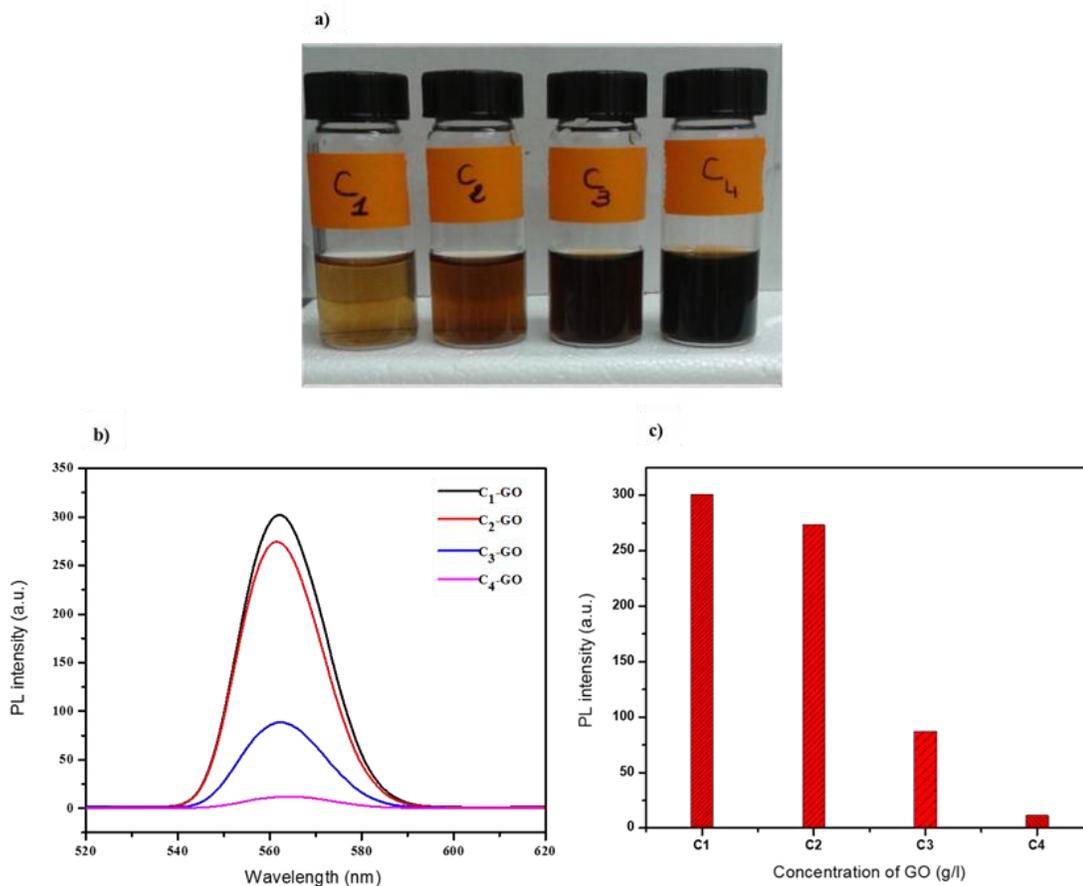


Figure 4.1 Intensity-dependent fluorescence from concentration of GO. a) GO solution with different concentrations, the color changes from dark (higher concentration) to clear (lower concentration). b) Fluorescence of different concentrations of GO in excitation at 280 nm and emission spectra at ≈ 565 nm. c) Effect of concentration GO on fluorescence intensity

4.5.2 Characterization of GO foam

The porous GO foam was prepared for linking with PEI. The amine groups of PEIs interacted with a carboxylic group of GO to form the 3D porous architecture with stability structure, and then covalent bond was formed (figure 4.2.c).

The FTIR spectroscopy was used to confirm coupling chemistry between COOH- a group of GO and the NH₂- a group of PEIs, which showed the characteristic peak of amide bond at 1108-1131 cm⁻¹, confirming the reported value (figure 4.2). The peak in the range of 1629-2249 cm⁻¹ was due to the C=O stretching of the amide in GO-PEI and the disappearance of the carboxylic group bands of GO substantiated the formation of amide linkages (figure 4.2.a). Moreover, the FTIR data (figure 4.3) showed a significant decrease in the intensity of the peak corresponding to the carboxyl and the hydroxyl functional groups indicating that a C-N bond formed between the polymer and the GO.

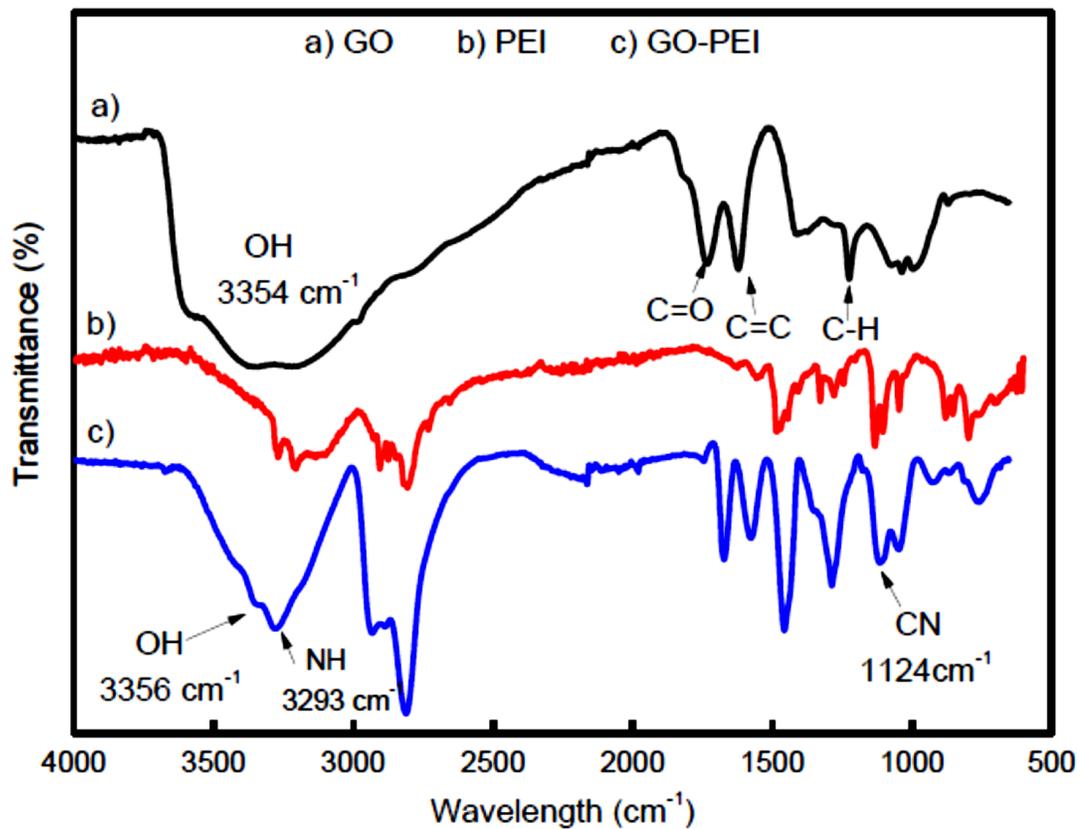


Figure 4.2 FTIR analysis spectra. a) spectra of GO. b) spectra of PEI. c) spectra of combined product GO-PEI (N'Diaye, 2016)

