



**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL
SABATIER
FACULTE DE SANTE
DEPARTEMENT DES SCIENCES
PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2022

THESE 2022 TOU3 2124

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

Julie FINKEL

**NANOTECHNOLOGIE DES ADN ORIGAMIS : POTENTIELLES APPLICATIONS
THERAPEUTIQUES**

Le 05 Décembre 2022

Directeur de thèse : Professeur Daniel CUSSAC, Doyen du Département des Sciences
Pharmaceutiques – Faculté de Santé de Toulouse

JURY

Président :	Pr. Daniel CUSSAC	Doyen du Département des Sciences Pharmaceutiques – Faculté de Santé de Toulouse
1 ^{er} assesseur :	Pr. Bettina COUDERC	Professeur de Biologie Moléculaire et Biotechnologies – Institut Universitaire du Cancer de Toulouse
2 ^{ème} assesseur :	Pr. Patrick POUCHERET	Professeur de Pharmacologie – Institut Qualisud à Montpellier
3 ^{ème} assesseur :	Dr. Gladys MIREY	Directrice de recherche INRAE – Institut Toxalim à Toulouse
4 ^{ème} assesseur :	Dr. Gaëtan BELLOT	Chargé de recherche INSERM – Centre de Biologie Structurale à Montpellier

Personnel enseignant



PERSONNEL ENSEIGNANT du Département des Sciences Pharmaceutiques de la Faculté de santé au 4 avril 2022

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
Mme DERA EVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A.	Pharmacie Galénique
(*)	Pharmacognosie
Mme VANSTEELANDT M.	Mathématiques
Mme WHITE-KONING M. (*)	

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

M. AL SAATI A	Biochimie
Mme BAKLOUTI S.	Pharmacologie
Mme CLARAZ P.	Pharmacie clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
Mme LARGEAUD L	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie clinique
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme AMRANE Dyhia	Chimie Thérapeutique
------------------	----------------------

A ma famille

A la mémoire de mes deux grand-mères, Gisèle et Alice, qui auraient très probablement été très fières de me voir suivre des études de Pharmacie

A toutes celles et ceux qui, quels que soient leur statut et les obstacles qu'ils ou elles rencontrent, s'engagent pour la pédagogie, le bien-être des étudiants et le partage des sciences. « Le savoir triste est un savoir mort. » Voltaire

Remerciements

Ces années à la faculté de Pharmacie de Toulouse furent le théâtre d'aventures, de rebondissements, de succès et de peines. Elles furent l'occasion de vivre d'incroyables expériences associatives, politiques, hospitalières, officinales et estudiantines mais aussi de tirer d'enrichissantes leçons et de rencontrer une multitude de personnes différentes. Je me sens chanceuse et reconnaissante d'avoir pu être si bien entourée en ces temps heureux comme difficiles et tenais à remercier celles et ceux qui m'ont accompagnée et ont partagé avec moi tout ou partie de cette épopée.

Aux membres du jury de cette thèse :

Merci au **Professeur Daniel Cussac**, de m'avoir supportée – dans tous les sens du terme ! – tout au long de mon cursus Pharmaceutique dans les différents projets que j'ai pu entreprendre. Que ce soit avec la casquette de Professeur, Vice-doyen puis Doyen ou encore avec celle de directeur de thèse, merci d'avoir toujours été là pour moi. Je garderai un excellent souvenir de nos longues discussions sur ce que devraient être les études pharmaceutiques et espère un jour participer moi-aussi à leur évolution en tant que professeur. Merci d'avoir accepté de présider ce jury.

Merci au **Professeur Bettina Couderc** pour vos enseignements passionnants en Biotechnologies. Merci d'avoir été la première à m'écouter faire une présentation sur les ADN origamis il y a de cela quatre ans, un sujet qui a été un réel déclic pour moi.

Merci au **Professeur Patrick Poucheret** de croire en moi et de m'inclure dans vos palpitants projets pédagogiques et enseignements. Je suis très consciente de l'opportunité professionnelle que cela représente, en plus de m'apporter énormément de plaisir à réaliser !

Merci au **Docteur Gladys Mirey** de m'avoir accueillie dans son équipe pour mon tout premier stage de recherche. Merci pour tes nombreux conseils. Merci également d'être une femme si inspirante et de continuer à m'encourager même cinq ans après ce fameux stage. Tu es et resteras un vrai modèle pour moi.

Merci au **Docteur Gaëtan Bellot** de m'avoir acceptée dans son équipe pour travailler sur les ADN origamis et de toujours me pousser dans mes retranchements tout en me faisant confiance sur des projets tous plus passionnants les uns que les autres. J'espère que ce travail te plaira.

Vous jouez tous les cinq un rôle important dans mon évolution professionnelle, merci à vous de me faire l'honneur d'avoir accepté d'être membres de ce jury.

Aux membres de la faculté :

Merci au **Professeur Christophe Pasquier**, pour nos échanges, votre écoute et votre sollicitude à mon égard lors de vos mandats en tant que Doyen. Merci au **Professeur Brigitte Sallerin**, pour son dévouement envers les étudiants, la pédagogie et l'amélioration des études pharmaceutiques. Merci aux **Professeurs Elisa Boutet et Pierre Verhaeghe** ainsi qu'au **Docteur Anthony Lemarié** pour la mise en place et la gestion du parcours « Recherche » qui fut un élément clef de mon épanouissement à la faculté. Merci de m'y avoir accueillie. Enfin, merci à **Isabelle Algans** d'être toujours présente et attentive aux étudiants de la faculté.

A mes anciens et actuels collègues :

Merci à l'équipe de la Pharmacie du Jardin Royal et à celle de la Pharmacie Gensane à Toulouse, en particulier au **Docteur Adrien Vitrac**, à **Aurélié**, aux **deux Docteurs Gensane** et à **Florence**. Merci de m'avoir montré les richesses de l'officine et de m'avoir accueillie dans ce milieu passionnant.

To my former and current coworkers from the Center for Structural Biology of Montpellier, especially **Izabella, Léo C., Léo B., Mathilde, Manon, Nicolas, Allan, Thalès, Rémi, Odran, Assia** (Happy Birthday!) and to all the members of the team "Integrative Biophysics of Membranes" especially **Doctors Emmanuel Margeat and Pierre-Emmanuel Milhiet**: thank you all for making the CBS a great place to work at. Special thank you to **Solène** for sharing a brain with me. Let's hope we will somehow manage to get two PhD with half a brain each.

A mes amis :

Un infini merci à Alex et Esther, sans qui ces études pharmaceutiques n'auraient jamais été une telle aventure. Merci à tous les deux de ne jamais avoir jugé les folles idées que je pouvais proposer. Ça a été (et c'est toujours) un réel bonheur d'évoluer à vos côtés.

A **Alex**, une amitié qui a débuté par mimer des brins d'ADN pour expliquer la génomique à autrui ne pouvait que bien commencer. Mais c'est ton humour, ta détermination, ton intelligence et ton (énorme) grain de folie ainsi que nos innombrables projets complètement fous (mais réalisés !) qui l'auront fait perdurer. Merci d'avoir toujours les pieds sur terre et la tête dans les étoiles. Merci également pour ta patience à mon égard, merci de m'avoir toujours écoutée déblatérer sur l'ADN même jusqu'au bout de la nuit. Tu resteras toujours à mes yeux le « Best RM ever » (en attendant tu peux toujours nous emmener à Monaco).

A **Esther**. Que dire ? A toutes ces nuits blanches à travailler, développer de nouvelles idées, faire le tour de Toulouse en pyjamas pour trouver des idées de partenaires pour une association alors pas encore créée, rouler toute la nuit pour partir en élections ou en congrès. A tous ces projets les plus incroyables les uns que les autres. A nos histoires personnelles complètement décousues. A nos « ne pas dormir ça paye » (ça se paye aussi finalement...). D'un prêt de short dans ton appartement à Saint-Michel en soirée aux rendez-vous politiques et levées de fonds à Paris, on se sera suivies aux quatre coins de la France. Merci à toi pour toutes ces péripéties et bien sûr merci à Tintine de nous avoir emmenées partout.

Merci à **Linda B.**, pour nos discussions interminables et passionnantes sur le féminisme, la religion, la culture, la famille, la politique et bien sûr la science. A nos thés, nos carnets, nos longues promenades, nos ambitions. Je suis et resterai toujours très admirative de toi.

Merci à **Théo, Lina, Thomas, Clara et Marianne** pour nos discussions, nos débats, nos claps de fin et nos échanges. Je ne pense pas un jour ne pas me sentir intimidée en votre présence (même après un coloriage magique). Merci de me faire grandir à chaque discussion.

Merci à mon harem et en particulier à **Fabien** et **Vincent**, de m'avoir supportée pendant toutes ces années. A nos TP, laits chauds et autres frasques.

Merci aux femmes ambitieuses et inspirantes qui m'entourent et en particulier à **Johanna**, **Victoria** et **Margaux** qui ont toujours bien plus d'une brillante idée en tête.

Merci à **Jérémy** et **Gabriel**, pour nos voyages, nos débats et nos discussions pouvant être terriblement matures comme complètement stupides, mais toujours fantastiques à partager avec vous.

Merci à **Camille** et **Salomé**, pour nos sorties, la gastronomie, nos discussions sur l'officine et les dramas. Que ce soit dans les seringues de vaccin, les jacuzzis ou le champagne, notre fixette sur les bulles nous aura réunies.

Merci à mes amies de toujours, **Cécile**, **Marie B.**, **Julia**, **Grâce**, **Émilie** et **Léa**, de m'avoir toujours soutenue même sans ne rien comprendre à ce que je faisais. Merci pour nos discussions et pour vos caractères si différents et passionnés.

Merci à **Karine**, pour ta folie, tes conseils et pour me rappeler souvent à quel point il est important de ne pas faire que travailler.

Merci à **Eva** et à la **famille Coen**, en particulier à **Benjamin** et **Claire-Sarah**, pour leur bienveillance et leur générosité.

Merci à **Raphaël**, pour nos échanges toujours palpitants et pour avoir très grandement contribué à faire du TTEP ce qu'il est aujourd'hui.

Merci à **Julie** et **Marc**, je n'ai pas grand-chose à écrire en dehors du fait que vous êtes aussi parfaits que la famille baleine. Merci pour votre naturel, votre soutien inconditionnel, votre vivacité et votre humour sans limite.

Merci à **Benjamin Z.**, pour tes folies et tes valeurs. Merci de m'aimer comme je suis et d'être le meilleur ami dont on puisse rêver.

Thank you, **Wil**. For being so patient, funny, smart, passionate, and caring. Thank you for your kindness, for always being there for me. Thank you for supporting me even when I am crying, laughing, and working at the same time. Never in my wildest dreams I would have hoped to have a boyfriend like you. I am very fortunate.

A ma famille :

Merci à **ma tante Linda**, pour nos moments hors du temps dans ton havre de paix. Merci pour tes conseils, ton expérience, nos longues et passionnantes discussions en musique autour d'un « thé » (cidre serait très certainement le mot plus approprié).

Merci à mes parents.

Merci à **mon père**, le vrai Dr. Finkel J., de m'avoir toujours soutenue et laissée commettre les erreurs que je devais faire. Merci de m'avoir transmis ton plaisir d'apprendre, ta curiosité et ta rigueur. De m'avoir appris à « faire une activité pour m'en reposer d'une autre », de m'avoir appris ce qu'était une passion d'avoir tout fait pour que j'en ai plusieurs. Merci de m'avoir toujours encouragée à me dépasser tout en me remettant en question constamment. Merci pour tout. J'espère un jour atteindre ton niveau de connaissances et de compréhension en Pharmacologie.

Merci à **ma mère** de me faire une confiance aveugle, malgré ses inquiétudes plus ou moins mesurées. Merci de m'avoir appris à parler en public, convaincre, négocier, à me faire confiance, à prendre soin des gens. Merci de m'avoir appris que pour y arriver, il faut oser. Je n'en serais pas là sans toi et j'espère avoir un jour ne serait-ce qu'un dixième de ton charisme. Je te promets d'un jour arrêter de me coucher après minuit. Merci à tous les deux et à **Ode** pour votre amour inconditionnel, votre générosité et votre soutien même dans les moments les plus difficiles. Merci de m'avoir toujours écoutée lorsque ça n'allait pas, mais aussi lorsque ça allait « trop ». J'espère que vous êtes aussi fiers de moi que je le suis de vous.

Merci à **ma petite sœur Anne-Sophie**. A notre complicité, nos fous rires en un regard, notre télépathie. Merci d'être toujours là pour moi et de me faire toujours autant rire. (PS : Au moins je ne t'ai pas oubliée dans les remerciements, MOI).

Pour conclure : Merci à toutes et à tous, j'ai une chance inouïe d'être si bien entourée.

