

AMI : DEFI NANO

Projet SINanoMar : Suivi et impacts des traces de nanoparticules en milieu marin

Face au défi posé par le devenir des nanoparticules (NP) dans l'environnement et leur impact sur la santé humaine, nous proposons de mettre en place de nouveaux indicateurs, sentinelles de contaminations en milieu marin. La collaboration entre des spécialistes de la chimie des NP et de la biologie des organismes marins permettra de caractériser le cycle des NP dans ce milieu, de mesurer leur impact physiologique, de définir des gènes marqueurs cibles et des méthodes rapides pour leur quantification.

Équipes participant au projet :

Anne-Marie Genevière (DR), BIOM, CNRS, INSB, INEE
Hervé Moreau (DR), Directeur BIOM, UMR 7232, CNRS, INSB, INEE
Nigel Grimsley (DR), BIOM, CNRS, INSB, INEE
Gwenaël Piganneau (CR), BIOM, UMR, CNRS, INSB, INEE
Sophie Sanchez-Ferandin, BIOM, UMR
Emilie Baye (IE), BIOM, UMR, UPMC
Marie-Line Escande (IE), BIOM, UMR, CNRS, INSB, INEE
Christine Ménager (MC), PHENIX, UMR 8234, UPMC, INC, INP
Aude Michel (technicienne), PHENIX, UMR 8234, UPMC, INC, INP
Chloe Maisano, ORDIMIP

L'unité **BIOM** (Biologie des Organismes marins) ([http:// biom.obs-banyuls.fr](http://biom.obs-banyuls.fr)) a pour objectif d'étudier, selon une approche évolutive, les mécanismes de développement et d'adaptation des organismes marins. Les savoir-faire du BIOM en matière d'organismes modèles marins ont conduit l'Observatoire Océanologique de Banyuls (OOB) à devenir un des trois membres du Centre National de Ressources Biologiques Marines, EMBRC-France (infrastructure nationale en Biologie et Santé/programme Investissement d'Avenir), la composante nationale du projet européen EMBRC sélectionné sur la feuille de route ESFRI (European Strategy Forum on Research Infrastructures) adoptée en 2006 par la Commission Européenne. Le BIOM met à disposition de ce projet 5 chercheurs et 2 ingénieurs pour un total de 34 personnes/mois.

Le laboratoire **PHENIX** (Physicochimie des électrolytes et nanosystèmes interfaciaux), dirigé par P. Levitz, a été créé au 1^{er} janvier 2014 (ex UMR PECSA 7195) et rassemble trois équipes travaillant dans les domaines de l'électrochimie, de la modélisation et des colloïdes magnétiques. L'expertise du laboratoire PHENIX dans les nanosciences s'étend de la synthèse chimique des NPs magnétiques à leur dispersion et à l'étude de leurs propriétés physiques (magnétisme, magnéto-optique). Depuis sa création, dans les années 80 par le professeur René Massart, cette équipe a publié plus de 300 articles. Les récents développements portent sur l'utilisation de l'outil microfluidique comme outil de synthèse et d'assemblage de NPs, le développement de systèmes complexes pour les applications biomédicales (liposomes magnétiques) et l'utilisation des NPs magnétiques pour la dépollution des eaux.

Le défi scientifique

Contexte et compétition internationale

La production et l'utilisation croissante des nanomatériaux soulèvent la question des risques qu'elles engendrent. Alors que les implications sur la santé humaine font l'objet de nombreuses études, les risques environnementaux sont pour l'instant moins bien évalués. L'impact sur les écosystèmes terrestre et d'eau douce, les premiers concernés par les effluents industriels, fait actuellement l'objet de nombreuses études. Par contre, les conséquences du transfert des nanoparticules (NP) vers les écosystèmes marins sont encore très peu abordées. Les différentes analyses stratégiques nationales « pour un développement raisonnable des nanotechnologies » soulignent cette carence. Elles suggèrent, par ailleurs, compte tenu de la multiplicité croissante des nouveaux nanomatériaux, que la toxicité potentielle des NP soit évaluée dès leur conception, en utilisant des démarches interdisciplinaires et des approches harmonisées au niveau international.