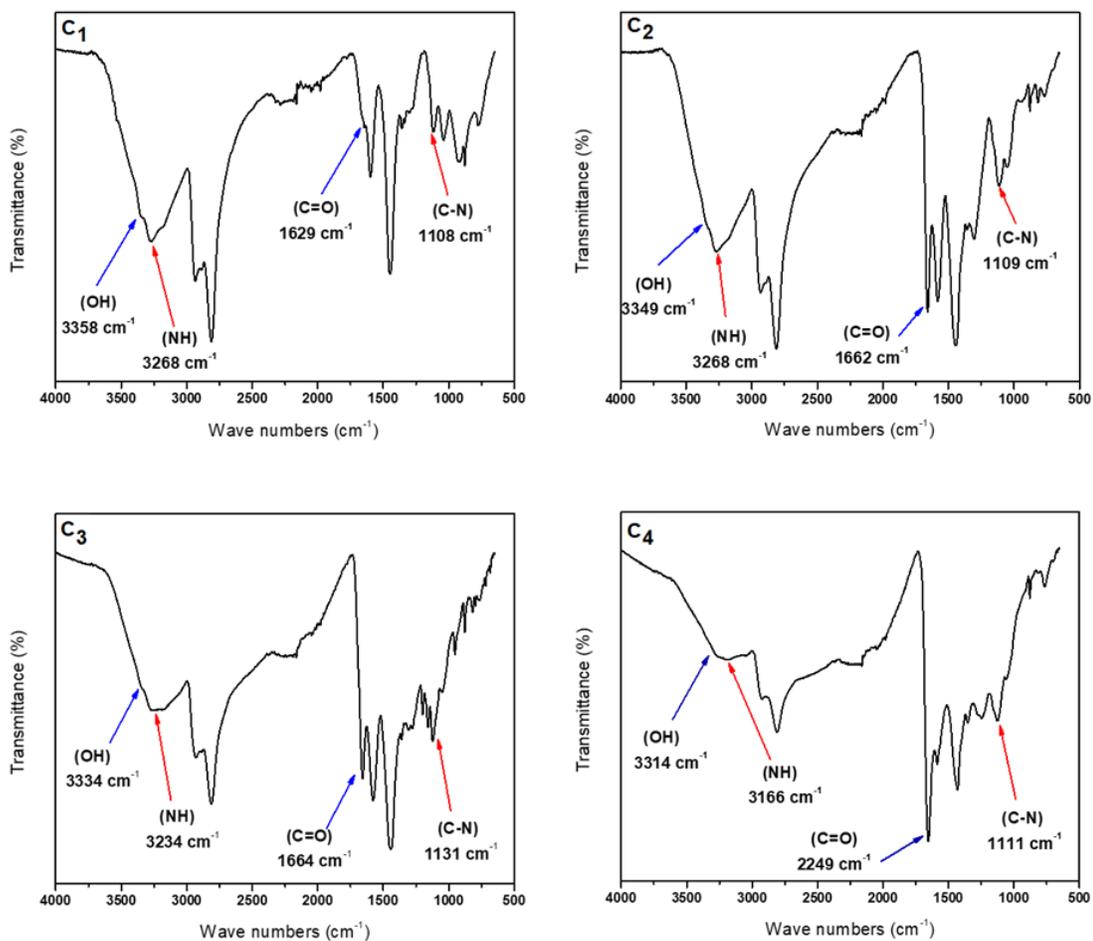


Figure 4.3 FTIR spectra of the four concentrations of GO 3D membrane with covalent bound (C-N) and different intensity for each stretching (C₁= 0,500 g/l, C₂= 0,858 g/l, C₃= 1,358 g/l, C₄= 3,716 g/l)

Figure 4.4.a shows Raman spectroscopy of GO foam structure with D and G peaks. The D peak was attributed to the presence of structural defects and is located at $\approx 1340 \text{ cm}^{-1}$, where the G peak result of vibrations of sp² carbon bonds and is located at $\approx 1550 \text{ cm}^{-1}$. However, the characterization by Raman spectroscopy, reveal surface defect. The intensity ratio of the D peak and G peak, $I(D)/I(G)$ (figure 4.4.b), provides information on the amount of defects in the structure. There about 5 times were collected for each sample (C₁, C₂, C₃, C₄) to make a plot of distribution of $I(D)/I(G)$.

As shown in Figure 4.4.b, the four samples all have defect contents, likely due to abundant carboxylic, hydroxylic and epoxy groups graphene oxide sheets. Surprisingly, C₄ has lower defect content than the other three samples. This may be ascribed to the fact that defects localize mainly along the edges in C₄, while they distribute both in the bulk and at the edges of the other three samples.

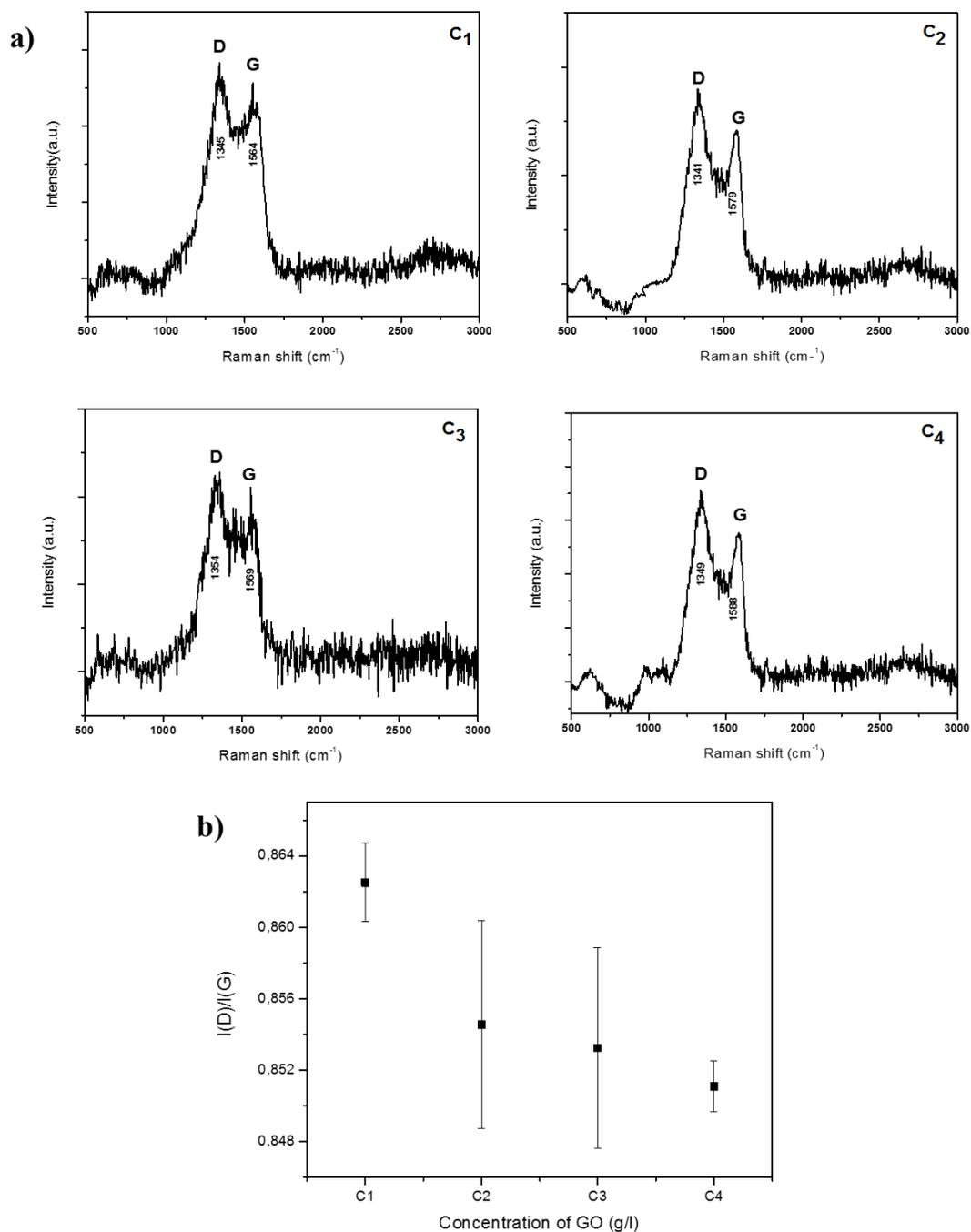


Figure 4.4 (a) Raman spectra of the four concentrations of GO and (b) the intensity ratio of G and D peaks from Raman spectra

Scanning electron microscopy (SEM) images (figure 4.5) show the surface morphology who reveals that the concentration of graphene oxide had a significant impact on (the porosity of the foam) 3D porous structure. The graphene oxide foam in the left picture exhibited very small pores at low concentration compared to the high concentration. All the foam presented stable structure but different diameters of porosity.

The concentration of GO was crucial to forming pores and influence on the diameter of it. To the fury and as one increases the concentration of GO diameter and formation of the porosity increase. At 0,5 g/L concentration of GO, the pores steel forming and not well defined (figure 4.5-a). As the GO concentration was increased (0,85-1,35 g/L), the shape pore sizes became well-formed, but the walls were randomly distributed (figure 4.5-b, c), while the concentration of GO at 3,71 g/L the pore size became bigger, and the walls were orderly distribution (figure 4.5-d).