Table des matières

Personnel enseignant	1
Remerciements	4
Table des matières	9
Liste des figures	11
Abréviations	16
Introduction : Histoire et structure de l'ADN	17
Partie 1 :	22
Principe, histoire et méthodes de production des ADN origamis	22
I. Principe et histoire des ADN origamis	23
1. 1964 – 1993 : Une histoire de jonctions.....	23
2. 2003 – 2004 : Les premiers scaffolds.....	25
3. 2006 : Les origamis ADN en deux dimensions.....	27
4. 2009 : Les origamis ADN en trois dimensions.....	28
5. 2009 – 2011 : Les origamis ADN courbés	29
II. Méthodes de production des ADN origamis	31
1. Généralités	31
2. Etape 1 : Choix de la forme.....	31
3. Etape 2 : Design	32
3.1. Règles de design.....	32
3.2. Logiciels de design	35
3.3. Logiciels d'analyse et modélisation.....	38
4. Etape 3 : Préparation du scaffold et synthèse des agrafes.....	38
4.1. Préparation du scaffold.....	38
4.2. Synthèse des agrafes.....	40
5. Etape 4 : Préparation d'aliquotes d'agrafes	42
6. Etape 5 : Auto-assemblage : « Folding ».....	42
7. Etape 6 : Purification et analyse de la qualité de folding	44
8. Etape 7 : Analyse des détails structuraux.....	46
9. Oligomérisation/Polymérisation	47
III. Conclusion	51
Partie 2 :	53
Potentielles applications thérapeutiques des ADN origamis	53
I. Adressage des ADN origamis	54
II. Potentielles applications thérapeutiques	55
1. Potentielles applications en néphrologie	55
2. Potentielles applications en diabétologie.....	57
3. Potentielles applications en hépatologie	58
4. Potentielles applications en inflammation, infectiologie et immunologie.....	59
4.1. Inflammation.....	59
4.2. Bactéries	60
4.3. Virus	61
5. Potentielles applications en cancérologie	64

5.1.	Drug delivery de doxorubicine	64
5.2.	Nanorobot et relargage de thrombine.....	66
5.3.	Clustering de récepteurs induisant l'apoptose	67
Conclusion.....		68
Bibliographie.....		69
Annexes		79
Abstract en Anglais		85
Résumé en Français.....		86

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique d'un nucléotide (base + sucre + groupement phosphate). Crédit image : OpenStax college	18
Figure 2 : Cliché 51 : Image obtenue par cristallographie aux rayons X d'un pseudo-cristal fait de fibres d'ADN, ayant permis de contribuer à élucider la structure en double hélice droite (forme B) de l'ADN. Par Raymond Gosling et Rosalind Franklin, 1952 [7].	19
Figure 3 : Structure chimique d'une double hélice droite d'ADN, forme B [8]	20
Figure 4 : Diamètre et pas de l'hélice d'une double hélice forme B d'ADN	21
Figure 5 : A : Jonction immobile, B : Jonction semi-mobile, C : Réseau en deux dimensions, D : Réseau en trois dimensions. Ned Seeman, 1982 [13].....	24
Figure 6 : Modèle de double cross-over, conférant davantage de rigidité à la structure en ADN [19]	24
Figure 7 : Auto-assemblage d'un code barre en ADN (le scaffold est représenté en orange dans les différentes figures). a : Représentation d'une brique et des différents cross-overs qui la composent, b : représentation schématique d'une couche de la structure finale (à gauche) et de la structure finale (à droite), c : représentation des brins d'ADN d'une couche de la structure finale, d : visualisation en microscopie à force atomique (AFM) [21]	25
Figure 8 Design d'un octaèdre en ADN. a : Structure finale tri-dimensionnelle (3D) de l'octaèdre, b : Structure secondaire de l'intermédiaire, formé du scaffold (en noir) et des cinq 4-mers (en bleu ciel). Les autres couleurs représentent les brins qui vont s'associer dans un second temps par cross-over pour former les angles et la structure 3D de l'octaèdre, c : Schéma des cross-over pour replier la structure en octaèdre. [22]	26
Figure 9 : Design d'un origami en 2D. Le brin noir représente le scaffold, les brins colorés les agrafes. [23].....	27
Figure 10 : Différentes formes en ADN origami : design et vue en AFM. Barres d'échelles : b : 1 micromètre, c-f : 100 nm [23]	28
Figure 11 : Design d'un ADN origami 3D. a : Schéma 2D de la forme cible déroulée. Le scaffold est représenté en gris, les agrafes en orange, blanc et bleu, b : Modèle cylindrique d'une structure intermédiaire. Chaque cylindre représente une double	

hélice, c : Modèle cylindrique 3D de la structure cible une fois repliée, d : Modèle atomistique réalisé à partir de la forme présentée en c.	28
Figure 12 : Modélisation de nanostructures courbes ou twistées réalisables en ADN origami et développées dans la publication de Dietz et al. [25] Credit image : Center For Integrated Protein Science Munich.....	29
Figure 13 : Couverture du journal Science paru le 15 Avril 2022. Volume 332, Numéro 6027. Modélisation des nanostructures ADN à courbes complexes réalisables développées dans la publication de Han et al. [28]	30
Figure 14 : Etapes de production d'un ADN origami [29].....	31
Figure 15 : Différents agencements possibles de double hélices d'ADN. Chaque cylindre représente une double hélice. A : Agencement en carrés (à gauche), agencement en nids d'abeilles (à droite) [29]. B : Agencement en hexagone [32]....	32
Figure 16 : Concept du design d'ADN origamis. Le scaffold est représenté en blanc (hors cylindres), les agrafes en couleurs [29]. a : Différentes représentation d'une double hélice d'ADN seule, b : Différentes représentations des jonctions (multiples cross-overs) entre deux doubles hélices d'ADN adjacentes, c : Représentation du chemin d'un scaffold seul pour différentes formes (ne se maintiendrait pas seul comme cela, il s'agit seulement d'une représentation), d : Scaffold et agrafes maintenant le scaffold dans différentes formes, e : Représentation de différentes nanostructures (un cylindre étant une double hélice d'ADN).....	33
Figure 17 : Design d'angles pour des origamis multicouches. De gauche à droite : Section transversale d'un ADN origami multicouches (A et B : agencement en nids d'abeilles, C : agencement en carrés), modélisation de l'angle d'un origami 3D multicouches en vue de côté (au milieu à gauche) et vue de dessus (au milieu à droite), diagramme de brins de la section montrée dans les modélisations (les lignes colorées en pointillés indiquent les segments de la double hélices supprimés pour produire l'angle). [34]	35
Figure 18 : Interface du logiciel caDNAno et processus d'utilisation. a : Capture d'écran de l'interface de caDNAno tel que décrit en 2009. A gauche : vue transversale d'un agencement d'hélices en nids d'abeilles, où les doubles hélices peuvent être ajoutées au design. Au milieu : Panneau permettant l'édition du scaffold et des hélices. A droite : Panneau de rendement affichant une modélisation 3D en temps réel de la structure (n'existe plus dans la version actuelle du logiciel : version 2.5.2), b : Design exporté au format SVG de la structure présentée en a, avec le scaffold (en bleu foncé), les agrafes	

(en couleurs) et leurs séquence, c : Panneau d'édition au début du design : de courts brins correspondant au scaffold (flèches bleues) sont ajoutées au panneau au fur et à mesure que les hélices sont ajoutées dans le panneau montrant la vue transversale, d : Panneau d'édition après que l'utilisateur ait transformé les brins présents en c en un scaffold circulaire de la longueur désirée, e : Panneau d'édition après avoir activé la fonction « autostapling » qui permet de générer un set par défaut d'agrafes ainsi que leurs cross-overs. L'optimisation du design selon les règles précédemment citées doit être faite à la main. Ensuite, on peut générer les séquences des staples, f : Modèle 3D exporté depuis le panneau de rendement [35]. 36

Figure 19 : Vue d'ensemble du rapide développement des logiciels de design ou d'analyse (en haut de la frise) ainsi que certaines nouveautés expérimentales (en bas de la frise) dans le champ des nanotechnologies à base d'ADN (pas uniquement ADN origamis) [36] 37

Figure 20 : Exemple de deux méthodes différentes pour obtenir un scaffold de taille réduit par rapport au génome du bactériophage M13. A : En haut : Production normale de scaffold (détaillée dans le premier paragraphe), en bas : Production de scaffold de taille réduite telle que décrite par l'équipe de Dietz en 2019 [45], B : Production d'un scaffold de taille réduite par excision et ligation de séquences du scaffold, méthode décrite par Said et al. en 2013 [46]. 39

Figure 21 : Méthode de production de scaffold simple brin. A : PCR avec une amorce biotinylée en 3', B : Le produit de PCR est liée à des billes magnétiques coatées de streptavidine, C : Dénaturation des brins d'ADN par dilution dans une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH), le brin non biotinylé est alors collecté et utilisé comme scaffold [47]. 40

Figure 22 : Etapes de la production biotechnologique d'agrafes et de scaffold [52] 41

Figure 23 : Analyse du folding d'un origami par électrophorèse sur gel d'agarose. Sens de migration : du haut vers le bas. M : Marqueur. Bande très épaisse en bas du gel : excès d'agrafes. 45

Figure 24 : Comparaison de différentes méthodes de purification d'ADN origamis [34] 46

Figure 25 : Reconstruction en cryo-microscopie électronique (cryo-EM) d'un ADN origami en 3D. A : Représentation schématique du design (coupe transversale) comprenant 82 doubles hélices parallèles agencées en carrés, B : Image de

microscopie électronique (barre d'échelle : 50 nm, C : Classifications 2D, D : Six vues orthogonales de la reconstruction 3D réalisées à partir d'images de cryo-EM.....	47
Figure 26 : Illustration schématique de la stratégie d'assemblage de la nanowinch. Celle-ci comprend deux origamis pour former un trimère grâce à un ratio 1:2 (un piston central et deux jambes) [59].....	48
Figure 27 : A : Illustration du base-stacking dans l'ADN (intrabrin, en vert) [67], B : Modélisation de l'assemblage d'ADN par complémentarité de forme, stabilisée par base-stacking [66].....	49
Figure 28 : Réseau de tuiles en origami s'agencant dans un ordre précis pour représenter la Joconde. a : Design d'une tuile en ADN origami, b : Modelisation de l'organisation des tuiles les unes par rapport aux autres, c : Assemblage en réseau des tuiles (2x2, 4x4 et 8x8) sans motif, vue en AFM, d : Rendement estimé des réseaux sans motif, e : Assemblage en réseau des tuiles (2x2, 4x4 et 8x8) avec motif, vue en AFM, f : Rendement estimé des réseaux avec motif [65]	50
Figure 29 : A : Principe du déplacement de tuiles d'ADN origamis, B : Design et observation en AFM du jeu du morpion [68]	51
Figure 30 : ADN origami comme piège des ROS [77,78]	55
Figure 31 : Mécanisme d'action du nanoraft dans l'insuffisance rénale aiguë d'origine ischémique [80].....	56
Figure 32 : Mécanisme d'action de l'origami anticoagulant décrit par Zhao, Tian, Liu et al. [81]	57
Figure 33 : Chargement du siRNA sur l'ADN origami	58
Figure 34 : FA-tDONs : Mécanisme d'action d'un origami ADN dans le cadre d'une inflammation chronique (la polyarthrite rhumatoïde) [86].....	59
Figure 35 : Design de l'origami à visée antibactérienne [87]	60
Figure 36 : Origami ADN en forme de virus (icosaédrique) présentant 10 copies de l'antigène eOD-GT8 (barre d'échelle = 10 nm) [88]	61
Figure 37 : Design et modélisation des capsides (en haut) puis vue en cryo-EM et reconstructions 3D des capsides piégeant les particules virales d'HBV [89].....	62
Figure 38 : Différentes techniques de neutralisation de virus par encapsidation [90–93]	63
Figure 39 : Design et évolution in vivo du DOX/DNA origami.....	65
Figure 40 : Représentation schématique d'un ADN origami fonctionnalisé avec des folates pour le relargage ciblé de doxorubicine [98]	65

Figure 41 : Composition et mode d'action du nanorobot développé par Li et al. [72,99]
.....66

Figure 42 : Mode d'action de l'origami décoré d'analogues du TNF permettant le
clustering des récepteurs DR5 et ainsi le déclenchement de l'apoptose dans les
cellules tumorales [100]67

Abréviations

2D : Deux dimensions

3'(OH) : Extrémité de l'ADN à la fin du brin

3D : Tridimensionnel, Trois dimensions

5'(P) : Extrémité de l'ADN au début du brin

A : Adénine

AAV : Virus adéno-associé

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

AFM : Microscopie à Force Atomique

ARN : Acide Ribonucléique

C : Cytosine

Cryo-EM : Cryo-microscopie électronique

DON : DNA Origami Nanostructure

DOX : Doxorubicine

E. coli : *Escherichia coli*

G : Guanine

HBV : Virus de l'hépatite B

hIAPP : Polypeptide amyloïde humain des îlots

ILC2s : Cellules lymphoïdes innées de type 2

kb : kilobases

MgCl₂ : Chlorure de magnésium

NAFLD : Stéatose hépatique non alcoolique

NaOH : Hydroxyde de sodium, soude

NASH : Stéatohépatite non alcoolique

nm : nanomètre

PCR : Polymerase Chain Reaction

PEG : PolyÉthylène Glycol

PR : Polyarthrite rhumatoïde

ROS : Reactive Oxygen Species

pb : Paires de bases

T : Thymine

TNF : Facteur de nécrose tumorale

U : Uracile

Introduction : Histoire et structure de l'ADN

L'ADN, ou acide désoxyribonucléique, est principalement connu pour son rôle de support de l'information génétique. En d'autres termes, les gènes sont composés d'ADN et se transmettent de façon héréditaire, comme démontré par Oswald Avery en 1944 [1]. Ici, nous étudierons non pas cette fonction mais comment la structure propre de l'ADN peut-elle être utilisée afin de synthétiser des structures d'intérêt thérapeutique à l'échelle du nanomètre (nanostructures), un nanomètre étant dix millions de fois plus petit qu'un centimètre. A titre de comparaison, l'épaisseur d'un cheveu mesure 80 000 à 100 000 nanomètres.

En 1869, le chimiste suisse Friedrich Miescher fut le premier à isoler et identifier l'ADN comme étant une molécule distincte des protéines et des lipides, ayant une haute teneur en Phosphore. L'ayant tout d'abord isolée de noyaux de leucocytes (globules blancs) humains, il l'appela « nucléine », terme que l'on peut retrouver dans le nom actuel de l'ADN : acide désoxyribonucléique. [2]

Au début du XXe siècle, Phoebus Levene réalisa de nombreux travaux sur la composition de l'ADN et de l'ARN (acide ribonucléique) qu'il résuma notamment lors d'une publication en 1919 [3]. Ceux-ci permirent de mettre en évidence que l'ADN est une succession de nucléotides, chaque nucléotide se composant d'un sucre, d'une base azotée et d'un groupement phosphate. Dans le cas de l'ADN, le sucre comporte cinq atomes de carbone : c'est un désoxyribose. Les bases sont au nombre de quatre : l'adénine (A), la thymine (T), la guanine (G) et la cytosine (C). Elles sont regroupées en deux groupes chimiques : les bases puriques (G, A) qui sont composées de deux cycles et les bases pyrimidiques (C, T) qui ne sont composées que d'un cycle (Figure 1). A noter que dans le cadre de l'ARN, le sucre est un ribose comportant également cinq atomes de carbone et il existe une base pyrimidique supplémentaire : l'uracile (U). Levene propose alors également l'hypothèse de « tétranucléotide » selon laquelle l'ADN serait composé d'une séquence de quatre nucléotides (GCAT) qui se répèterait toujours dans le même ordre.

