

# Accumulation de l'argent dissous dans des liposomes utilisés comme modèle de membrane biologique

Camille Guilleux, Peter G.C. Campbell et Claude Fortin

Institut National de la Recherche Scientifique, Centre Eau, Terre et Environnement. 490 rue de la Couronne, Québec, QC, Canada G1K 9A9. Auteur ressource : camille.guilleux@ete.inrs.ca

## Résumé

En 2013, 391 produits contenant des nanoparticules d'argent (AgNPs) ont été répertoriés par le centre international Woodrow Wilson et ce nombre ne cesse d'augmenter. Les propriétés antibactériennes des nanoparticules d'argent, présentant un grand nombre d'avantages, sont principalement exploitées. Néanmoins, il est maintenant reconnu que ces nanoparticules tendent à libérer des ions d'argent, potentiellement toxiques pour les organismes aquatiques, une fois introduites dans les eaux douces naturelles. Les mécanismes d'action des nanoparticules ne sont toutefois pas bien connus.

Dans ce projet, nous prévoyons comparer l'accumulation d'argent dissous et de nanoparticules d'argent dans des liposomes. Ces vésicules unilamellaires composées de phosphatidylcholine sont utilisées comme modèle de membrane biologique afin d'étudier le passage potentiel de l'argent à travers la bicouche phospholipidique.

Les liposomes sont synthétisés dans un tampon à pH 6 grâce à des techniques d'extrusion. Une étape de chromatographie d'exclusion stérique est utilisée pour les changer de milieu. Un isotope radioactif de l'argent est ensuite utilisé comme marqueur afin d'étudier l'internalisation dans les liposomes de l'argent dissous sous différentes formes ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ag}_2\text{S}_2\text{O}_3^-$ ,  $\text{Ag}(\text{cystéine})$ ,  $\text{Ag}(\text{glutathion})$ , ...). Une deuxième étape de chromatographie d'exclusion stérique est appliquée afin de séparer les liposomes contenant l'argent de la solution d'exposition. Le design expérimental ainsi que les résultats préliminaires obtenus sont présentés. Des expériences similaires avec des nanoparticules d'argent de différentes tailles, enrobages et concentrations sont prévues.

## Introduction

- Utilisation croissante des AgNPs dans les produits de consommation :



→ Concentrations estimées (modèles) en AgNPs dans les eaux américaines : 0,09 - 0,43 ng/L et européennes : 40 - 320 ng/L.

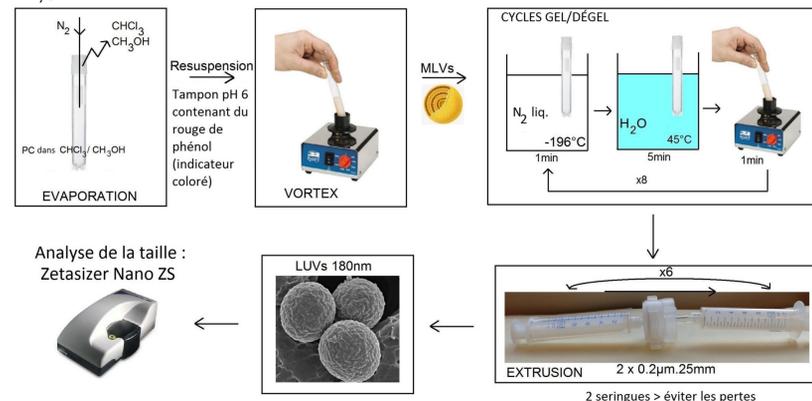
- Biodisponibilité des nanoparticules d'argent pour les organismes aquatiques? Différence entre AgNPs et ions  $\text{Ag}^+$  libérés? AgNPs internalisés? Si oui, comment?

- But initial : Étudier la diffusion passive d' $\text{Ag}(\text{I})$  et AgNPs à travers la bicouche lipidique des liposomes utilisés comme modèle de membrane biologique.

## Méthodologie

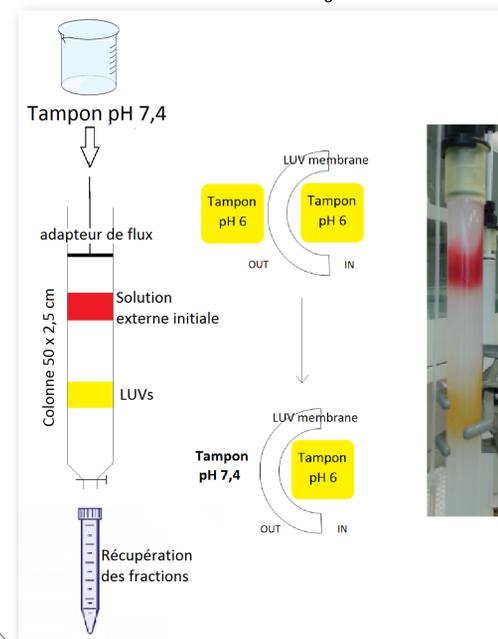
### I) Préparation des liposomes

Tampon pH 6 ( $I = 13,6 \text{ meq/L}$ ) : Rouge de phénol 6,0 mM, MES 5,0 mM,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  1,33 mM,  $\text{KNO}_3$  3,6 mM, NaOH 1,6 mM