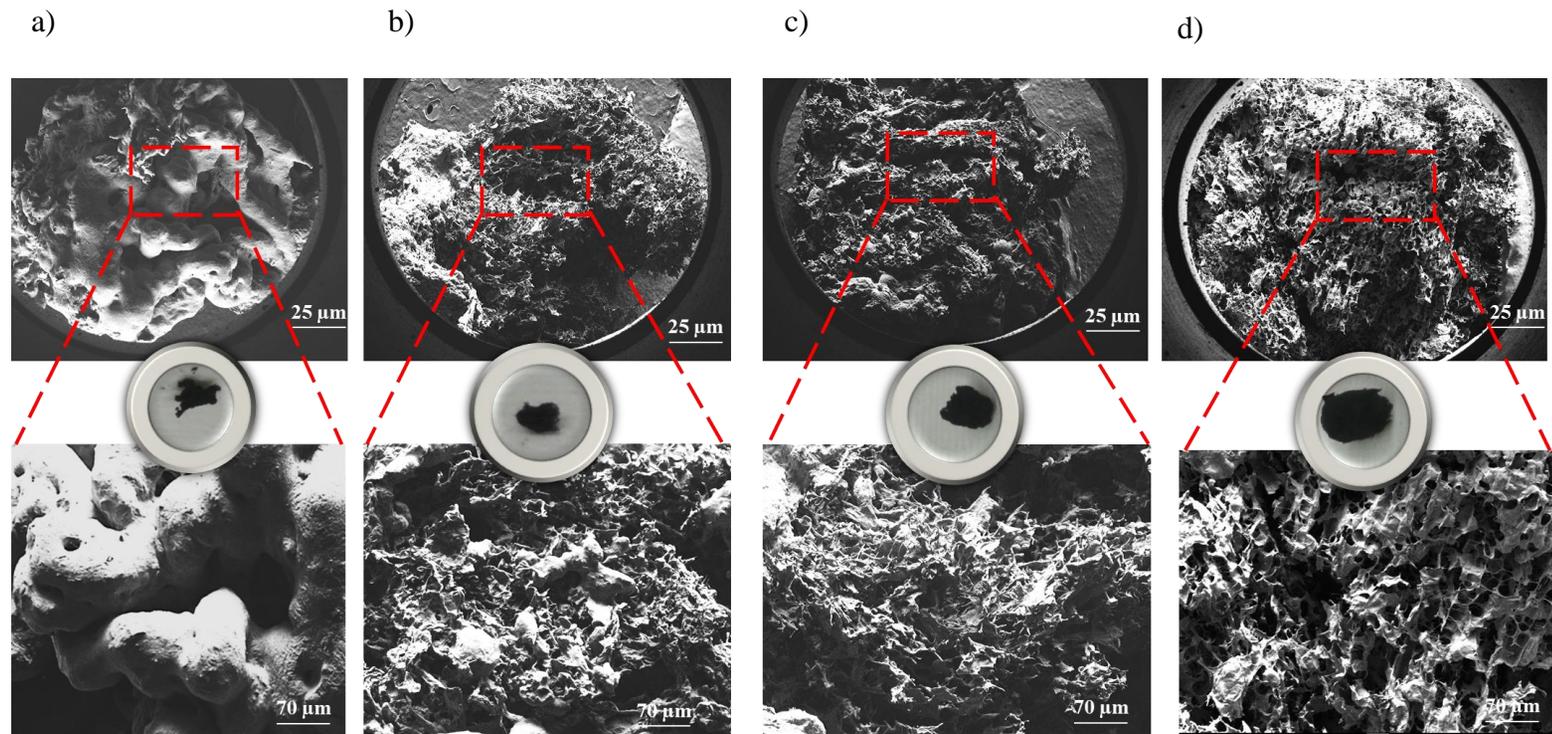


Figure 4.5 SEM images of 3D membrane GO in different concentrations

4.5.3 Mechanism and DNA adsorption on GO foam

4.5.3.1 Mechanism of binding

To prove the adsorption of the analyte on GO-foam and to examine its effect, DNA was added to the complex. The increasing of the adsorption and binding affinities of complex GO foam-DNA-Analyte were analyzed by photoluminescence.

Addition of GO can quench the absorbed DNA emission (He, S. *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2010). The fluorescence intensity of aptamer decreased when it was incubated with GO foam for 2h (figure 4.6). The duration of the incubation was important to have a state of equilibrium which will allow the aptamer to change its conformation (Li, M. *et al.*, 2013). The aptamer conjugate GO-foam was employed for analyte detection. We confirmed that the fluorescence intensity decreases when we added aptamer for analyte detection in comparison without aptamer (figure 4.6) and we can improve the amplification of adsorption with the aptamer.

4.5.3.2 Adsorption capacity

Aptamers are a new type of ssDNA recognition probe that can be used to ensure the specificity of decontamination (Bilibana *et al.*, 2017). To demonstrate the binding affinity of ssDNA to the surface of GO, the fluorescence quenching of ssDNA (aptamer) was analyzed by attached GO foam prepared with different concentration of GO solution with the aptamer. The fluorescence spectra of dexamethasone analyte, GO-dexamethasone analyte and GO-Aptamer-dexamethasone analyte (Figure 4.6) revealed the interaction state with GO. This interaction was due to intermolecular interactions and hydrogen bonds. The effect of quenching of fluorescence by GO was observed. When GO foam was incubated with dexamethasone analyte, the intensity of fluorescence was higher. The difference of the fluorescence by the addition of the aptamer was explained by amplification of adsorption. This result reflects the affinity between aptamer and dexamethasone analyte. Aptamers can bind with high affinity to

a specific analyte by intermolecular interactions such as hydrogen bonds and Van der Waals forces.

Figure 4.7, showed the percentage of absorption, when we increase the concentration of GO solution to fabricate foam, the absorption increase $\approx 30\%$ in additional of the aptamer. The diminution of fluorescence intensity was proportional to the percentage of absorption. This result indicated that the dexamethasone hormone has a specificity and selectivity of this aptamer.

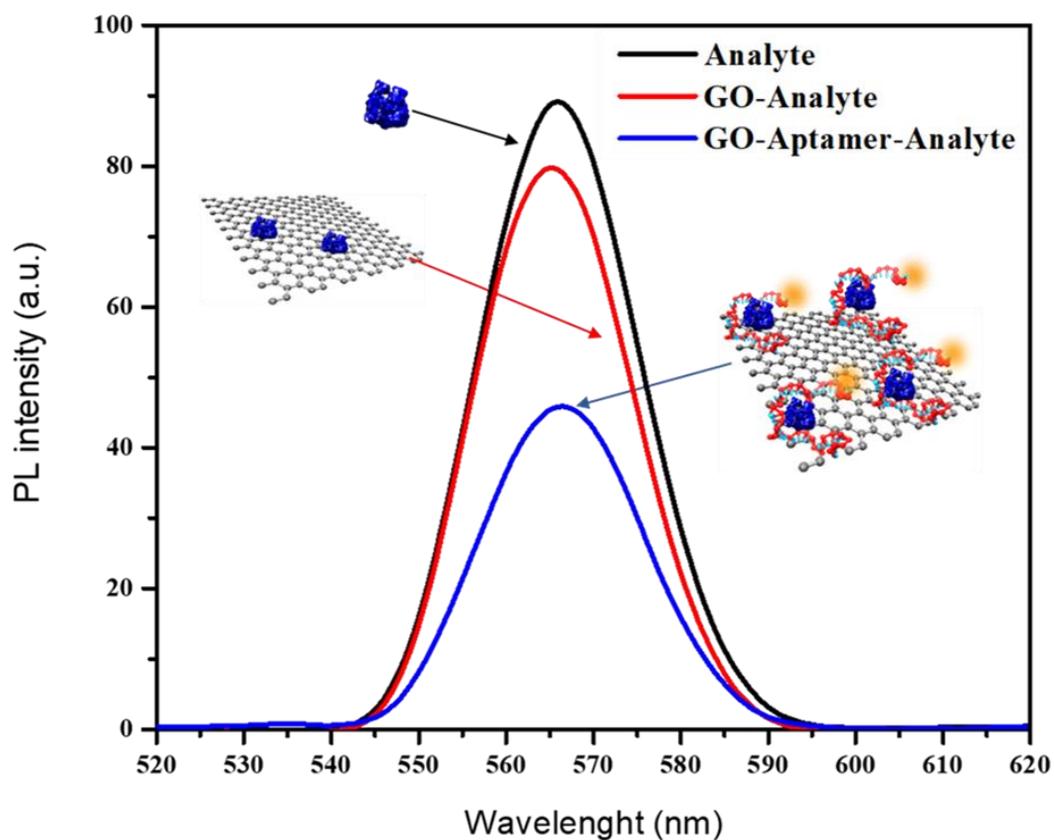


Figure 4.6 Comparison of intensity fluorescence quenching efficiency between complex GO-Analyte/ GO-Aptamer-Analyte and analyte in excitation $\lambda= 280\text{nm}$

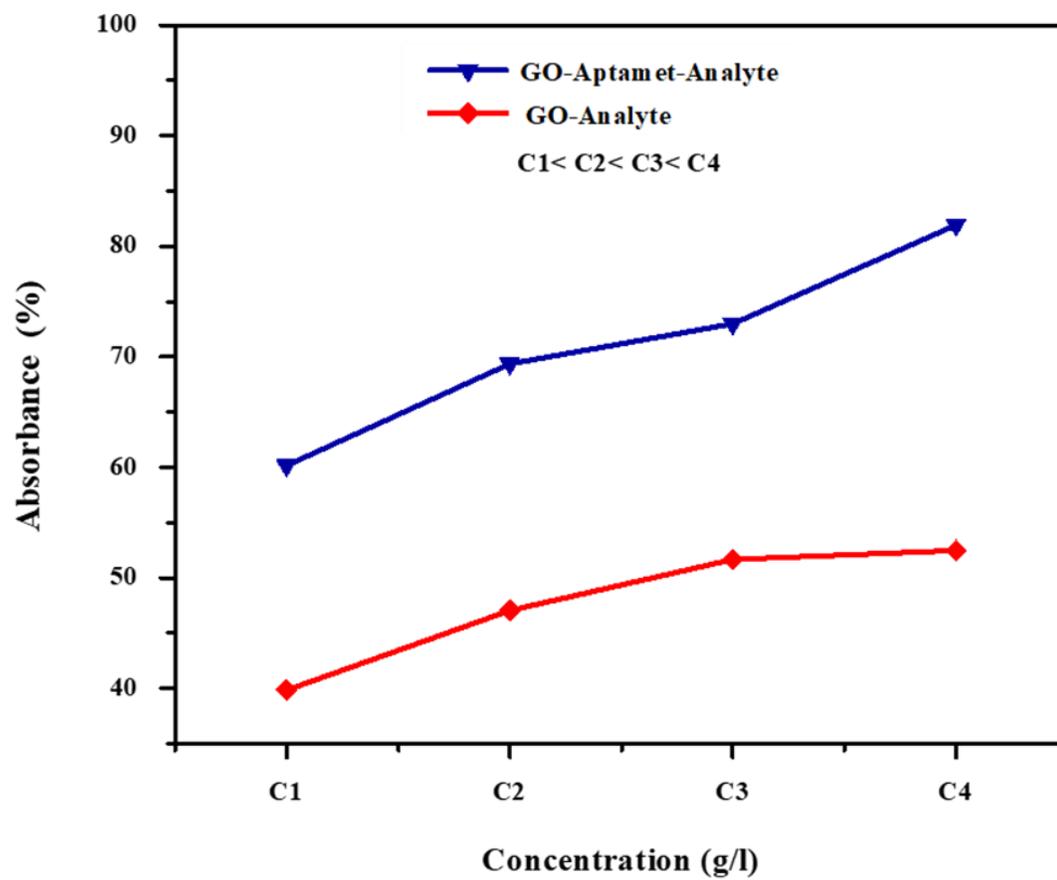


Figure 4.7 Percentage of absorption between GO-Aptamer-Analyte and GO-Analyte in different concentrations of GO