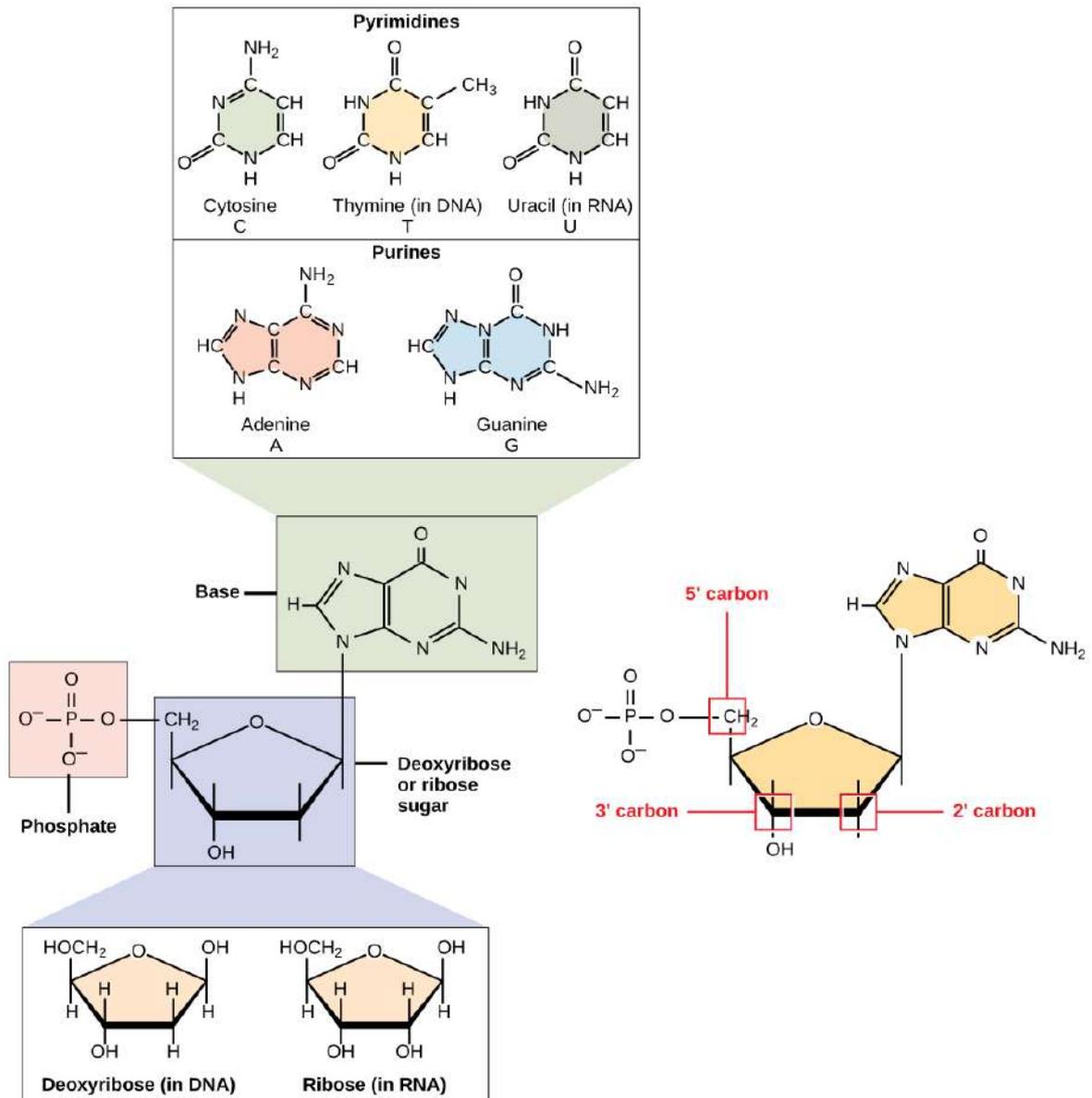


Figure 1 : Structure chimique d'un nucléotide (base + sucre + groupement phosphate). Crédit image : OpenStax college

En 1950, Erwin Chargaff [4] réfute la théorie de tétranucléotide de Levene en démontrant que les taux de bases pyriques et pyrimidiques varient d'un organisme à l'autre (nous noterons que les autres conclusions de Levene rapportées à la page précédente restent non réfutées à l'heure actuelle). Chargaff décrit dans cette même publication une loi qui prendra le nom de « Première loi de Chargaff » ou encore « Première règle de Chargaff » qui stipule que le ratio de bases puriques sur pyrimidiques est égal à 1, tout comme le ratio adénine sur thymine ainsi que le ratio guanine sur cytosine. En d'autres termes, le pourcentage d'adénine est égal au

pourcentage de thymine et le pourcentage de guanine est égal au pourcentage de cytosine dans une molécule d'ADN ($A = T$ et $G = C$).

La validation ultime de cette loi eu lieu trois ans plus tard en 1953, lors de la parution dans *Nature* de la publication de James Watson et Francis Crick sur la structure secondaire de l'ADN [5]. Ils mirent alors en évidence que l'ADN a la structure d'une double hélice droite (« forme B » de l'ADN), chaque brin étant composé d'une succession de nucléotides. Les deux brins sont liés par l'appariement de bases deux à deux : l'adénine avec la thymine, la guanine avec la cytosine. Ce phénomène explique alors la loi de Chargaff.

Afin d'arriver à ces conclusions, Watson et Crick se sont appuyés sur les publications précédemment citées ici ainsi que sur les travaux expérimentaux de Maurice Wilkins [6] et Rosalind Franklin. En particulier, le « cliché 51 » (Figure 2) obtenu en 1952 par Raymond Gosling sous la direction de Rosalind Franklin et mettant en évidence la diffraction aux rayons X de fibres d'ADN [7] fut déterminant pour la résolution de la structure de l'ADN. Watson, Crick et Wilkins obtinrent le Prix Nobel de Médecine en 1962 pour cette découverte.

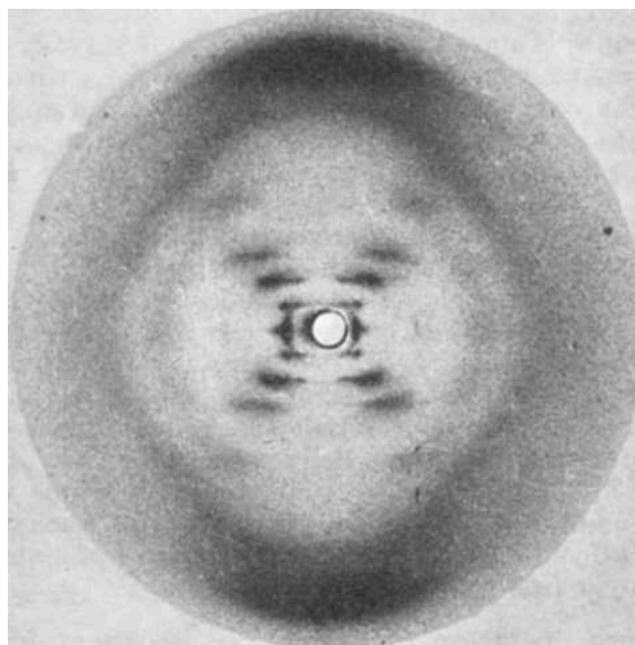


Figure 2 : Cliché 51 : Image obtenue par cristallographie aux rayons X d'un pseudo-cristal fait de fibres d'ADN, ayant permis de contribuer à élucider la structure en double hélice droite (forme B) de l'ADN. Par Raymond Gosling et Rosalind Franklin, 1952 [7].

A l'heure actuelle, on sait donc que l'ADN est une double hélice dont les deux brins sont complémentaires : les bases des deux brins s'apparient deux à deux par liaisons hydrogènes (deux liaisons entre le A et le T, trois entre le C et le G).

Chaque nucléotide est composé d'un ensemble base + sucre + phosphate (Figure 1), on dit que l'ADN a un squelette « ose-phosphate » ou « sucre-phosphate » (représenté par les flèches grises sur la Figure 3).

Chaque nucléotide est lié au suivant par une liaison phosphodiester. Ainsi, le groupement Phosphate relie le sucre d'un nucléotide (désoxyribose) à celui du suivant via les carbones 3' et 5' du sucre (les atomes de carbone des molécules de désoxyribose sont toujours numérotés de 1' à 5', voir Figure 1). Comme chaque brin d'ADN est un enchaînement de base, désoxyribose et phosphate, on observe qu'à l'extrémité d'un brin se trouve une extrémité « 5'P » (atome de carbone numéro 5' lié au groupement phosphate) tandis qu'à l'autre extrémité du brin se trouve une extrémité « 3'OH » (atome de carbone numéro 3' libre, non lié à un groupement phosphate). Les extrémités libres des sucres définissant l'orientation des brins, on dit par convention que chaque brin est orienté « du 5' au 3' ». L'ADN est composé de deux brins antiparallèles, c'est-à-dire que l'extrémité 5' d'un brin fait face à l'extrémité 3' du second (Figure 3). [8]

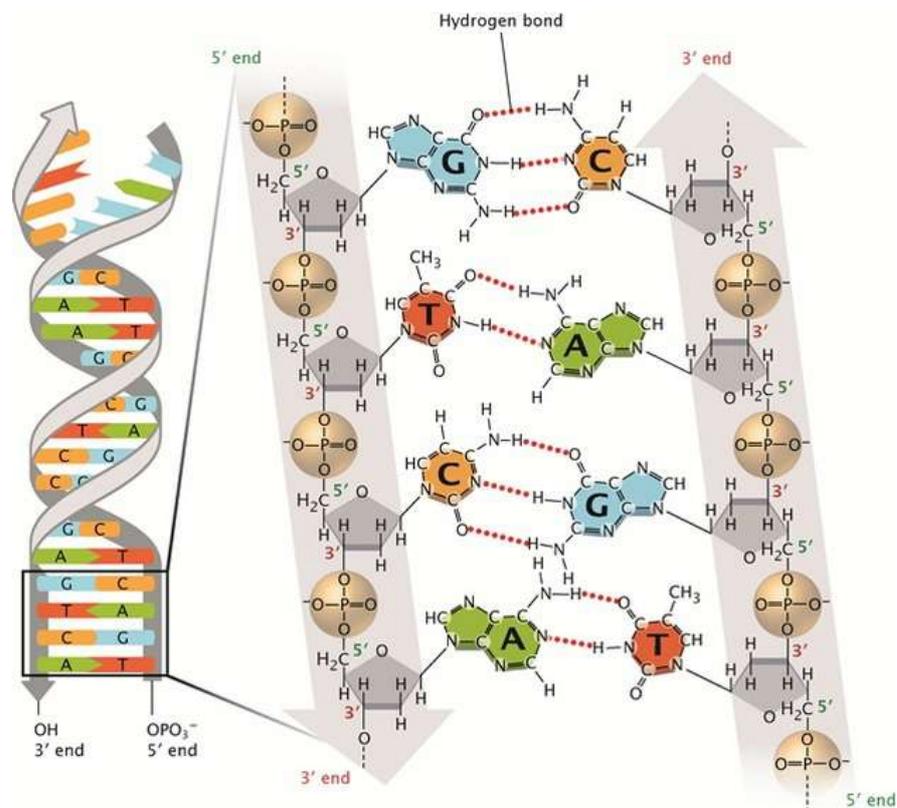


Figure 3 : Structure chimique d'une double hélice droite d'ADN, forme B [8]

En termes de taille et proportions, une double hélice d'ADN de forme B comporte un petit sillon ainsi qu'un grand sillon et mesure environ 2 nanomètres (nm) de diamètre. Le pas de l'hélice mesure 3,4 nm et correspond à 10 à 10,5 paires de bases (pb). [9] (Figure 4).

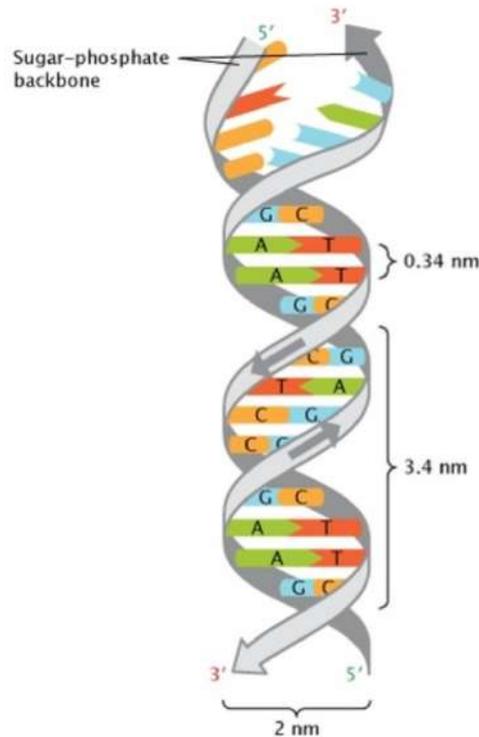


Figure 4 : Diamètre et pas de l'hélice d'une double hélice forme B d'ADN

Différentes formes d'ADN existent (formes A, B et Z) (Annexe 1) [10]. Également, d'autres appariements de bases et structures de l'ADN dites « non canoniques » peuvent être retrouvées dans la nature (appariements de Hoogsteen, épingles à cheveux, ADN cruciforme, triplex d'ADN, G-quadruplex, i-motifs) (Annexe 2, Annexe 3). Celles-ci sont impliquées dans la régulation de l'expression des gènes, la stabilité génétique, les dommages et réparations de l'ADN et peuvent ainsi jouer un rôle dans le développement de certaines pathologies [11]. Dans cette thèse, nous traiterons uniquement de la forme B de l'ADN, qui est la forme prédominante dans la nature.

Nous étudierons dans un premier temps le principe, l'histoire et la production des ADN origamis. Puis, nous verrons quelles sont leurs potentielles applications thérapeutiques.

Partie 1 :

Principe, histoire et méthodes de production des ADN origamis

Partie 1 : Principe, histoire et méthodes de production d'ADN origamis

I. Principe et histoire des ADN origamis

1. 1964 – 1993 : Une histoire de jonctions

En 1964, Robin Holliday met en évidence un type de jonctions mobiles entre quatre brins d'ADN (deux doubles hélices) afin d'expliquer un phénomène d'échange d'information génétique : la recombinaison homologue (Annexe 4) [12].