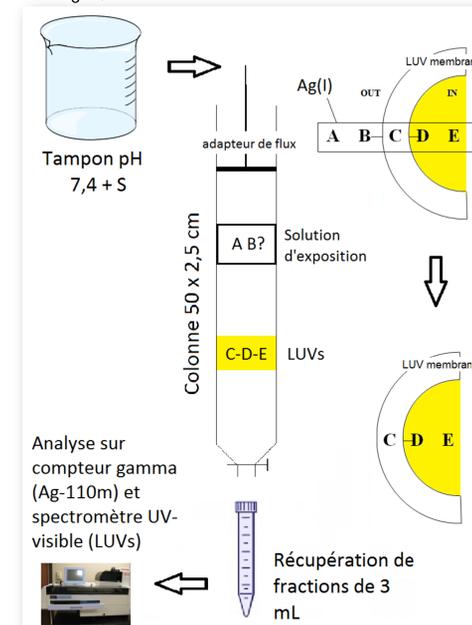
### II) Changement de milieu

Tampon pH 7,4 ( $I = 13,6 \text{ meq/L}$ ) : MOPS 7,5 mM, NaOH 4,8 mM,  $\text{KNO}_3$  8,8 mM



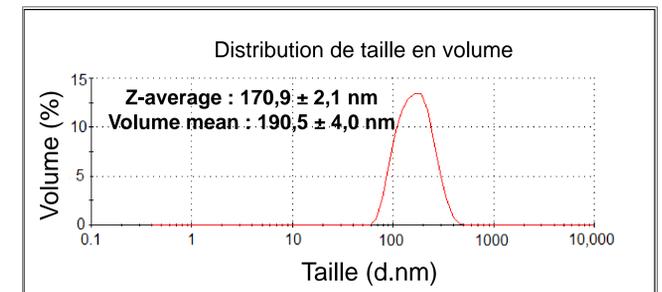
### III) Interaction Ag-110m (10 nM) - LUVs

Tampon pH 7,4 + S ( $I = 13,6 \text{ meq/L}$ ) : MOPS 5,0 mM,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  2,5 mM, NaOH 3,2 mM,  $\text{KNO}_3$  2,8 mM

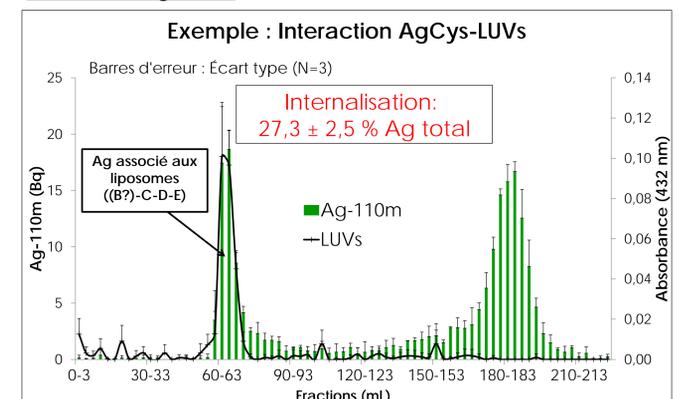


## Résultats

Taille des liposomes : Zetasizer nano-ZS (Malvern)



Interaction Ag-LUVs



Ligand		Internalisation (% Ag total)
Thiosulfate	$\text{S}_2\text{O}_3^-$	$52,0 \pm 2,3 \%$
Thiosalicylate		$50,5 \pm 3,5 \%$
L-Cystéine		$27,3 \pm 2,5 \%$
GSH (glutathion)		$12,5 \pm 1,5 \%$
CysPC2	$\text{Cys}-(\gamma\text{E-C})_2\text{-G}$	$2,4 \pm 1,1 \%$

## Perspectives

- Étude cinétique de l'internalisation d' $\text{Ag}^+$  dans les liposomes (utilisation de PC2 pour stopper l'internalisation),
- Étude de l'interaction entre nanoparticules d'argent et liposomes,
- Application d'un protocole similaire avec des liposomes de plus grande taille > étude de l'influence du diamètre des LUVs sur l'internalisation d' $\text{Ag}(\text{I})$ .