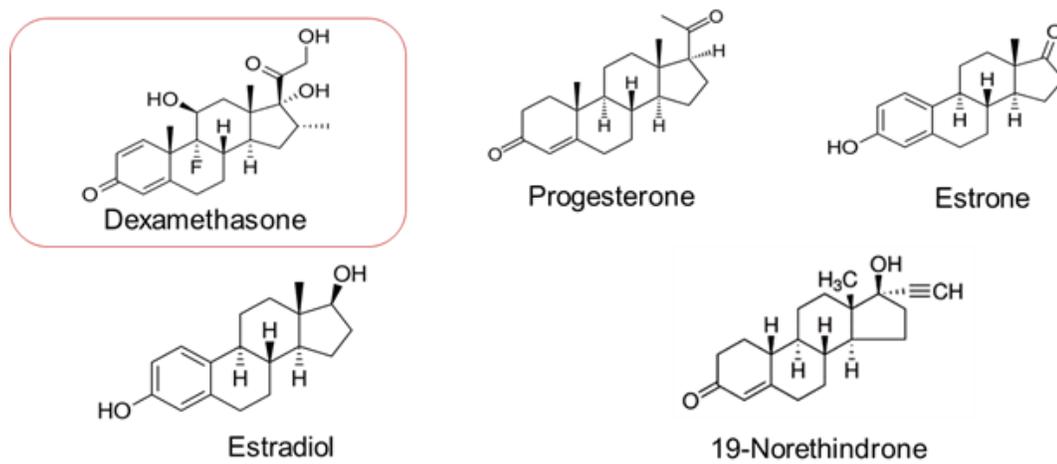


Figure 4.8 Different hormone analogs of Dexamethasone

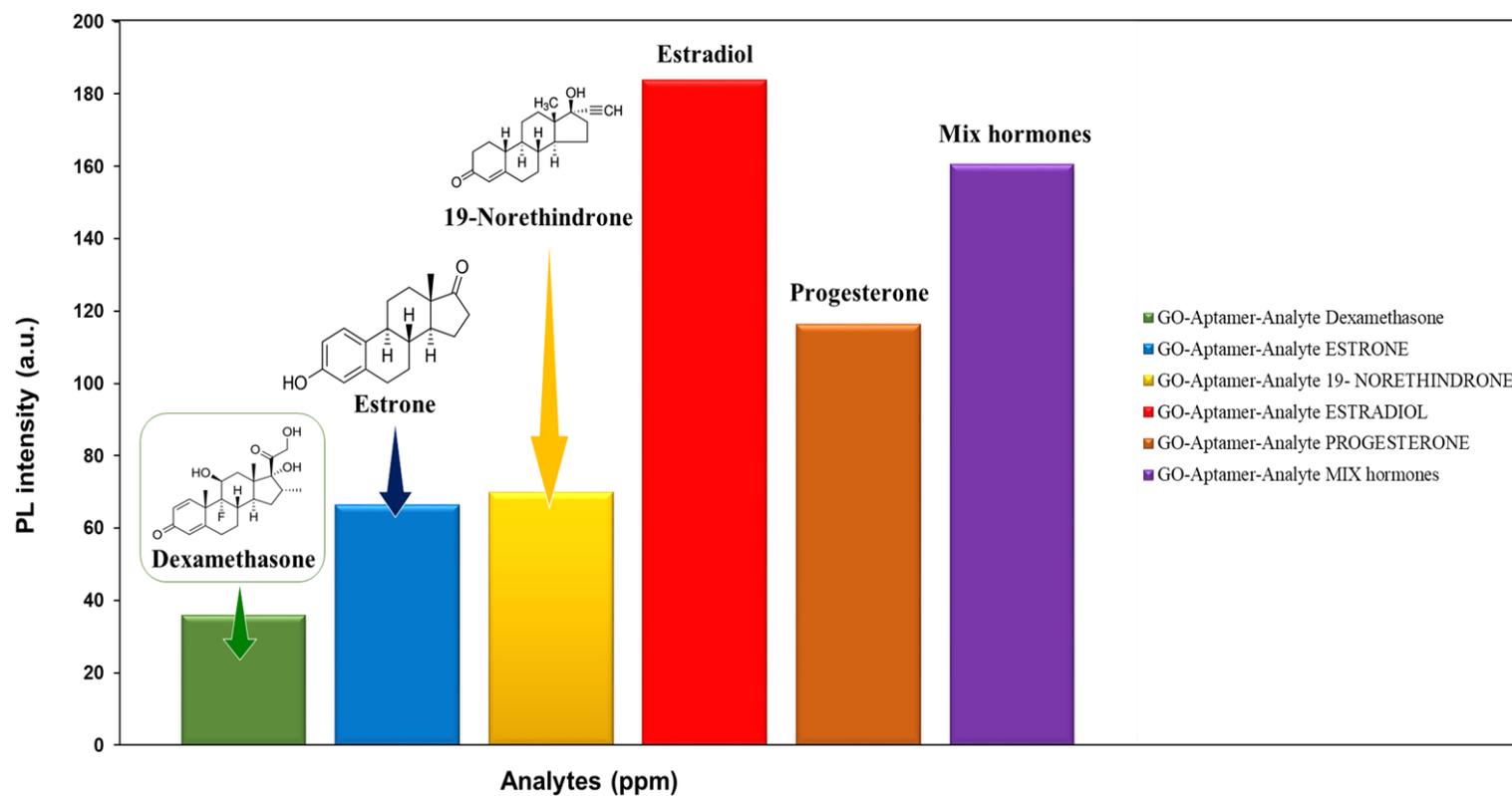


Figure 4.9 Specificity and selectivity for Dexamethasone: fluorescence peak analog hormones measured at the same concentration of 15 ppm

4.6 Conclusion

In this work, we developed a novel method based on the specificity and affinity of aptamers to decontaminate water by using 3D membrane graphene oxide. The property of GO as a good quencher of fluorescence was the key to confirm and indicate absorption and efficiency of the aptamer by decreasing fluorescence intensity. Furthermore, by adding aptamer the absorption increase by more than 30% and the binding between 3D membrane GO and aptamer is strongly affected by variation of GO concentration. The GO concentration affects forming pores and influences the diameter of it. The results show that the highest concentration of GO solution is better than the lowest concentration to have good pores and big diameter. Additionally, based on this approach the selectivity of this aptamer was tested and confirmed by using analog hormones of dexamethasone. Finally, this 3D membrane GObased aptamer is valuable for design and optimization for many applications in various disciplines.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les travaux de recherche menés au cours de ce mémoire de maîtrise ont permis à la contribution et à la compréhension des différents mécanismes interagissant entre l'oxyde de graphène et les aptamères. L'objectif de ce travail était la synthèse de l'oxyde de graphène par la méthode de Hummers modifié, ce matériau révolutionnaire très utilisé dans plusieurs domaines avec sa structure amphiphile capable d'interagir avec une large gamme de molécules telles que les biomolécules (aptamère, anticorps, protéines...).

L'introduction est consacrée à l'étude bibliographique sur les différentes structures de l'oxyde de graphène identifier par plusieurs chercheurs du début des années cinquante jusqu'à l'année 2004. En effet, l'oxyde de graphène est le précurseur du graphène à une seule différentes dans sa structure est celle de la présence de groupements fonctionnels oxygénés. L'introduction décrit aussi les différentes méthodes de synthèses du graphite oxydé, la synthèse de l'oxyde de graphène, ces propriétés ainsi que ces multiples applications. D'autant plus, dans cette partie nous introduisons la compréhension des oligonuléotides, ces molécules d'ADN simple brin nommé aptamères, leur méthode de développement appelée SELEX, structures, propriétés ainsi que leurs applications.

Le premier chapitre renferme toutes les techniques utilisées dans mon projet de recherche commençant par la caractérisation du produit initial qui est l'oxyde de graphène par de la spectroscopie XPS, la spectroscopie FTIR ainsi que par spectroscopie de Photoluminescence. En effet, d'autres caractérisations ont été réalisées, et cela pour les membranes 3D fabriquées sous forme de mousse à base d'oxyde de graphène par la spectroscopie Raman et la microscopie électronique à

balayage (MEB). Finalement une dernière technique a été utilisée pour la biofonctionnalisation des mousses d'oxyde de graphène avec les aptamères par la spectroscopie UV-visible.