En 1982, Ned Seeman s'inspire de ces jonctions afin de concevoir des jonctions cette fois immobiles (Figure 5A) et semi-mobiles (Figure 5B) en maximisant les appariements de base de Watson, Crick, Wilkins et Franklin (A-T, C-G) [5] [6] [7], notamment en contraignant la symétrie des séquences d'ADN. Ainsi, il démontre qu'il est possible de générer des séquences d'ADN qui s'associent pour former préférentiellement des jonctions immobiles plutôt que des duplex linéaires comme elles le feraient normalement. Il présente également des modèles de réseaux en deux dimensions (Figure 5C) et en trois dimensions (Figure 5D) grâce à des extrémités cohésives permettant à deux jonctions de se polymériser par appariement de brins. [13] [14]. Cette publication marque le début des nanotechnologies dites « Nanotechnologies à base d'ADN », dont Ned Seeman sera considéré comme le pionnier.

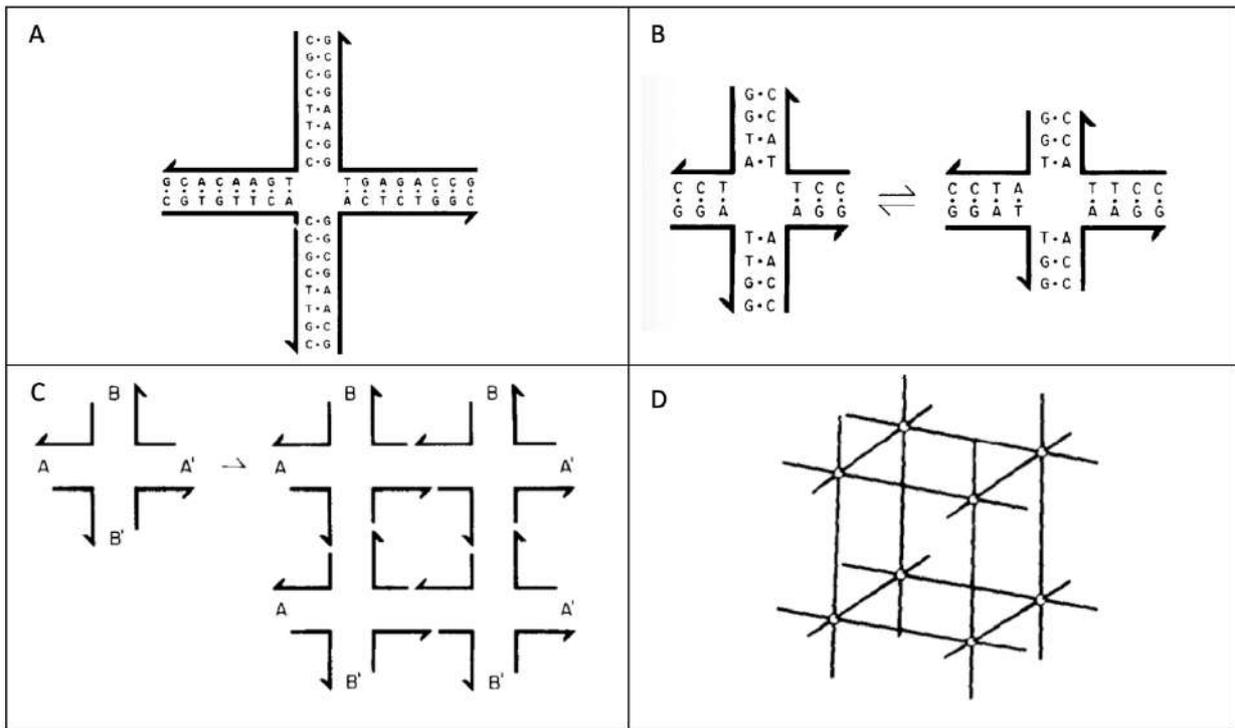


Figure 5 : A : Jonction immobile, B : Jonction semi-mobile, C : Réseau en deux dimensions, D : Réseau en trois dimensions. Ned Seeman, 1982 [13]

Bien que le concept selon lequel l'ADN pourrait également être utilisé comme matériel de construction fut révolutionnaire, les premières tentatives de création de réseaux de nanostructures en ADN à la fin des années 1990 furent un échec. En effet, la rigidité mécanique de simples jonctions immobiles polymérisées grâce à des extrémités cohésives n'était pas suffisante pour créer les réseaux envisagés précédemment (Figure 5C par exemple) [15]. Afin de renforcer la rigidité des nanostructures et d'ainsi permettre leur développement [16], l'utilisation de multiples cross-over se répandit (un cross-over étant un croisement entre deux simples brins de deux doubles hélices d'ADN différentes, voir Figure 6) [17]. Cette utilisation fut basée sur le motif de double cross-over étudié par Ned Seeman en 1993. [18]

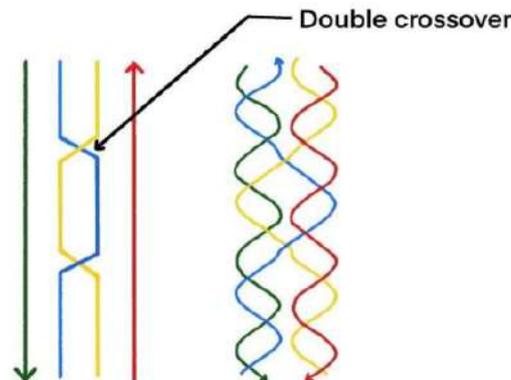


Figure 6 : Modèle de double cross-over, conférant davantage de rigidité à la structure en ADN [19]

Cependant, les limites théoriques de ces assemblages étaient possiblement infinies, ceux-ci pouvant donc ne pas être uniformes en taille et en forme. Ainsi, la synthèse précise de nanostructures potentiellement adressables et utilisable pour des applications demeurait à l'époque un challenge. [20]

2. 2003 – 2004 : Les premiers scaffolds

En 2003, Yan *et al.* [21] furent les premiers à introduire la notion de « scaffold » dans le monde des nanotechnologies à base d'ADN, dans l'objectif de réaliser un code barre en ADN. Le scaffold (ou « échafaudage » en Français) était alors un long ADN simple brin synthétisé par la ligation de différents courts brins d'ADN simple brins (oligonucléotides) utilisé comme trame pour l'assemblage d'autres oligonucléotides par appariement de bases et doubles cross-over (Figure 7).

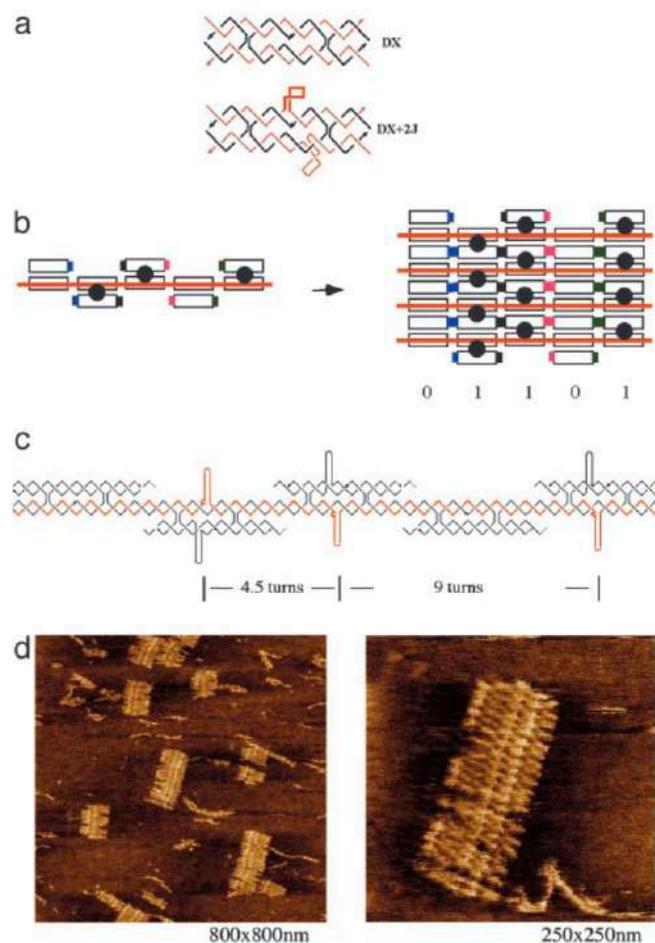


Figure 7 : Auto-assemblage d'un code barre en ADN (le scaffold est représenté en orange dans les différentes figures). a : Représentation d'une brique et des différents cross-overs qui la composent, b : représentation schématique d'une couche de la structure finale (à gauche) et de la structure finale (à droite), c : représentation des brins d'ADN d'une couche de la structure finale, d : visualisation en microscopie à force atomique (AFM) [21]

Un an plus tard, en 2004, Shih *et al.* [22]. publièrent dans *Nature* leurs travaux sur l'utilisation d'un scaffold (long ADN simple brin) de 1669 bases directement conçu et synthétisé puis replié en octaèdre grâce à son appariement avec cinq 40-mers (simples brins d'ADN composés chacun de 40 bases). Ce repliement fut réalisé par dénaturation-renaturation, la dénaturation étant l'action de séparer les deux brins d'une même double hélice (par exemple en augmentant la température afin de rompre les liaisons hydrogène entre les bases de deux brins) et la renaturation étant l'action de restaurer ces liaisons hydrogène et d'ainsi reformer la double hélice (par exemple en diminuant la température). Dans cette publication, le repliement fut conçu pour se dérouler en deux étapes, la structure ayant un intermédiaire où le scaffold et les 40-mers s'arrangent en une structure ramifiée (Figure 8b) avant de se replier en octaèdre pour former la structure finale (Figure 8a) grâce à des cross-over (Figure 8c). Cette publication annonça les prémices des ADN origamis, qui virent le jour deux ans plus tard.

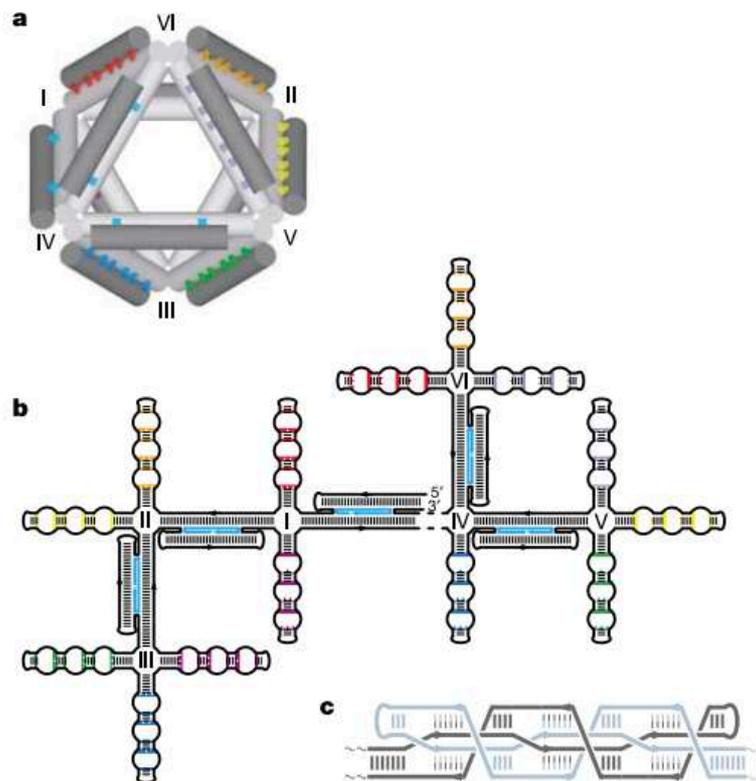


Figure 8 Design d'un octaèdre en ADN. a : Structure finale tri-dimensionnelle (3D) de l'octaèdre, b : Structure secondaire de l'intermédiaire, formé du scaffold (en noir) et des cinq 4-mers (en bleu ciel). Les autres couleurs représentent les brins qui vont s'associer dans un second temps par cross-over pour former les angles et la structure 3D de l'octaèdre, c : Schéma des cross-over pour replier la structure en octaèdre. [22]

3. 2006 : Les origamis ADN en deux dimensions

C'est en 2006 que Paul Rothemund, s'inspirant des travaux précédemment mentionnés, publie une nouvelle méthode d'auto-assemblage de l'ADN en nanostructures à la géométrie et taille contrôlées : les ADN origamis [23]. Tout comme la technique japonaise de repliement du papier pour réaliser une structure déterminée, l'idée ici est de replier un long brin d'ADN simple brin (le scaffold, en noir sur la Figure 9) en une forme pré-déterminée grâce à l'ajout d'oligonucléotides complémentaires qui le maintiendront dans une forme précise : les agrafes (ou staples, en couleurs sur la Figure 9).

Pour cela, il utilise comme scaffold un ADN simple brin circulaire de 7 kilobases (kb) dérivé du génome du virus M13mp18 (bactériophage), dont la séquence est connue. Il conçoit alors 200 à 250 oligonucléotides simple brin d'une trentaine de bases chacun : les agrafes. Ces agrafes sont conçues de façon à avoir différents domaines complémentaires avec différentes parties du scaffold afin « d'agrafer » et de maintenir le scaffold dans la forme programmée grâce à l'appariement de bases entre les staples et le scaffold.

Ainsi, Rothemund met en évidence une nouvelle méthode d'auto-assemblage de l'ADN en deux dimensions (2D) programmable et précise à l'échelle du nanomètre. De ce fait, il s'affranchit des limitations précédemment mentionnées concernant les méthodes d'auto-assemblages alors traditionnelles (polymérisation potentiellement infinie, manque de contrôle précis de la taille et de la forme) et apporte une technique qui permet d'avoir un meilleur rendement de synthèse ainsi que de s'affranchir de la dépendance stœchiométrique liées aux méthodes alors traditionnelles.