Jusqu'ici seules les NP dont l'utilisation industrielle est déjà répandue ont fait l'objet d'études toxicologiques dans ces écosystèmes : les oxydes de Ti, de Zn, de Ce, d'Ag, de Cu, des silicates ou des composés carbonés. Ces NP proviennent de cosmétiques, de peintures, de résidus de matériel électronique, etc. Bien que la caractérisation des propriétés physico-chimiques de ces matériaux dans le milieu aquatique marin soit encore peu documentée, des tests sur les principaux phyla susceptibles d'être affectés par l'accumulation de ces NP dans les écosystèmes marins ont cependant été publiés. Les résultats indiquent une grande variabilité d'effets en fonction de la nature des NP et de l'environnement chimique et biologique du milieu qui influe en particulier sur la structure et la biodisponibilité des NP. Les principaux effets observés montrent une perturbation des cinétiques de croissance, en particulier pour les algues phytoplanctoniques, une sensibilité particulière des composants embryonnaires du zooplancton, une accumulation toute particulière dans les biofilms, dans les bivalves et les poissons. Les effets néfastes observés sur les organismes producteurs primaires ainsi que l'accumulation des NP dans les microorganismes laissent entrevoir des conséquences non seulement aux différents niveaux de la chaîne trophique mais aussi à plus grande échelle, sur le cycle du carbone en milieu océanique. Ces données, établies jusqu'ici avec des protocoles peu comparables, font ressortir l'absence de données pour certains phyla, le manque de prise en compte de l'effet additionnel du pH, de la température ou des variations de matières organiques dissoutes dans le milieu et enfin le peu d'analyse des mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent les effets observés. Il n'existe, d'autre part, que de très rares approches toxico-génomiques qui pourraient révéler des mécanismes communs à plusieurs espèces et permettraient de proposer des marqueurs cellulaires ou moléculaires utilisables comme détecteurs simples et rapides de l'effet toxique des NP dans les écosystèmes marins.

Objectif

Pour évaluer les risques potentiels des NP d'oxydes métalliques dans l'environnement marin il est important de lever certains verrous. Pour ce faire, notre objectif est de caractériser le devenir des NP dans ce milieu particulier, de trouver des bioindicateurs de ce type de contaminations et de développer des méthodes de quantification de la réponse d'organismes modèles à une exposition aux NP.

Nouvelles synergies entre équipes et interdisciplinarité

La démarche que nous proposons dans ce projet implique un échange constant entre des spécialistes des NP (chimistes) et des spécialistes des organismes marins (biologistes et écologues). Les propriétés des NP, très dépendantes du milieu dans lequel elles se trouvent, et leurs interactions variables avec des organismes structurellement et physiologiquement divers doivent être prises en compte pour prédire l'impact sur les populations marines et leurs écosystèmes.

Une telle approche ne peut être réalisée qu'au travers d'une **collaboration interdisciplinaire**. C'est pourquoi ce projet associe deux unités du CNRS spécialisées respectivement dans la physico-chimie des NP (PHENIX) et la biologie des organismes marins (BIOM). La participation à ce projet

de l'ORDIMIP, ayant une action phare dans le domaine des déchets des nanotechnologies, permettra de cadrer les objectifs, de canaliser les travaux et de prévoir dès les premières étapes une ouverture sur le milieu R&D. Les partenaires s'attacheront à travailler au plus près des préoccupations sociétales dans ce domaine en incorporant, dès le début du projet, une structure qui fera le lien entre les chercheurs, les collectivités locales et le monde industriel.

Impact et retombées attendues

Ce projet pose les jalons pour la mise en œuvre de méthodes nouvelles et rapides d'évaluation du potentiel toxique des NP dans les écosystèmes marins basées sur des réponses moléculaires spécifiques de ces Nps.

- La caractérisation du devenir des NP $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ dans des eaux de mer aux propriétés définies est l'étape préalable. Elle permettra de déterminer les conditions de tests de toxicité *in vivo* sur les organismes modèles retenus, conditions qui pourront ultérieurement être appliquées à des espèces marines complémentaires. Le suivi au cours du temps des NPs dans ce milieu constituera à lui seul un apport important, très peu d'études sur la stabilité des NPs ayant été réalisées jusqu'ici en milieu marin.
- Évaluer la toxicité des NP d'oxyde Fe ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$) en les comparant aux NP d'oxydes de Zn (ZnO) permettra de classer les premières dans une échelle de toxicité et de déterminer les spécificités de réponse, alors que la comparaison des effets obtenus avec les NPs stabilisées par un enrobage chargé ou neutre fournira pour la première fois des données sur l'importance des stabilisants dans la toxicité des NP en milieu marin.
- L'analyse toxico-génomique devrait fournir une liste de gènes dont l'expression dans ces organismes marins est affectée par les NP étudiées. Ces gènes sont les indicateurs des mécanismes qui sous-tendent l'effet toxique de ces NP et la comparaison des résultats dans les différentes espèces permettra de dégager d'éventuelles voies toxiques communes. L'identification de ces gènes sera la première étape vers la conception des méthodes de détection basées sur les variations quantitatives ou de localisation de l'expression de ces gènes, comme celles récemment développées aux BIOM. C'est aussi le passage obligé pour une détermination de la toxicité à l'échelle des écosystèmes soit en utilisant des mésocosmes comportant une biodiversité représentative, soit directement *in situ*.