Le deuxième chapitre a été consacré aux différentes étapes de la fabrication des mousses à base de différentes concentrations d'oxyde de graphène en introduisant un polymère (PEI), induisant ainsi la formation de liaisons covalentes sous forme de liaisons amide qui sont déterminées par spectroscopie FTIR. Le squelette de la structure des mousses OG a été caractérisé par la spectroscopie Raman. Par l'utilisation de la microscopie électronique à balayage (MEB), une influence de la concentration de l'OG a été déterminée sur la formation des pores. En effet, à chaque fois qu'on augmente la concentration de l'OG, on a formation de pores bien déterminés, aussi une observation a été remarquée lors de l'expérience est que pour avoir une formation de pores au niveau de la mousse fabriquée il faut avoir au moins un minimum au niveau de la concentration de l'OG utilisée.

Finalement, le troisième chapitre représente les travaux reliés à la biofonctionnalisation de la mousse OG avec des aptamères développés spécifiquement pour une hormone la Dexaméthasone qui va être en contact avec un analyte pour une décontamination spécifique et sélective dans l'eau. Le test d'absorbance par UV-visible ainsi que par photoluminescence démontre que la mousse d'oxyde de graphène a une très bonne capacité d'absorption. En premier lieu la mousse à différente concentration de l'OG a été incubée avec l'aptamère de la dexaméthasone en suite avec l'analyte spécifique à celle-ci. Un taux d'absorption de plus de 30% a été observé et démontré avec l'ajout de l'aptamère. Malgré que toutes les mousses ont une bonne capacité d'absorption, mais ça reste que l'augmentation de la concentration de l'OG a une influence remarquable sur le taux d'absorption. Un test de sélectivité a été réalisé par l'utilisation d'hormones analogues à la Dexaméthasone telles que la Progestérone, Estrone, Estradiol ainsi que la 19-Norethindrone. En effet, ce test confirme avec succès par la

spectroscopie Photoluminescence que la Dexaméthasone est sélective par rapport à l'aptamère utilisé avec une absorbance élevée.

Aussi, comparativement aux autres méthodes de décontamination dans des milieux aqueux, l'utilisation de la mousse d'oxyde de graphène couplée à l'aptamère, s'avère une très bonne approche et une initiative révolutionnaire pour une décontamination spécifique avec une affinité élevée. La simplicité de fabrication de la mousse OG, la rend une membrane utilisable dans le domaine de l'énergie pour l'amélioration des performances des batteries vu sa porosité qui lui confère une grande surface réactive.

Prochainement, cette méthode de fabrication de la mousse OG sera adaptée à être utilisée pour la décontamination de plus grosse molécules et optimisée pour diverses utilisations. L'approche se fera par l'intégration d'autres matériaux afin de rendre la membrane plus performante par le contrôle du diamètre des pores ainsi que sa réutilisation.

Cette mise en place est favorable pour la préservation environnementale et sanitaire lorsqu'elle est utilisée en amont comme filtres dans les rejets des industries pharmaceutiques et les déchets ménagers.

RÉFÉRENCES

- Australien Microscopy and Microanalysis Research Facility. (S.D.). *Layout Myscope*.
Récupéré Le 22 Juin 2017 de
[Http://Www.Ammrf.Org.Au/Myscope/Sem/Practice/Principles/Layout.Php](http://Www.Ammrf.Org.Au/Myscope/Sem/Practice/Principles/Layout.Php)
- Balandin, A. A., Ghosh, S., Bao, W., Calizo, I., Teweldebrhan, D., Miao, F. et Lau, C. N. (2008). Superior Thermal Conductivity of Single-Layer Graphene. *Nano Letters*, 8(3), 902-907.
- Barbillat, J., Bougeard, D., Buntinx, G., Delhay, M., Dhamelincourt, P. et Fillaux, F. (1999). Spectrométrie Raman. *Techniques de L'ingénieur. Analyse et Caractérisation*, 9(P2865), 1-31.
- Bell, I. M., Clark, R. J. et Gibbs, P. J. (1997). Raman Spectroscopic Library of Natural and Synthetic Pigments (Pre- \approx 1850 AD). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 53(12), 2159-2179.
- Benarroudj, A. (2012). *Cinétiques et Mécanismes de Croissance de Composés Bimétalliques et de Siliciures dans les Structures à Base de Cobalt et de Silicium*. Université Ferhat Abbas de Sétif 1.
- Bianco, A. (2013). Graphene: Safe Or Toxic? The two Faces of The Medal. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(19), 4986-4997.
- Bilibana, M. P., Citartan, M., Yeoh, T. S., Rozhdestvensky, T. S. et Tang, T.-H. (2017). Aptamers as The Agent in Decontamination Assays (Apta-Decontamination Assays): From The Environment to The Potential Application In Vivo. *Journal of Nucleic Acids*, 2017.
- Bissessur, R. et Scully, S. F. (2007). Intercalation of Solid Polymer Electrolytes Into Graphite Oxide. *Solid State Ionics*, 178(11), 877-882.

- Boardman, J. (1966). SS Weinberg: The Stone Age in The Aegean.(Cambridge Ancient History, Revised Edition, Fasc. 36: Vol. I, Ch. X.) Pp. 68; 3 Maps. Cambridge: University Press, 1965. Paper, 8s. 6d. Net. FH Stubbings: The Recession of Mycenaean Civilization.(Cambridge Ancient History, Revised Edition, Fasc. 39: Vol. II, Ch. XXVII.) Pp. 21. Cambridge: University Press, 1965. Paper, 3s. 6d. Net. *The Classical Review (New Series)*, 16(03), 416-417.
- Boehm, H., Clauss, A., Fischer, G. et Hofmann, U. (1962). Surface Properties of Extremely Thin Graphite Lamellae. *Proceedings of The Fifth Conference on Carbon* (Vol. 1, P. 73-80). Pergamon Press New York
- Borella, M. (2006). *Contrôle de la Fonctionnalisation de Surface de Revêtements Obtenus par PECVD à Partir d'un Composé Organosilicié Cyclique*. Vandoeuvre-Les-Nancy, INPL.
- Brodie, B. C. (1859). On The Atomic Weight of Graphite. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London*, 149, 249-259.
- Brugel, W. (1962). *Fundamentals of The Theory of Infrared Spectra in The Gaseous State. An Introduction to Infrared Spectroscopy (Brugel W., Ed.)*. Methuen & Co. Ltd : London, John Wiley & Sons, Inc.: New York.
- Cai, W., Piner, R. D., Stadermann, F. J., Park, S., Shaibat, M. A., Ishii, Y., Stoller, M. (2008). Synthesis and Solid-State NMR Structural Characterization of ¹³C-Labeled Graphite Oxide. *Science*, 321(5897), 1815-1817.
- Chen, B., Liu, M., Zhang, L., Huang, J., Yao, J. et Zhang, Z. (2011). Polyethylenimine-Functionalized Graphene Oxide as an Efficient Gene Delivery Vector. *Journal of Materials Chemistry*, 21(21), 7736-7741.
- Chen, J.-L., Yan, X.-P., Meng, K. et Wang, S.-F. (2011). Graphene Oxide Based Photoinduced Charge Transfer Label-Free Near-Infrared Fluorescent Biosensor for Dopamine. *Analytical Chemistry*, 83(22), 8787-8793.
- Compton, O. C. et Nguyen, S. T. (2010). Graphene Oxide, Highly Reduced Graphene Oxide, and Graphene: Versatile Building Blocks for Carbon-Based Materials. *Small*, 6(6), 711-723.

- Conley, R. (1972). *Infrared Spectroscopy*, Allyn & Bacon Inc. *Boston, USA*.
- Contreras Jiménez, G. N., Eissa, S., Ng, A., Alhadrami, H., Zourob, M. et Siaj, M. (2015). Aptamer-Based Label-Free Impedimetric Biosensor for Detection of Progesterone. *Analytical Chemistry*, 87(2), 1075-1082.
- Costa-Coquelard, C., Jegou, P. et Benattar, J.-J. (2011). Role of Substrate Wettability in The "Bubble Deposition Method" Applied to The Cevo4 Nanowire Films. *Langmuir*, 27(8), 4397-4402.
- Davoisne, C. (2006). *Évolution des Silicates dans Les Milieux Interstellaires, Circumstellaires et Cométaires: Le Rôle de L'irradiation et de la Température*. Lille 1.
- Dimiev, A. M., Alemany, L. B. et Tour, J. M. (2012). Graphene Oxide. Origin of Acidity, Its Instability in Water, and a New Dynamic Structural Model. *ACS Nano*, 7(1), 576-588.
- Dong, H., Gao, W., Yan, F., Ji, H. et Ju, H. (2010). Fluorescence Resonance Energy Transfer Between Quantum Dots and Graphene Oxide for Sensing Biomolecules. *Analytical Chemistry*, 82(13), 5511-5517.
- Dreyer, D. R., Park, S., Bielawski, C. W. et Ruoff, R. S. (2010). The Chemistry of Graphene Oxide. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 228-240.
- Eaton, B. E., Gold, L. et Zichi, D. A. (1995). Let's Get Specific: The Relationship Between Specificity and Affinity. *Chemistry & Biology*, 2(10), 633-638.
- Eda, G. et Chhowalla, M. (2010). Chemically Derived Graphene Oxide: Towards Large-Area Thin-Film Electronics and Optoelectronics. *Advanced Materials*, 22(22), 2392-2415.
- Eda, G., Lin, Y. Y., Mattevi, C., Yamaguchi, H., Chen, H. A., Chen, I., Chhowalla, M. (2010). Blue Photoluminescence from Chemically Derived Graphene Oxide. *Advanced Materials*, 22(4), 505-509.