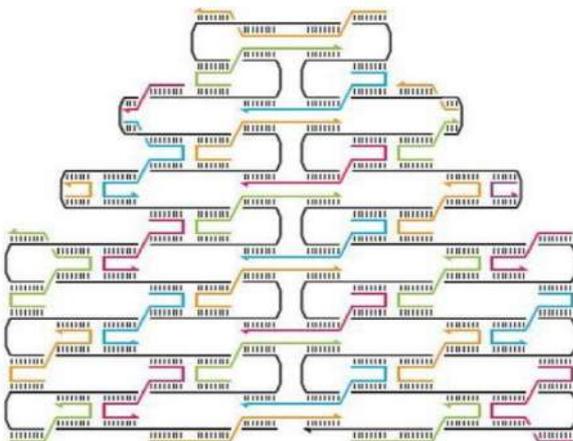


Figure 9 : Design d'un origami en 2D. Le brin noir représente le scaffold, les brins colorés les agrafes. [23]

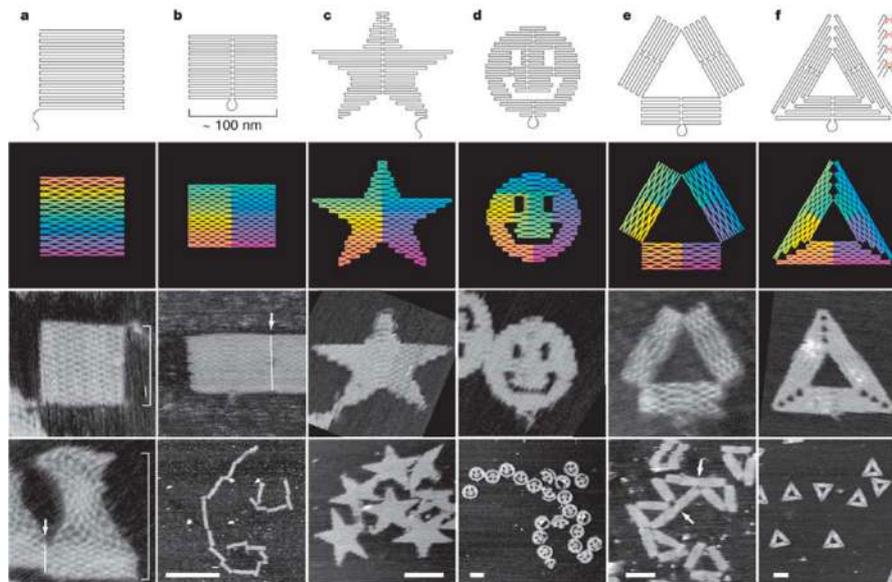


Figure 10 : Différentes formes en ADN origami : design et vue en AFM. Barres d'échelles : b : 1 micromètre, c-f : 100 nm [23]

4. 2009 : Les origamis ADN en trois dimensions

En 2009, Douglas *et al.* étendirent cette méthode à la réalisation d'origamis ADN en trois dimensions [24], permettant ainsi d'obtenir un auto-assemblage programmable de nanostructures 3D de 10 à 100 nm avec une haute précision. Sont obtenues alors plusieurs couches de doubles hélices d'ADN agencées entre elles en forme de nid d'abeilles (Figure 11). La possibilité de réaliser des structures 3D en ADN permet d'ouvrir un champ d'applications plus large lié à des nanostructures plus sophistiquées comme nous le verrons dans la suite de cette thèse.

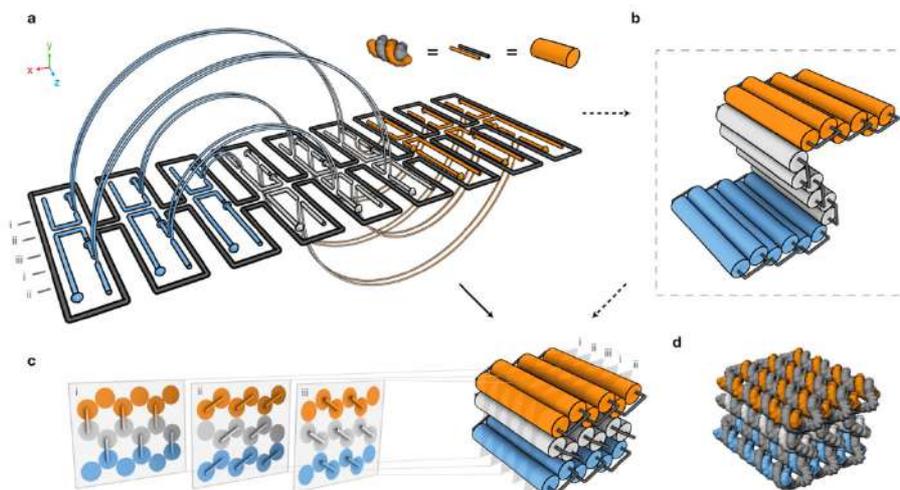


Figure 11 : Design d'un ADN origami 3D. a : Schéma 2D de la forme cible déroulée. Le scaffold est représenté en gris, les agrafes en orange, blanc et bleu, b : Modèle cylindrique d'une structure intermédiaire. Chaque cylindre représente une double hélice, c : Modèle cylindrique 3D de la structure cible une fois repliée, d : Modèle atomistique réalisé à partir de la forme présentée en c.

5. 2009 – 2011 : Les origamis ADN courbés

Toujours en 2009, *Dietz et al.* publient dans *Science* une méthode afin de réaliser des structures tridimensionnelles en ADN origami comportant des twists et des courbures contrôlés [25]. Pour cela, ils conçoivent des nanostructures origamis dont les hélices d'ADN sont disposées en nid d'abeilles, et prévoient dans le design de la structure des insertions ou délétions ciblées de bases sur certaines hélices. De ce fait, les hélices comportant une ou plusieurs insertions/délétions par rapport aux hélices adjacentes exercent un stress sur celles-ci, induisant ainsi une torsion ou une courbure de la structure. La direction et l'angle de la courbure peuvent être contrôlés et le rayon de courbure maximal alors atteint fut de 6 nm. A titre de comparaison, le rayon de courbure de l'ADN dans la nature lorsqu'il s'enroule autour des histones (principales composants protéiques des chromosomes) est de 4,3 nm [26]. On peut également comparer ce résultat à la longueur de persistance de l'ADN caractéristique de sa rigidité qui est de 50 nm in vitro et 27 nm in vivo dans des cellules de mammifères [27].

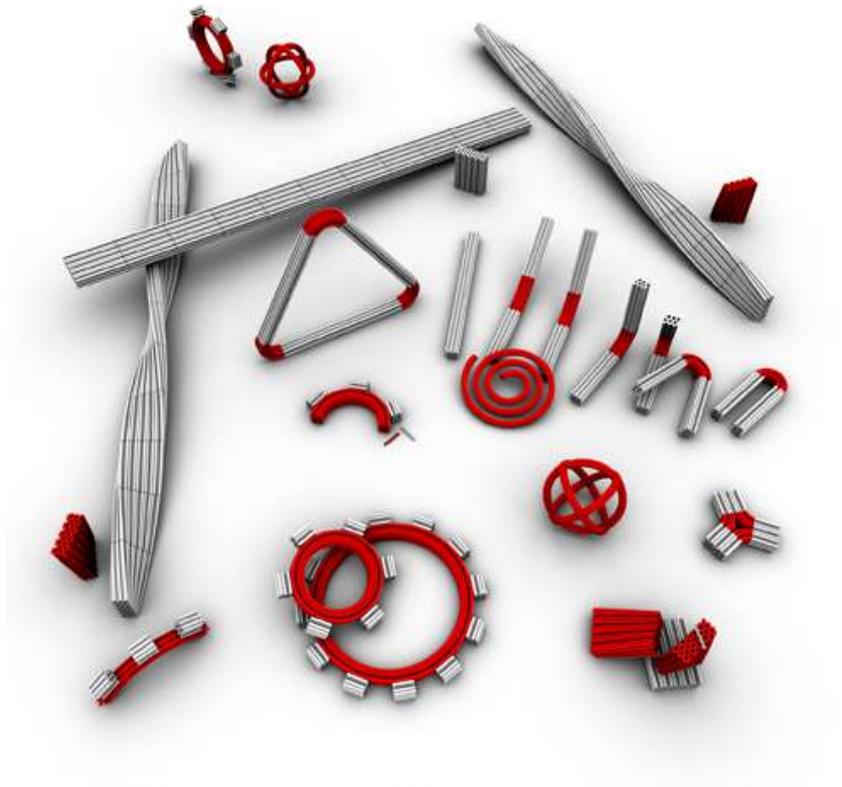


Figure 12 : Modélisation de nanostructures courbes ou twistées réalisables en ADN origami et développées dans la publication de Dietz et al. [25] Credit image : Center For Integrated Protein Science Munich

En 2011, Han *et al.* créent une nouvelle méthode de conception d'ADN origamis courbes qui paraît alors en couverture du journal *Science* (Volume 332, Numéro 6027) (Figure 13). Cette méthode consiste à concevoir les nanostructures ADN à courbes complexes directement en succession de doubles hélices circulaires concentriques et parallèles entre elles (Annexe 5) [28]

A l'heure actuelle, ces méthodes et particulièrement la méthode d'insertion et de délétion de bases sont les celles utilisées pour concevoir des ADN origamis courbes. Cependant, le développement d'origamis ADN à courbes de plus en plus complexes reste tant un défi de taille (notamment en ce qui concerne la conception informatique de ces structures) qu'un enjeu pour le développement de plus amples applications.



Figure 13 : Couverture du journal *Science* paru le 15 Avril 2011. Volume 332, Numéro 6027. Modélisation des nanostructures ADN à courbes complexes réalisables développées dans la publication de Han *et al.* [28]

II. Méthodes de production des ADN origamis

1. Généralités

Pour produire un ADN origami, différentes étapes sont nécessaires et sont résumées dans la Figure 14 : choix de la forme (étape 1), design de la structure, évaluation du design et détermination de la séquence des agrafes (étape 2), préparation du scaffold et synthèse des agrafes (étape 3), préparation d'aliquotes d'agrafes (étape 4), auto-assemblage de la nanostructure (étape 5, dite étape de « folding »), analyse de la qualité de folding et purification (étape 6), analyse de détails structuraux (étapes 7). [29]

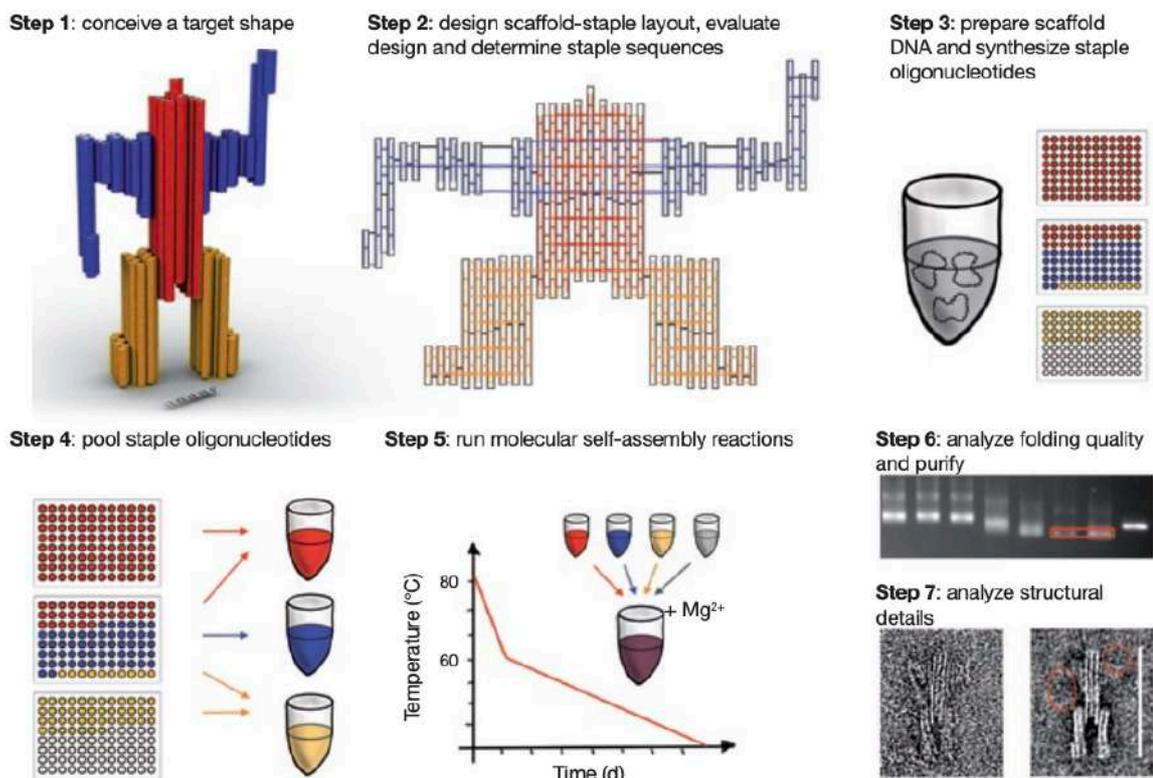


Figure 14 : Etapes de production d'un ADN origami [29]

2. Etape 1 : Choix de la forme

Le choix de la forme d'un origami se fait en fonction de l'application pour laquelle il est synthétisé, ou encore en fonction de ce qu'il servira à démontrer (par exemple : faire des structures courbes plus complexes) [29].

3. Etape 2 : Design

3.1. Règles de design

On peut choisir de faire une structure comprenant une ou plusieurs couches de double hélices d'ADN, agencées en carrés ou en nids d'abeilles les unes par rapport aux autres [29–32] (Figure 15a). On peut aussi agencer les doubles hélices en hexagone les unes par rapport aux autres (Figure 15b), bien que plus rarement utilisée. Comme cette structure a la plus haute densité de matériel entre les trois (carrés, nids d'abeilles et hexagone), c'est elle qui aura le plus de probabilité de montrer la plus grande résistance aux twists et aux compressions [32].

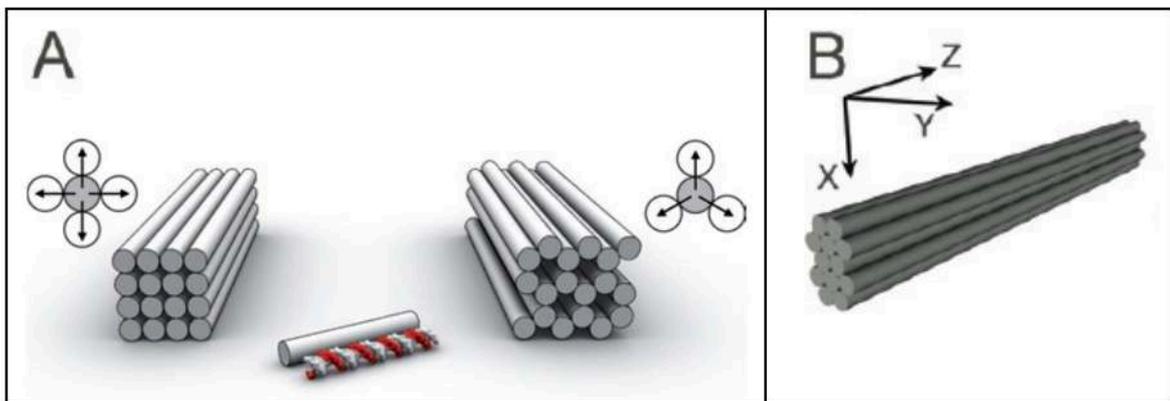


Figure 15 : Différents agencements possibles de double hélices d'ADN. Chaque cylindre représente une double hélice. A : Agencement en carrés (à gauche), agencement en nids d'abeilles (à droite) [29]. B : Agencement en hexagone [32].

Aussi, selon la forme de la structure et le nombre de couches de doubles hélices d'ADN, la structure aura une stabilité thermique et une résistance aux nucléases (enzymes catalysant la scission des acides nucléiques) différentes. En règle générale, les origamis ADN sont plus résistants aux enzymes de dégradation que des plasmides car ils sont protégés par l'agencement proche des domaines d'ADN de la double hélice au sein de la nanostructure, ce qui en fait des objets intéressants pour l'encapsulation d'agents actifs pour le ciblage thérapeutique [29].

Comme détaillé précédemment dans un origami, les domaines d'une double hélice sont connectés aux domaines des doubles hélices adjacentes grâce à des cross-over multiples (Figure 16). [29]

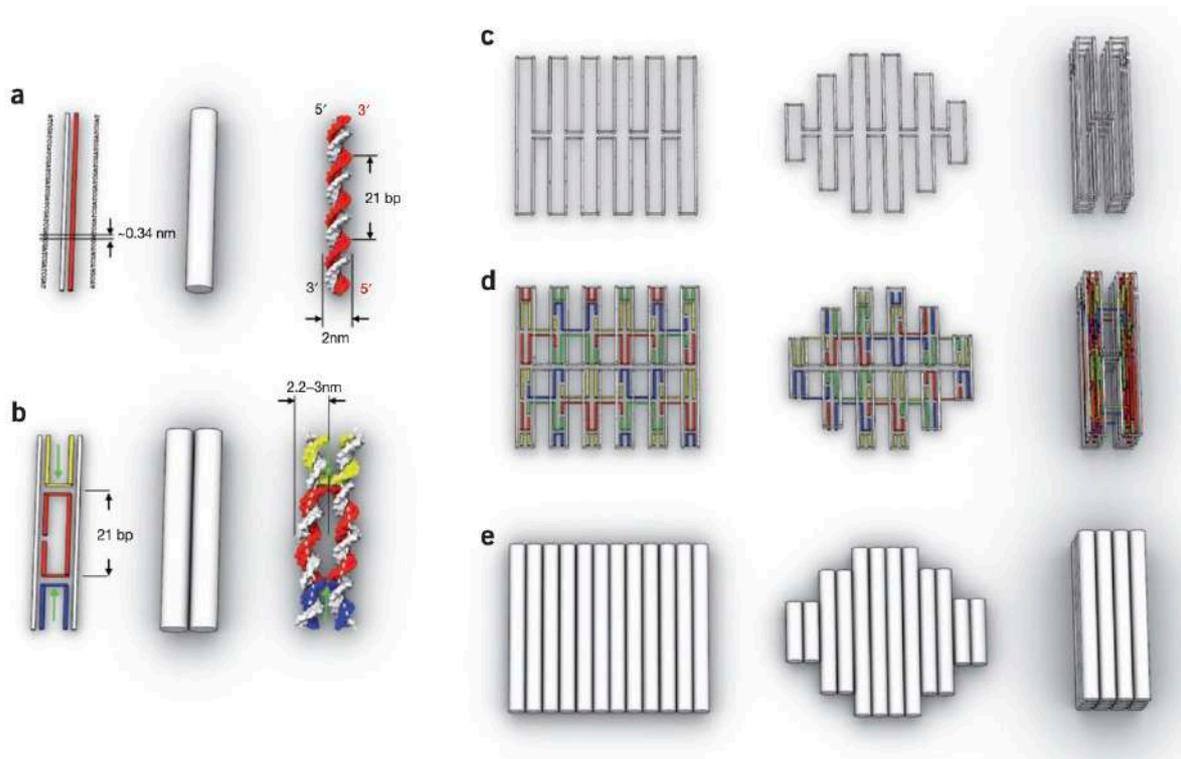


Figure 16 : Concept du design d'ADN origamis. Le scaffold est représenté en blanc (hors cylindres), les agrafes en couleurs [29]. a : Différentes représentation d'une double hélice d'ADN seule, b : Différentes représentations des jonctions (multiples cross-overs) entre deux doubles hélices d'ADN adjacentes, c : Représentation du chemin d'un scaffold seul pour différentes formes (ne se maintiendrait pas seul comme cela, il s'agit seulement d'une représentation), d : Scaffold et agrafes maintenant le scaffold dans différentes formes, e : Représentation de différentes nanostructures (un cylindre étant une double hélice d'ADN).

Dans le cadre d'un agencement des hélices en nid d'abeille, les cross-over doivent être placés à un multiple de 7 bases l'un de l'autre. En effet, dû à l'hélicité de l'ADN de forme B dont le pas est considéré pour le design de 10,5 paires de bases (un tour d'hélice toutes les 10,5 paires de bases), le cross over d'une double hélice avec une des trois hélices adjacentes sera possible toutes les 7 pb. Pour que deux cross-over soient faits entre deux mêmes double hélices, il faudra utiliser un multiple de 21 pb. [29]

Dans le cadre d'un agencement des hélices en carrés, si l'on suit le même principe il faudrait placer les cross-over toutes les 5,25 bases (21 paires de bases divisées par 4 doubles hélices voisines). En pratique, cela se traduirait soit par un placement des cross-over à intervalle non constant, soit en plaçant les cross-over aux multiples de 8 pb (32 pb pour faire deux cross-overs entre les deux mêmes double-hélices). Cela conduirait à considérer le pas de la double hélice de 10,67 pb et donc d'induire un twist global de l'origami qu'il faudrait ensuite corriger. [25] [29]

Le scaffold comme les agrafes peut faire l'objet de cross-overs. Afin d'obtenir un origami stable, il est souhaitable de décaler les cross-overs du scaffold de ceux des agrafes de 5 ou 6 bases (correspondant à un demi-tour de la double hélice : 180°).

La taille des agrafes doit être comprise entre 18 et 50 bases, une agrafe de moins de 18 bases risquant d'être moins stable à température ambiante. La longueur optimale d'une agrafe doit être autour de 40 bases. Les agrafes s'hybrident à différentes parties du scaffold formant ainsi différents domaines de tailles différentes. La longueur optimale des domaines pour une structure multicouches à agencement en nid d'abeilles était initialement considérée de 2,1 à 2,4 nm (soit 6 à 7 bases) d'après la publication de l'équipe de Dietz en 2011 [29]. Un an plus tard, Ke, Bellot *et al.* montrèrent que le fait de positionner les agrafes de façon à ce que chaque agrafe inclue une séquence continue de 14 nucléotides s'hybridant à une séquence continue de scaffold de 14 nucléotides également améliore grandement les rendements d'auto-assemblage de la nanostructure [33].

Enfin, le design d'ADN origamis courbes peut-être réalisé dans une certaine limite par l'insertion et la délétion de paires de bases, comme vu précédemment [25]. La conception d'angles est également possible, même pour un origami multicouches. Il s'effectue en concevant des « sauts » de segments de la double hélice, ceux-ci étant dans la mesure du possible des multiples du pas de l'hélice (10,5 pb) (Figure 17) [34].

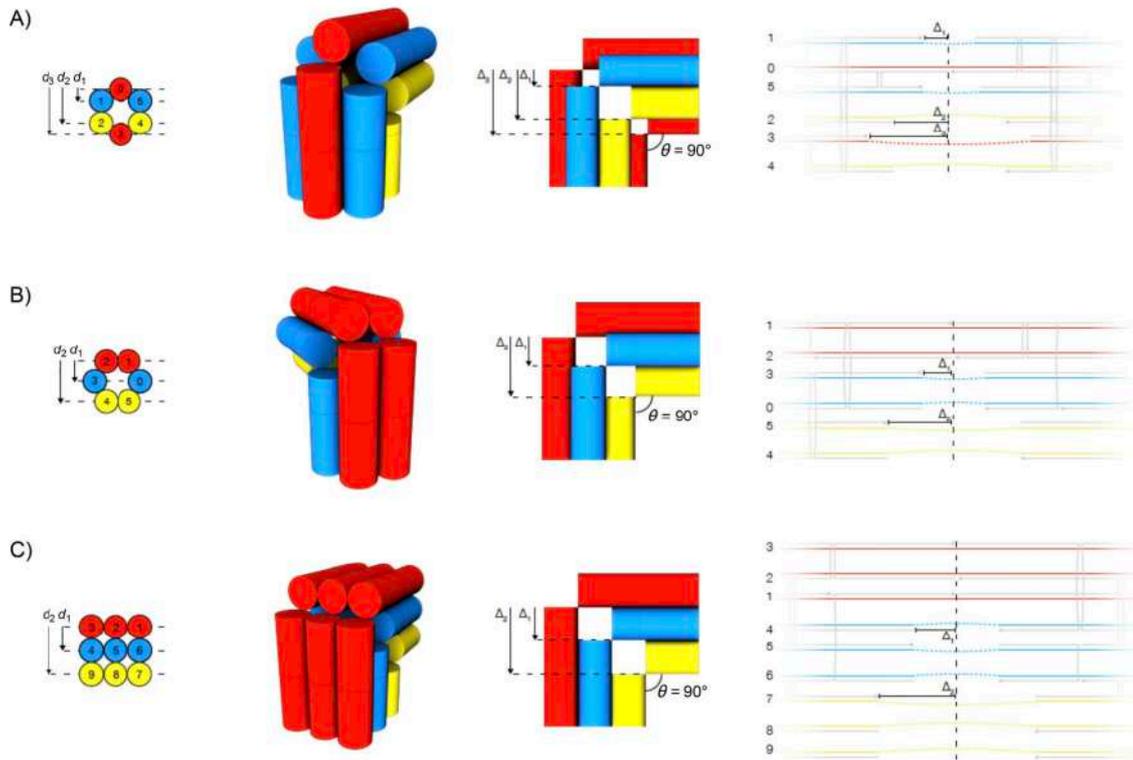


Figure 17 : Design d'angles pour des origamis multicouches. De gauche à droite : Section transversale d'un ADN origami multicouches (A et B : agencement en nids d'abeilles, C : agencement en carrés), modélisation de l'angle d'un origami 3D multicouches en vue de côté (au milieu à gauche) et vue de dessus (au milieu à droite), diagramme de brins de la section montrée dans les modélisations (les lignes colorées en pointillés indiquent les segments de la double hélices supprimés pour produire l'angle). [34]

Toutes ces règles doivent concorder pour former la nanostructure de la forme et taille choisie par le concepteur. Cependant, le nombre et la longueur des agrafes doivent respecter la longueur totale du scaffold choisi (8064 bases, 7560 bases, 7249 bases...).

3.2. Logiciels de design

Les règles énoncées au 3.1. de ce chapitre sont valables pour le logiciel caDNAno, principal logiciel de design utilisé pour les ADN origamis. Il s'agit d'un programme Python open source (<https://cadnano.org/>) développé en 2009 par l'équipe de William Shih à l'Université de Harvard [35]. Le logiciel propose une interface utilisateur 2D avec deux vues : une représentation schématique des brins d'ADN et une vue schématique de la section transversale de la nanostructure (Figure 18).