- Eda, G., Mattevi, C., Yamaguchi, H., Kim, H. et Chhowalla, M. (2009). Insulator to Semimetal Transition in Graphene Oxide. *The Journal of Physical Chemistry C*, 113(35), 15768-15771.
- Edwards, H. G. et Chalmers, J. M. (2005). *Raman Spectroscopy in Archaeology and Art History* (Vol. 9). Royal Society of Chemistry.
- El Kazzi, M. (2007). *Etude par Photoemission (XPS & XPD) D'hétérostructures d'oxydes Fonctionnels Epitaxies sur Silicium*. Ecole Centrale de Lyon.
- Ellington, A. D. et Szostak, J. W. (1990). In Vitro Selection of RNA Molecules That Bind Specific Ligands. *Nature*, 346(6287), 818.
- Famulok, M., Mayer, G. et Blind, M. (2000). Nucleic Acid Aptamers from Selection in Vitro to Applications in Vivo. *Accounts of Chemical Research*, 33(9), 591-599.
- Fan, P., Suri, A. K., Fiala, R., Live, D. et Patel, D. J. (1996). Molecular Recognition in The FMN–RNA Aptamer Complex. *Journal of Molecular Biology*, 258(3), 480-500.
- Fang, M., Wang, K., Lu, H., Yang, Y. et Nutt, S. (2009). Covalent Polymer Functionalization of Graphene Nanosheets and Mechanical Properties of Composites. *Journal of Materials Chemistry*, 19(38), 7098-7105.
- Feng, D., Zhang, Y., Feng, T., Shi, W., Li, X. et Ma, H. (2011). A Graphene Oxide–Peptide Fluorescence Sensor Tailor-Made for Simple and Sensitive Detection of Matrix Metalloproteinase 2. *Chemical Communications*, 47(38), 10680-10682.
- Freie Universitat Berlin. Chapter 2, Review of Experimental Methods. Dans. Récupéré Le 25 Juin 2017 De [Http://Www.Diss.Fu-Berlin.De/Diss/Servlets/Mcrfilenodeservlet/FUDISS_Derivate_000000003161/05_Chapter2.Pdf?Hosts=](http://www.Diss.Fu-Berlin.De/Diss/Servlets/Mcrfilenodeservlet/FUDISS_Derivate_000000003161/05_Chapter2.Pdf?Hosts=)
- Gao, W., Alemany, L. B., Ci, L. et Ajayan, P. M. (2009). New Insights into The Structure and Reduction of Graphite Oxide. *Nature Chemistry*, 1(5), 403-408.

- Geim, A. et Novoselov, K. (2007). *The Rise of Graphene. Naturematerials*, 6: 183–191 : March.
- Gilbert, B. (2005). Spectrométrie Raman. *Notes De Cours, Université De Liège*.
- Gold, L., Polisky, B., Uhlenbeck, O. et Yarus, M. (1995). Diversity of Oligonucleotide Functions. *Annual Review of Biochemistry*, 64(1), 763-797.
- Gong, J. R. (2011). Graphene-Synthesis, Characterization, Properties and Applications. *Intechinc, Rijeka*.
- Gross, J. (2011). *Caractérisation de Surfaces Biofonctionnalisées pour L'étude de Protéines de La Chaîne Respiratoire par Spectroscopie Infrarouge Couplée à L'électrochimie*. Strasbourg.
- Gullapalli, S. et Barron, A. (2010). Optical Characterization of Group 12-16 (II-VI) Semiconductor Nanoparticles by Fluorescence Spectroscopy. *Connexions*.
- Haddache, F. (2015). *Conception de Biocapteurs à ADN Photoélectrochimiques et Impédancemétriques à Base de Polymères Électrogénérés*. Université Grenoble Alpes.
- Haddou, M. (2010). *Dégradation de Dérivés de L'acide Benzoïque par Les Procédés d'oxydation Avancée en Phase Homogène et Hétérogène: Procédés Fenton, Photo-Fenton et Photocatalyse*. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Han, K., Liang, Z. et Zhou, N. (2010). Design Strategies for Aptamer-Based Biosensors. *Sensors*, 10(5), 4541-4557.
- He, H., Klinowski, J., Forster, M. et Lerf, A. (1998). A New Structural Model for Graphite Oxide. *Chemical Physics Letters*, 287(1), 53-56.
- He, S., Song, B., Li, D., Zhu, C., Qi, W., Wen, Y., Fan, C. (2010). A Graphene Nanoprobe for Rapid, Sensitive, and Multicolor Fluorescent DNA Analysis. *Advanced Functional Materials*, 20(3), 453-459.

- Heitz, T., Godet, C., Bouree, J., Drevillon, B. et Conde, J. (1999). Radiative and Nonradiative Recombination in Polymerlike A– C: H Films. *Physical Review B*, 60(8), 6045.
- Hermann, T. et Patel, D. J. (1999). Stitching Together RNA Tertiary Architectures. *Journal of Molecular Biology*, 294(4), 829-849.
- Hermann, T. et Patel, D. J. (2000). Adaptive Recognition by Nucleic Acid Aptamers. *Science*, 287(5454), 820-825.
- Hill, C. M., Zhu, Y. et Pan, S. (2011). Fluorescence and Electroluminescence Quenching Evidence of Interfacial Charge Transfer in Poly (3-Hexylthiophene): Graphene Oxide Bulk Heterojunction Photovoltaic Devices. *ACS Nano*, 5(2), 942-951.
- Hofmann, U. et Holst, R. (1939). Über Die Säurenatur Und Die Methylierung Von Graphitoxyd. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft (A And B Series)*, 72(4), 754-771.
- Hummers Jr, W. S. et Offeman, R. E. (1958). Preparation of Graphitic Oxide. *Journal of The American Chemical Society*, 80(6), 1339-1339.
- Huy, G. D., Jin, N., Yin, B.-C. et Ye, B.-C. (2011). A Novel Separation and Enrichment Method of 17 β -Estradiol Using Aptamer-Anchored Microbeads. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 34(2), 189-195.
- Iliuk, A. B., Hu, L. et Tao, W. A. (2011). Aptamer in Bioanalytical Applications. *Analytical Chemistry*, 83(12), 4440-4452.
- James, W. (2007). Aptamers in The Virologists' Toolkit. *Journal of General Virology*, 88(2), 351-364.
- Jayasena, S. D. (1999). Aptamers: An Emerging Class of Molecules that Rival Antibodies in Diagnostics. *Clinical Chemistry*, 45(9), 1628-1650.

- Jung, I., Dikin, D. A., Piner, R. D. et Ruoff, R. S. (2008). Tunable Electrical Conductivity of Individual Graphene Oxide Sheets Reduced at “Low” Temperatures. *Nano Letters*, 8(12), 4283-4287.
- Jung, J. H., Cheon, D. S., Liu, F., Lee, K. B. et Seo, T. S. (2010). A Graphene Oxide Based Immuno-Biosensor for Pathogen Detection. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(33), 5708-5711.
- Kiga, D., Futamura, Y., Sakamoto, K. et Yokoyama, S. (1998). An RNA Aptamer to The Xanthine/Guanine Base with a Distinctive Mode of Purine Recognition. *Nucleic Acids Research*, 26(7), 1755-1760.
- Kim, F., Cote, L. J. et Huang, J. (2010). Graphene Oxide: Surface Activity and Two-Dimensional Assembly. *Advanced Materials*, 22(17), 1954-1958.
- Kotchey, G. P., Allen, B. L., Vedala, H., Yanamala, N., Kapralov, A. A., Tyurina, Y. Y., Star, A. (2011). The Enzymatic Oxidation of Graphene Oxide. *ACS Nano*, 5(3), 2098-2108.
- Lakshminarayanan, P. V., Toghiani, H. et Pittman, C. U. (2004). Nitric Acid Oxidation of Vapor Grown Carbon Nanofibers. *Carbon*, 42(12), 2433-2442.
- Lee, C., Wei, X., Kysar, J. W. et Hone, J. (2008). Measurement of The Elastic Properties and Intrinsic Strength of Monolayer Graphene. *Science*, 321(5887), 385-388.
- Lefevre, J. (2008). *Etude des Effets D'irradiation dans le Polytype Cubique du Carbure de Silicium par les Techniques Spectroscopiques de Photoluminescence et de Résonance Paramagnétique Électronique*. Ecole Polytechnique X.
- Lerf, A., He, H., Forster, M. Et Klinowski, J. (1998). Structure of Graphite Oxide Revisited. *The Journal of Physical Chemistry B*, 102(23), 4477-4482.
- Li, M., Zhou, X., Ding, W., Guo, S. et Wu, N. (2013). Fluorescent Aptamer-Functionalized Graphene Oxide Biosensor for Label-Free Detection of Mercury (II). *Biosensors and Bioelectronics*, 41, 889-893.