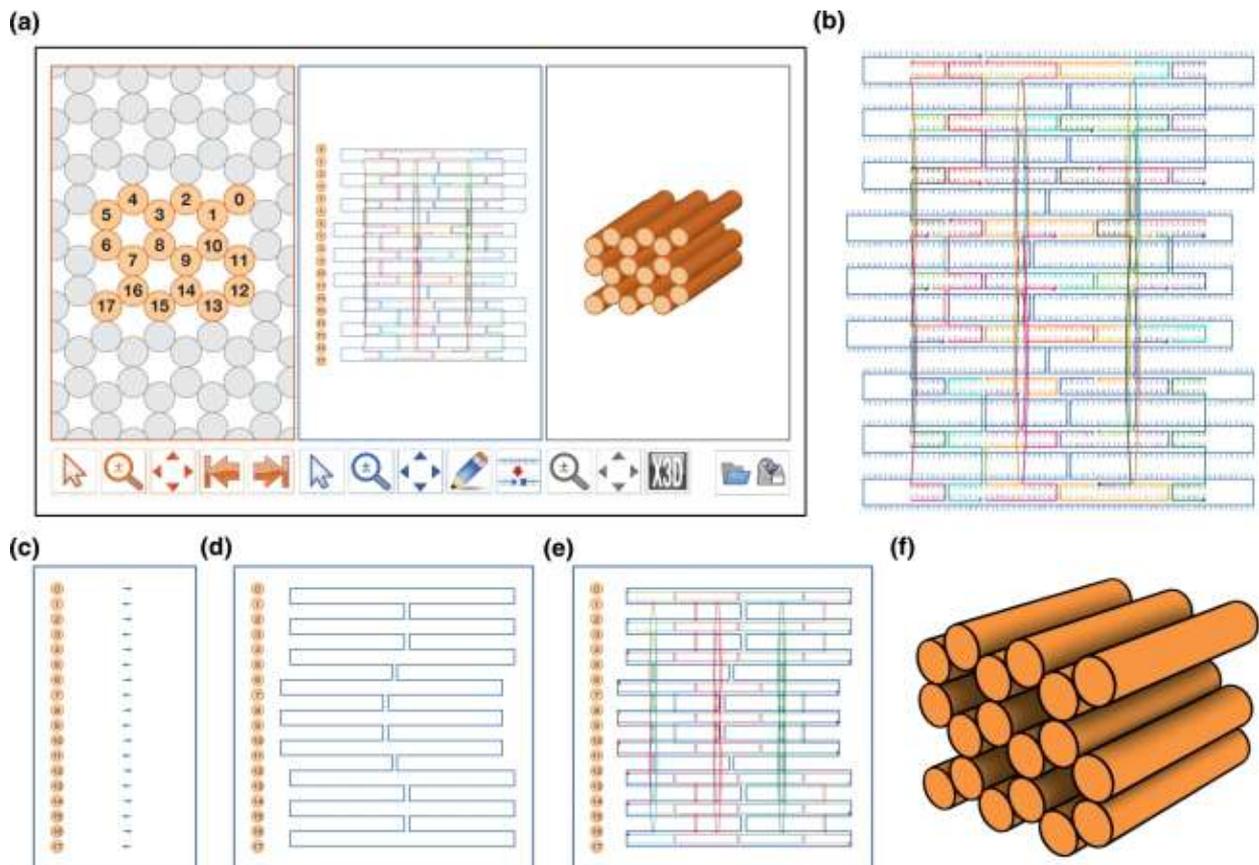


Figure 18 : Interface du logiciel caDNAno et processus d'utilisation. a : Capture d'écran de l'interface de caDNAno tel que décrit en 2009. A gauche : vue transversale d'un agencement d'hélices en nids d'abeilles, où les doubles hélices peuvent être ajoutées au design. Au milieu : Panneau permettant l'édition du scaffold et des hélices. A droite : Panneau de rendement affichant une modélisation 3D en temps réel de la structure (n'existe plus dans la version actuelle du logiciel : version 2.5.2), b : Design exporté au format SVG de la structure présentée en a, avec le scaffold (en bleu foncé), les agrafes (en couleurs) et leurs séquences, c : Panneau d'édition au début du design : de courts brins correspondant au scaffold (flèches bleues) sont ajoutés au panneau au fur et à mesure que les hélices sont ajoutées dans le panneau montrant la vue transversale, d : Panneau d'édition après que l'utilisateur ait transformé les brins présents en c en un scaffold circulaire de la longueur désirée, e : Panneau d'édition après avoir activé la fonction « autostapling » qui permet de générer un set par défaut d'agrafes ainsi que leurs cross-overs. L'optimisation du design selon les règles précédemment citées doit être faite à la main. Ensuite, on peut générer les séquences des staples, f : Modèle 3D exporté depuis le panneau de rendement [35].

caDNAno a néanmoins différents inconvénients : il est difficile d'avoir une idée de la structure sans vue 3D, l'optimisation des agrafes et le routage du scaffold doivent être faits manuellement selon les règles précédemment citées en 3.1, caDNAno considère le pas de la double hélice d'ADN comme étant de 10,5 pb contre 10,34 en réalité créant ainsi une légère courbure des structures [34], le design de structures courbes complexes est compliqué [25].

Cependant, ce logiciel a l'avantage de permettre le design des ADN origamis et notamment d'avoir une génération automatique d'agrafes en fonction de la structure donnée au scaffold par l'utilisateur. Il permet ainsi de choisir le scaffold que l'on souhaite utiliser et d'ainsi exporter directement la séquence des agrafes sous forme de fichier Excel ou Numbers.

Ainsi, caDNAno est le logiciel utilisé à l'heure actuelle pour la conception ascendante (« bottom-up ») d'ADN origamis.

D'autres logiciels de design de nanostructures ADN furent développés ou le sont encore (Figure 19, Annexe 6) [36,37]. Parmi eux, on peut citer les plus récents MagicDNA permettant de réaliser plus rapidement des ADN origamis complexes (<https://github.com/cmhuang2011/MagicDNA>) [38] et ENSnano qui a pour objectif de permettre de réaliser des structures courbes complexes non réalisables avec les précédents logiciels (<http://www.ens-lyon.fr/ensnano/>).

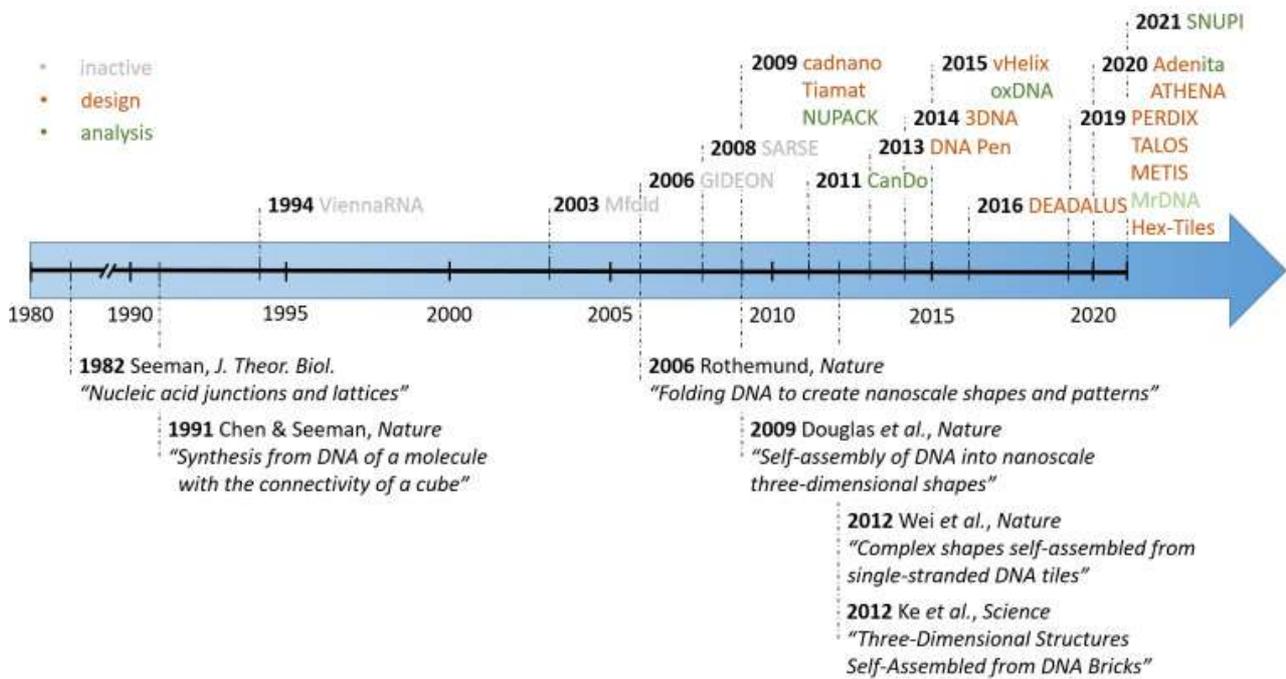


Figure 19 : Vue d'ensemble du rapide développement des logiciels de design ou d'analyse (en haut de la frise) ainsi que certaines nouveautés expérimentales (en bas de la frise) dans le champ des nanotechnologies à base d'ADN (pas uniquement ADN origamis) [36]

A noter que tous les logiciels de design d'ADN origamis actuels ne se basent pas sur une conception ascendante (« Bottom-up », partir du design pour arriver à la forme). Certains utilisent une approche « Top-down » (partir de la forme pour arriver au design) comme par exemple le logiciel Daedalus (<https://daedalus-dna-origami.org/>) [39].

3.3. Logiciels d'analyse et modélisation

On retrouve sur la Figure 19 certaines plateformes qui permettent l'analyse et la modélisation de structures en ADN comme par exemple CanDo (Computer-aided engineering for DNA origami, <https://cando-dna-origami.org/>) [34] ou oxDNA (<https://oxdna.org/>) [40]. Ces plateformes permettent de soumettre un design réalisé (par exemple sur caDNAo) et de prévisualiser sa structure finale avant de passer à l'étape de la synthèse de la structure.

4. Etape 3 : Préparation du scaffold et synthèse des agrafes

4.1. Préparation du scaffold

Les scaffolds utilisés pour les ADN origamis sont le plus souvent dérivés du génome du bacteriophage M13 et sont composés de 7249 bases, 7560 bases ou 8064 bases. En 2015, Kick *et al.* décrivent une méthode de production de ces scaffolds à partir de la fermentation à haute densité cellulaire d'*Escherichia coli* (infectée par le phage) dans un bioréacteur à cuve agitée [41]. Cette méthode permet de multiplier par deux le rendement de synthèse de l'ADN obtenu par rapport aux méthodes précédentes [42].

Initialement, le génome du bactériophage M13 est de 6407 nucléotides mais on peut y insérer des séquences additionnelles afin d'obtenir un plus grand nombre de nucléotides (et donc *in fine*, un plus grand scaffold pouvant potentiellement servir à réaliser de plus grands origamis) [43,44].

En 2019, l'équipe de Dietz publie des méthodes additionnelles pour synthétiser des scaffolds aux tailles customisées en déplaçant certaines séquences d'ADN du phage à un plasmide « helper ». De ce fait, il réduit la taille du phage (et donc du futur scaffold) tout en conservant les séquences dans un « plasmide helper » aidant la production du phage à taille réduite par *E. coli*. Ces méthodes permettent de synthétiser des scaffolds allant de 234 à plus de 2000 bases (Figure 20A) [45]. En 2013, Said *et al.* avait déjà décrit une méthode pour obtenir un scaffold de 704 nucléotides (permettant de réaliser des origamis avec dix fois moins d'agrafes différentes). Celle-ci consistait

à exciser deux parties du génome de M13 grâce à des enzymes de restriction puis d'utiliser la T4 ligase pour lier ces parties en un scaffold circulaire (Figure 20B) [46].

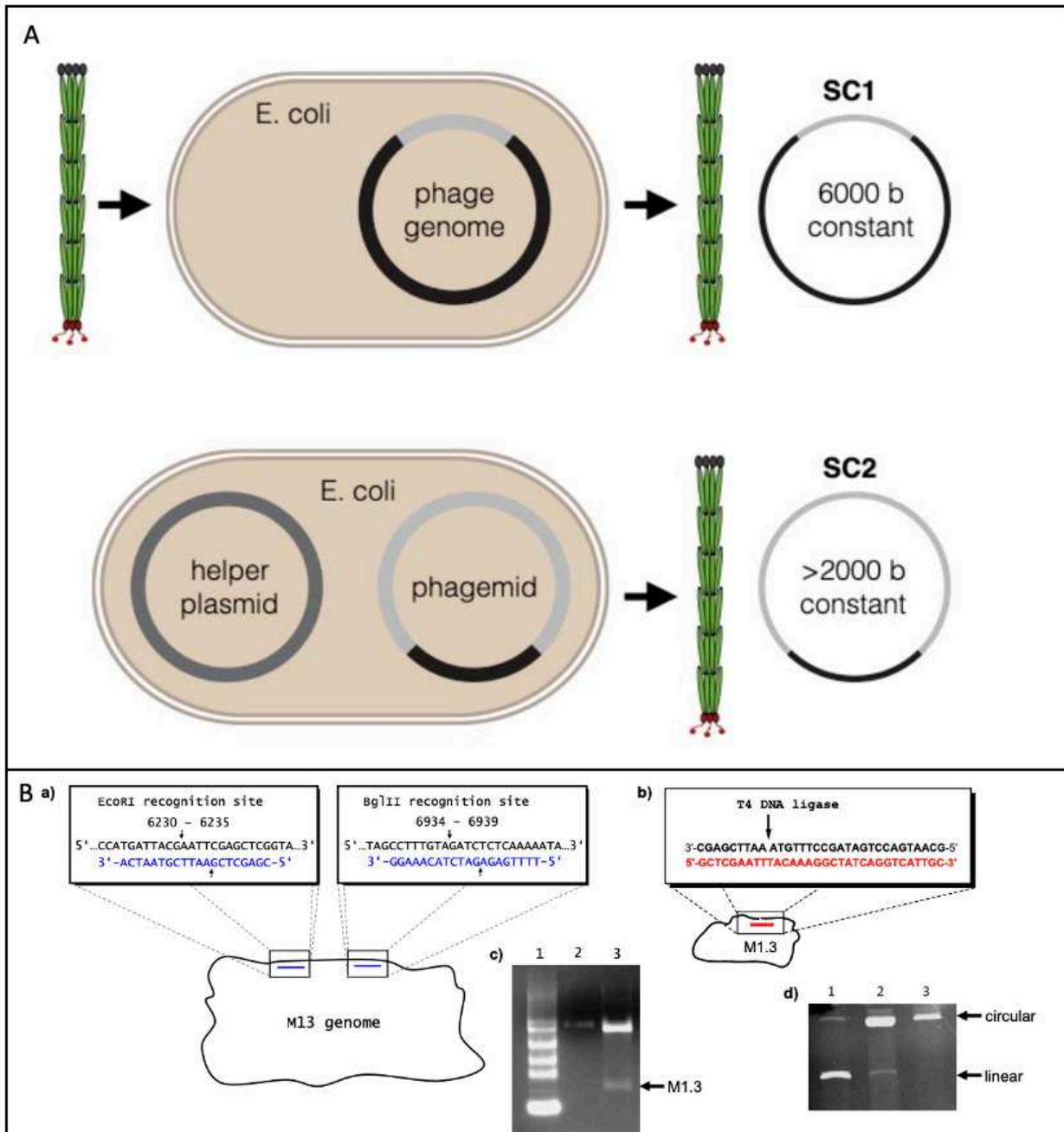


Figure 20 : Exemple de deux méthodes différentes pour obtenir un scaffold de taille réduite par rapport au génome du bactériophage M13. A : En haut : Production normale de scaffold (détaillée dans le premier paragraphe), en bas : Production de scaffold de taille réduite telle que décrite par l'équipe de Dietz en 2019 [45], B : Production d'un scaffold de taille réduite par excision et ligation de séquences du scaffold, méthode décrite par Said et al. en 2013 [46].