- Li, S.-S., Tu, K.-H., Lin, C.-C., Chen, C.-W. et Chhowalla, M. (2010). Solution-Processable Graphene Oxide as an Efficient Hole Transport Layer in Polymer Solar Cells. *ACS Nano*, 4(6), 3169-3174.
- Liang, J., Huang, Y., Zhang, L., Wang, Y., Ma, Y., Guo, T. et Chen, Y. (2009). Molecular-Level Dispersion of Graphene Into Poly (Vinyl Alcohol) and Effective Reinforcement of Their Nanocomposites. *Advanced Functional Materials*, 19(14), 2297-2302.
- Liu, Z., Robinson, J. T., Sun, X. et Dai, H. (2008). Pegylated Nanographene Oxide for Delivery of Water-Insoluble Cancer Drugs. *Journal of The American Chemical Society*, 130(33), 10876-10877.
- Lu, C. H., Yang, H. H., Zhu, C. L., Chen, X. et Chen, G. N. (2009). A Graphene Platform for Sensing Biomolecules. *Angewandte Chemie*, 121(26), 4879-4881.
- Lv, W., Tang, D.-M., He, Y.-B., You, C.-H., Shi, Z.-Q., Chen, X.-C., Yang, Q.-H. (2009). Low-Temperature Exfoliated Graphenes: Vacuum-Promoted Exfoliation and Electrochemical Energy Storage. *ACS Nano*, 3(11), 3730-3736.
- Macaya, R. F., Schultze, P., Smith, F. W., Roe, J. A. et Feigon, J. (1993). Thrombin-Binding DNA Aptamer Forms a Unimolecular Quadruplex Structure in Solution. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 90(8), 3745-3749.
- Machado, B. F. et Serp, P. (2012). Graphene-Based Materials for Catalysis. *Catalysis Science & Technology*, 2(1), 54-75.
- Mahamat, T. N., Kidjakebo, S., Abel, S. K. et Bertrand, N. G. (2017). Heavy Metals Pollution in Water, Sediments and Fish of Léré Lake, Western Mayo Kebbi (Chad). *International Journal of Environmental Protection and Policy*, 5(1), 1.
- Mairal, T., Özalp, V. C., Sánchez, P. L., Mir, M., Katakis, I. et O'Sullivan, C. K. (2008). Aptamers: Molecular Tools for Analytical Applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390(4), 989-1007.

- Manohar, S. N. (2008). *FTIR Spectroscopic Studies of Atmospheric Molecules in Ice and on Ice Surfaces*. (Thèse de Doctorat). Universitat Bremen. Récupéré de [Http://Www.Iup.Unibremen.De/PEP_Master_Thesis/Thesis_2008/Thesis_Manohar.Pdf](http://www.iup.unibremen.de/PEP_Master_Thesis/Thesis_2008/Thesis_Manohar.Pdf)
- Marcano, D. C., Kosynkin, D. V., Berlin, J. M., Sinitskii, A., Sun, Z., Slesarev, A., Tour, J. M. (2010). Improved Synthesis of Graphene Oxide. *ACS Nano*, 4(8), 4806-4814.
- Materna, T., Weber, S., Kofler-Mongold, V. et Phares, W. (1998). Electrophoretic Separation of Both Single-and Double-Stranded Nucleic Acids in the Same Urea-Containing Agarose Gel. *Analytical Biochemistry*, 255(1), 161-163.
- Mcfarland, D. C. (2000). Preparation of Pure Cell Cultures by Cloning. *Methods in Cell Science*, 22(1), 63-66.
- Mehennaoui, S., Poorahong, S., Contreras Jimenez, G. et Siaj, M. (2018). Selection of Aptamer-Ligand for Dexamethasone Hormone Electrochemical Biosensing Detection. *Biosensors and Bioelectronics*.
- Mettler-Toledo AG, A. (2015). *Spectrophotomètre UV-VIS*. Récupéré de [Https://Www.Labandprocess.Com/System/Text_Documents/Data/000/001/470/Original/30256093_V09.15_UVVIS_Excell_Family_Bro_FR_LR.Pdf?1467121469](https://www.labandprocess.com/system/text_documents/data/000/001/470/original/30256093_v09.15_UVVIS_Excell_Family_Bro_FR_LR.Pdf?1467121469)
- Meure, L. A., Foster, N. R. et Dehghani, F. (2008). Conventional and Dense Gas Techniques for the Production of Liposomes: A Review. *Aaps Pharmscitech*, 9(3), 798.
- Montes-Navajas, P., Asenjo, N. G., Santamaría, R., Menendez, R., Corma, A. et García, H. (2013). Surface Area Measurement of Graphene Oxide in Aqueous Solutions. *Langmuir*, 29(44), 13443-13448.
- Morgenstern, B. (2004). Dialign: Multiple DNA and Protein Sequence Alignment at Bibiserv. *Nucleic Acids Research*, 32(Suppl 2), W33-W36.

- N'Diaye, J. A. (2016). Synthèse et Application du Graphène en tant que Mousse Absorbante de Contaminants en Milieu Aqueux et Ainsi qu'électrode pour la Détection Electrochimique du Peroxyde d'hydrogène.
- Nakajima, T., Mabuchi, A. Et Hagiwara, R. (1988). A New Structure Model of Graphite Oxide. *Carbon*, 26(3), 357-361.
- Nakajima, T. et Matsuo, Y. (1994). Formation Process and Structure of Graphite Oxide. *Carbon*, 32(3), 469-475.
- Ng, E. W., Shima, D. T., Calias, P., Cunningham, E. T., Guyer, D. R. et Adamis, A. P. (2006). Pegaptanib, A Targeted Anti-VEGF Aptamer for Ocular Vascular Disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(2), 123-132.
- Nieuwlandt, D., Wecker, M. et Gold, L. (1995). In Vitro Selection of RNA Ligands to Substance P. *Biochemistry*, 34(16), 5651-5659.
- Niyogi, S., Bekyarova, E., Itkis, M. E., Mcwilliams, J. L., Hamon, M. A. Et Haddon, R. C. (2006). Solution Properties of Graphite and Graphene. *Journal of The American Chemical Society*, 128(24), 7720-7721.
- Nourbakhsh, A., Cantoro, M., Vosch, T., Pourtois, G., Clemente, F., Van Der Veen, M. H., Sels, B. F. (2010). Bandgap Opening in Oxygen Plasma-Treated Graphene. *Nanotechnology*, 21(43), 435203.
- Nucleic Acid Chemical Compound. (S.D.). Récupéré le 20 Juin 2017 de <https://www.britannica.com/science/nucleic-acid>
- Ozbas, B., O'Neill, C. D., Register, R. A., Aksay, I. A., Prud'homme, R. K. et Adamson, D. H. (2012). Multifunctional Elastomer Nanocomposites with Functionalized Graphene Single Sheets. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 50(13), 910-916.
- Panchal, N. R. (2011). Chapter - 3 Characterization techniques and Instrumentation dans *Study and Characterisation of Some Hexa Ferrite Systems*. Récupéré le 25 Juin 2017 de http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/83415/8/08_Chapter3.pdf

- Paqueton, H. et Ruste, J. (2006). Microscopie Électronique à Balayage Principe et Équipement. *Techniques de L'ingénieur. Analyse et Caractérisation*, (P865v2).
- Paredes, J., Villar-Rodil, S., Martínez-Alonso, A. et Tascon, J. (2008). Graphene Oxide Dispersions in Organic Solvents. *Langmuir*, 24(19), 10560-10564.
- Park, S. et Ruoff, R. S. (2009). Chemical Methods for The Production of Graphenes. *Nature Nanotechnology*, 4(4), 217-224.
- Patel, D. J., Suri, A. K., Jiang, F., Jiang, L., Fan, P., Kumar, R. A. et Nonin, S. (1997). Structure, Recognition and Adaptive Binding in RNA Aptamer Complexes. *Journal of Molecular Biology*, 272(5), 645-664.
- Pecsok, R. L. et Shields, L. D. (1968). *Modern Methods of Chemical Analysis*. J. Wiley and Sons.
- Perret, N. (2001). *Propriétés Optiques et Mécanismes de Relaxation de L'énergie des Porteurs dans des Boîtes Quantiques*. Université de Sherbrooke.
- Punckt, C., Muckel, F., Wolff, S., Aksay, I. A., Chavarin, C. A., Bacher, G. et Mertin, W. (2013). The Effect of Degree of Reduction on The Electrical Properties of Functionalized Graphene Sheets. *Applied Physics Letters*, 102(2), 023114.
- Raman, C. (1929). The Theory of Light-Scattering In Liquids. *Philosophical Magazine*, 57, 160-161.
- Ramanathan, T., Abdala, A., Stankovich, S., Dikin, D., Herrera-Alonso, M., Piner, R., Ruoff, R. (2008). Functionalized Graphene Sheets for Polymer Nanocomposites. *Nature Nanotechnology*, 3(6), 327-331.
- Robertson, D. L. et Joyce, G. F. (1990). Selection in Vitro of an RNA Enzyme that Specifically Cleaves Single-Stranded DNA. *Nature*, 344(6265), 467-468.
- Robertson, J. (1996). Recombination and Photoluminescence Mechanism in Hydrogenated Amorphous Carbon. *Physical Review B*, 53(24), 16302.

- Rodriguez, A. M. Et Jimenez, P. V. (1986). Some New Aspects of Graphite Oxidation at 0 C in a Liquid Medium. A Mechanism Proposal for Oxidation to Graphite Oxide. *Carbon*, 24(2), 163-167.
- Ruess, G. (1947). Über Das Graphitoxhydroxyd (Graphitoxyd). *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, 76(3), 381-417.
- Ruoff, R. (2008). Graphene: Calling All Chemists. *Nature Nanotechnology*, 3(1), 10-11. Doi: 10.1038/Nnano.2007.432
- Sampson, T. (2003). Aptamers And SELEX: The Technology. *World Patent Information*, 25(2), 123-129.
- Sassolas, A., Blum, L. J. et Leca-Bouvier, B. D. (2011). Homogeneous Assays Using Aptamers. *Analyst*, 136(2), 257-274.
- Schniepp, H. C., Li, J.-L., Mcallister, M. J., Sai, H., Herrera-Alonso, M., Adamson, D. H., Aksay, I. A. (2006). Functionalized Single Graphene Sheets Derived from Splitting Graphite Oxide. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(17), 8535-8539.
- Scholz, W. Et Boehm, H. (1969). Untersuchungen Am Graphitoxid. VI. Betrachtungen Zur Struktur des Graphitoxids. *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie*, 369(3-6), 327-340.
- Seligman, S. K., Cuddy, T. W., Chisholm, A. G., Beadenkopf, K. M., Palus, M. et Leone, M. P. (2006). Final Report of The Phase III Archaeological Investigations at the Dr. Upton Scott House (18AP18), Annapolis, Anne Arundel County, Maryland, 1998-1999.
- Siegbahn, K., Nordling, C. F., A Nordberg, R. H., K Hedman, J. J. G. et Bergmark, T. K., SE. (1968). Electron Spectroscopy Applied to Study of Atoms Molecules and Solid State Structure. Dans *Annales de Physique* (Vol. 3, P. 281-&) : Edp Sciences 7, Ave Du Hoggar, Parc D Activites Courtaboeuf, Bp 112, F-91944 Les Ulis Cedexa, France.

- Simonescu, C. M. (2012). Application of FTIR Spectroscopy in Environmental Studies. Dans *Advanced Aspects of Spectroscopy*. Intech.
- Skoda, M., Dudek, I., Jarosz, A. et Szukiewicz, D. (2014). Graphene: One Material, Many Possibilities—Application Difficulties in Biological Systems. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 190.
- Souici, M. (2007). Influence de L'hydrogène sur le Comportement du Nickel Pur (Ni) et de ses Alliages.
- Stankovich, S., Piner, R. D., Nguyen, S. T. et Ruoff, R. S. (2006). Synthesis And Exfoliation of Isocyanate-Treated Graphene Oxide Nanoplatelets. *Carbon*, 44(15), 3342-3347.
- Staudenmaier, L. (1898). Verfahren Zur Darstellung Der Graphitsäure. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 31(2), 1481-1487.
- Stellwagen, N. C. (2009). Electrophoresis of DNA in Agarose Gels, Polyacrylamide Gels and in Free Solution. *Electrophoresis*, 30(S1), S188-S195.
- Stoltenburg, R., Reinemann, C. et Strehlitz, B. (2007). SELEX—A (R) Evolutionary Method to Generate High-Affinity Nucleic Acid Ligands. *Biomolecular Engineering*, 24(4), 381-403.
- Sui, Z.-Y., Cui, Y., Zhu, J.-H. et Han, B.-H. (2013). Preparation of Three-Dimensional Graphene Oxide–Polyethylenimine Porous Materials as Dye and Gas Adsorbents. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(18), 9172-9179.
- Sun, X., Liu, Z., Welsher, K., Robinson, J. T., Goodwin, A., Zaric, S. et Dai, H. (2008). Nano-Graphene Oxide Ffor Cellular Imaging and Drug Delivery. *Nano Research*, 1(3), 203-212.
- Szabó, T., Berkesi, O., Forgó, P., Josepovits, K., Sanakis, Y., Petridis, D. et Dékány, I. (2006). Evolution of Surface Functional Groups in a Series of Progressively Oxidized Graphite Oxides. *Chemistry of Materials*, 18(11), 2740-2749.

- Tang, L., Li, X., Ji, R., Teng, K. S., Tai, G., Ye, J., .Lau, S. P. (2012). Bottom-Up Synthesis of Large-Scale Graphene Oxide Nanosheets. *Journal of Materials Chemistry*, 22(12), 5676-5683.
- Tombelli, S., Minunni, M. et Mascini, M. (2005). Analytical Applications of Aptamers. *Biosensors and Bioelectronics*, 20(12), 2424-2434.
- Toulmé, J.-J., Da Rocha, S., Dausse, E., Azéma, L., Lebars, I. et Moreau, S. (2007). Les Aptamères: Du Concept à L'outil. *Médecine Nucléaire*, 31(9), 478-484.
- Tsu, R., González, J. Et Hernández, I. (1978). Observation of Splitting of The E_{2g} Mode and Two-Phonon Spectrum in Graphites. *Solid State Communications*, 27(5), 507-510.
- Tuerk, C. et Gold, L. (1990). Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment: RNA Ligands to Bacteriophage T4 DNA Polymerase. *Science*, 249(4968), 505-510.
- Ultra High Vacuum Lab. UHVL. *Photoelectron Spectrometer, ESCA-Mk II By Vacuum Generators*. Récupéré De [Http://Jacobs.Physik.Uni-Saarland.De/English/Instrumentation/Uhvl.Htm](http://Jacobs.Physik.Uni-Saarland.De/English/Instrumentation/Uhvl.Htm)
- University of Notre Dame. (S.D.). Spectroscopy Facilities. *The Prashant Kamat Laboratory*. Récupéré de [de](https://www3.nd.edu/~Kamatlab/Facilities_Spectroscopy.Html) [Https://www3.nd.edu/~Kamatlab/Facilities_Spectroscopy.Html](https://www3.nd.edu/~Kamatlab/Facilities_Spectroscopy.Html)
- UVED. (2008). Absorption et Transmission Atmosphériques. *Suivi de L'environnement par Télédétection*. Récupéré de [Http://E-Cours.Univ-Paris1.Fr/Modules/Uved/Envcal/Html/Rayonnement/3-Rayonnement-Atmosphere/3-1-Absorption-Transmission-Atmospherique.Html](http://E-Cours.Univ-Paris1.Fr/Modules/Uved/Envcal/Html/Rayonnement/3-Rayonnement-Atmosphere/3-1-Absorption-Transmission-Atmospherique.Html)
- Vandenabeele, P., Edwards, H. G. et Moens, L. (2007). A Decade of Raman Spectroscopy in Art and Archaeology. *Chemical Reviews*, 107(3), 675-686.
- Wallace, S. T. et Schroeder, R. (1998). In Vitro Selection and Characterization of Streptomycin-Binding Rnas: Recognition Discrimination Between Antibiotics. *Rna*, 4(1), 112-123.

- Walter, J. G., Stahl, F. et Scheper, T. (2012). Aptamers as Affinity Ligands for Downstream Processing. *Engineering in Life Sciences*, 12(5), 496-506.
- Wang, H., Zhang, Q., Chu, X., Chen, T., Ge, J. et Yu, R. (2011). Graphene Oxide–Peptide Conjugate as an Intracellular Protease Sensor for Caspase-3 Activation Imaging in Live Cells. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(31), 7065-7069.
- Wang, Y., Li, Z., Hu, D., Lin, C.-T., Li, J. et Lin, Y. (2010). Aptamer/Graphene Oxide Nanocomplex for in Situ Molecular Probing in Living Cells. *Journal of The American Chemical Society*, 132(27), 9274-9276.
- Wang, Y., Li, Z., Wang, J., Li, J. et Lin, Y. (2011). Graphene And Graphene Oxide: Biofunctionalization and Applications in Biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 29(5), 205-212.
- Wu, C., Han, D., Chen, T., Peng, L., Zhu, G., You, M., Tan, W. (2013). Building A Multifunctional Aptamer-Based DNA Nanoassembly for Targeted Cancer Therapy. *Journal of The American Chemical Society*, 135(49), 18644-18650.
- Wu, Z.-S., Ren, W., Gao, L., Liu, B., Jiang, C. et Cheng, H.-M. (2009). Synthesis of High-Quality Graphene with A Pre-Determined Number of Layers. *Carbon*, 47(2), 493-499.
- Yang, X., Zhang, X., Liu, Z., Ma, Y., Huang, Y. et Chen, Y. (2008). High-Efficiency Loading and Controlled Release of Doxorubicin Hydrochloride on Graphene Oxide. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(45), 17554-17558.
- Zaydoun, S. (S.D.). Chapitre II Spectroscopie d'absorption dans L'uv-Visible dans *Cours de Méthodes Spectroscopiques D'analyse* Récupéré Le 22 Juin 2017 de [Http://Www.Fsr.Ac.Ma/Cours/Chimie/Zaydoun/SMC5/Chap%20II-%20UV-Visible.Pdf](http://Www.Fsr.Ac.Ma/Cours/Chimie/Zaydoun/SMC5/Chap%20II-%20UV-Visible.Pdf)
- Zhang, L., Lu, Z., Zhao, Q., Huang, J., Shen, H. et Zhang, Z. (2011). Enhanced Chemotherapy Efficacy by Sequential Delivery of Sirna and Anticancer Drugs Using PEI-Grafted Graphene Oxide. *Small*, 7(4), 460-464.

Zhang, Y., Hong, H. et Cai, W. (2011). Tumor-Targeted Drug Delivery with Aptamers. *Current Medicinal Chemistry*, 18(27), 4185-4194.

Zhu, Y., Murali, S., Cai, W., Li, X., Suk, J. W., Potts, J. R. Et Ruoff, R. S. (2010). Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications. *Advanced Materials*, 22(35), 3906-3924.