D'autres techniques de production de scaffold sont décrites dans la littérature, par exemple l'amplification par PCR d'un ADN double brin avant de le dénaturer pour obtenir le scaffold (Figure 21) [24,47,48] ou encore l'amplification par PCR asymétrique [39].

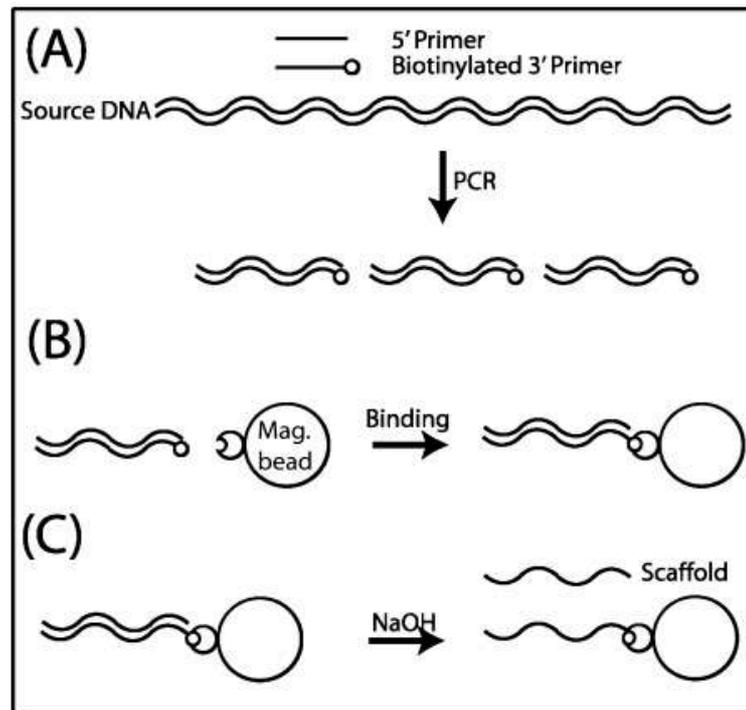


Figure 21 : Méthode de production de scaffold simple brin. A : PCR avec une amorce biotinylée en 3', B : Le produit de PCR est lié à des billes magnétiques coatées de streptavidine, C : Dénaturation des brins d'ADN par dilution dans une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH), le brin non biotinylé est alors collecté et utilisé comme scaffold [47].

En revanche, ces approches par PCR produisent de moins grandes quantités de scaffold que les approches biotechnologiques décrites dans les deux pages précédentes qui peuvent même être utilisées pour produire des scaffolds industriellement (New England Biolabs – Ipswich, USA ; Tilibit – Garching bei Munchen, Deutschland ; Bayou Biolabs – Metairie, USA) [34].

4.2. Synthèse des agrafes

Initialement, les agrafes n'étaient pas conçues pour s'hybrider avec l'entièreté du scaffold [24]. A l'heure actuelle, davantage d'agrafes sont utilisées pour s'hybrider

avec le scaffold dans son ensemble. Pour chaque origami, 200 à 250 oligonucléotides sont requis (chacun mesurant entre 18 et 50 bases, comme vu précédemment) [29].

Différentes méthodes de synthèses des agrafes sont possibles : synthèse en phase solide de l'ADN [49], amplification enzymatique d'ADN synthétisé sur puce [50] ou encore la production enzymatique d'oligonucléotides après digestion par des endonucléases d'un long ADN simple brin [51]. Une possibilité pour se procurer les agrafes est aussi de commander auprès d'une compagnie qui utilisera l'une de ces méthodes pour produire les agrafes [34].

A noter que Praetorius *et al.* ont développé en 2017 une technique de production de masse des origamis afin de réduire les coûts engendrés par la synthèse de scaffold et d'agrafes. Le principe de cette technique consiste à construire des phagemides qui seront exprimés par *E. coli* et pourront comprendre à la fois la séquence du scaffold (en bleu sur la Figure 22d) et celles des agrafes (en couleurs sur la Figure 22d) ainsi que des séquences de DNAzymes (en noir sur la Figure 22d). Ces dernières pourront induire une coupure qui libèrera le scaffold et les agrafes qui pourront être utilisés pour l'étape d'auto-assemblage [52].

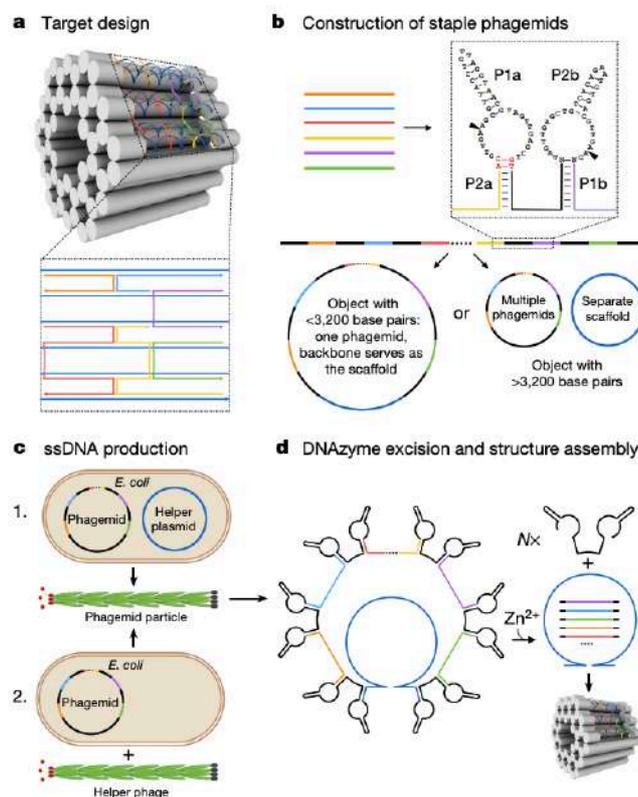


Figure 22 : Etapes de la production biotechnologique d'agrafes et de scaffold [52]

5. Etape 4 : Préparation d'aliqotes d'agrafes

Lors de la synthèse des agrafes par une compagnie, cette dernière les dispose dans des boîtes comprenant 96 puits : dans chaque puits se trouve une agrafe différente. Un origami ADN se composant de 200 à 250 agrafes, il est possible de classer les agrafes par catégorie. Par exemple sur la Figure 14 (voir page 27), il est possible de distinguer trois grands groupes d'agrafes que l'on pourrait nommer « bras », « corps » et « jambes ». Lors de la réception des boîtes d'agrafes, on peut alors regrouper dans des tubes eppendorf et à des concentrations précises chacun de ces types d'agrafes (respectivement tubes bleu, rouge et jaune sur la Figure 14), par exemple 500 nanomolaires. Cette étape permet également de disposer de stocks d'agrafes que l'on conservera à -20° celsius sans devoir décongeler les boîtes 96 puits à chaque utilisation des agrafes. [29]

6. Etape 5 : Auto-assemblage : « Folding »

L'auto-assemblage ou « folding » de l'origami ADN consiste à mélanger les différents composants de l'origami et à y appliquer un processus de dénaturation – renaturation afin que les brins s'hybrident par complémentarité de bases et donc que la structure se plie. L'objectif est d'obtenir l'ADN origami le mieux replié possible (de la façon conçue), avec le meilleur rendement possible [29,34].

Pour cela, on mixe le scaffold et les agrafes dans un tampon aqueux au pH contrôlé (pH = 8) et on y ajoute un cation divalent, le plus souvent du chlorure de magnésium (MgCl₂). En effet, l'ADN étant chargé négativement du fait de sa forte teneur en phosphates, on observe une répulsion électrostatique des brins d'ADN entre eux qui peut gêner le repliement en la structure souhaitée. On ajoute donc le chlorure de magnésium pour neutraliser ces charges [29,34].

Dans la plupart des cas, on met les agrafes 5 à 10 fois en excès par rapport au scaffold, afin de favoriser l'hybridation des agrafes n'ayant pas subi d'erreur de synthèse en ce qui concerne la séquence [29,34].

Tous ces paramètres sont modifiables et l'on doit tester différentes conditions afin de trouver les meilleures conditions de folding lors de la synthèse d'un nouvel origami.

On peut donc : modifier la concentration de scaffold (par exemple 10 nM, 20 nM ou autre), modifier la stoechiométrie entre le scaffold et les agrafes (agrafes 5 fois en excès, 10 fois, autres), modifier la concentration en chlorure de magnésium (par exemple 10 mM, 20 mM ou autre) [23,25,29,34].

La technique communément utilisée pour dénaturer puis renaturer l'ADN est de faire varier la température. On commence donc par chauffer le mélange autour de 65°C ou 80°C selon les origamis, puis on descend graduellement en température jusqu'à atteindre une température ambiante. Là encore, ces paramètres sont modifiables et doivent être testés lors du folding d'un nouvel origami. On peut jouer sur les différentes températures mais également sur la vitesse à laquelle on décroît la température (moins un degré par minute, par 10 minutes, par heure, ...) [29,34]. A noter que d'autres techniques de folding isotherme existent, avec [53] ou sans agents dénaturants [54].

Il a été décrit que les origamis monocouches se replient plus rapidement (quelques heures) que les origamis multicouches qui explorent davantage de conformations (quelques jours) [29].

En 2019, Dietz a montré que le folding se déroulait à travers la formation de domaines plutôt qu'à travers l'hybridation directe de toute une agrafe au scaffold. A cette occasion, il a aussi été montré que les domaines longs s'hybridaient à plus haute température que les domaines courts et qu'il y avait peu ou pas de corrélation entre les propriétés de la séquence d'un domaine et sa cinétique d'hybridation. Cette dernière observation indique que c'est un effet coopératif dépendant de la topologie globale de l'origami et non un effet local qui détermine que domaine se formera à quel moment. Ainsi, la séquence des événements dans le repliement de l'origami ne peut pas être gouverné par des règles simples de design [55].

Lors du folding, d'autres produits que l'origami attendu peuvent se former en plus ou au lieu de celui-ci : par exemple des origamis mal repliés ou encore des agrégats. A l'issue du folding, en plus de ces potentiels produits ainsi que de l'origami, on retrouve l'excès d'agrafes non hybridées [34]. Ainsi, une étape de purification est nécessaire.

7. Etape 6 : Purification et analyse de la qualité de folding

Différentes méthodes permettent la purification d'origamis une fois foldés. Parmi elles, la purification sur gradient de glycérol [56], la précipitation par ammonium sulfate [57], la précipitation au polyéthylène glycol (PEG) [34], la purification par électrophorèse sur gel d'agarose [34,58], la filtration selon la taille [34], la chromatographie par exclusion de taille (SEC) [34] et l'ultracentrifugation [34]. Ici nous parlerons surtout de deux d'entre elles : la purification par électrophorèse sur gel d'agarose et la PEG précipitation.

La purification par électrophorèse sur gel d'agarose des ADN origamis consiste en une migration des composants du mélange après folding entraînés par un courant électrique (électrophorèse) dans une cuve emplie d'un tampon contenant du magnésium. L'agarose forme alors des mailles qui laissent plus ou moins passer l'ADN. Lorsqu'on considère de l'ADN linéaire double brin, plus l'ADN est petit (nombre de paires de bases réduit), plus il migre loin. Concernant l'ADN origami, plus celui-ci est compact, plus il migrera loin à travers les mailles, indépendamment de son nombre de bases. Par exemple, sur la Figure 23 on peut voir en comparant les bandes correspondant à l'origami replié que celui-ci se situe entre 1000 et 3000 paires de bases si l'on en croit le marqueur (réalisé à partir d'ADN non-origami). Or, l'origami en question possède 7560 paires de bases. La raison pour laquelle il migre aussi loin malgré son nombre élevé de nucléotides est que sa structure 3D compacte lui permet d'aller plus loin dans les mailles d'agarose [59]. Ainsi, deux origamis ayant le même nombre de paires de bases peuvent migrer différemment en fonction de leur compaction et de leur structure. Cela permet notamment une première analyse de la qualité de folding avant toute analyse des détails structuraux [34]. A noter que la visualisation des acides nucléiques après électrophorèse sur gel d'agarose se fait grâce à l'ajout d'un intercalant de l'ADN (par exemple le SYBR-Safe).

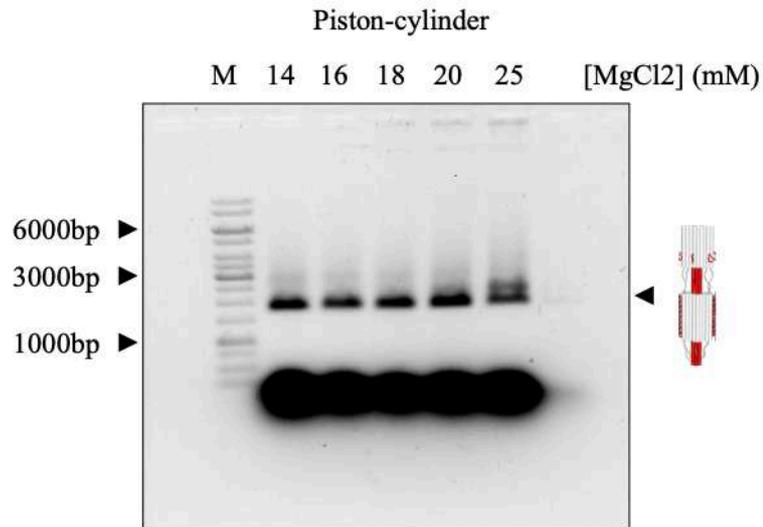


Figure 23 : Analyse du folding d'un origami par électrophorèse sur gel d'agarose. Sens de migration : du haut vers le bas. M : Marqueur. Bande très épaisse en bas du gel : excès d'agrafes.

En revanche, l'analyse de la qualité de folding précédemment mentionnée n'est pas possible avec d'autres techniques comme avec la PEG précipitation qui consiste à précipiter les origamis et autres grosses structures avec des molécules de PEG et d'ainsi éliminer les agrafes en excès. De plus, la PEG précipitation ne permet pas de séparer les agrégats possiblement formés au cours du folding et autres origamis potentiellement mal repliés. Ainsi, bien qu'elle ait un meilleur rendement que la purification sur gel d'agarose où il faut extraire la bande d'intérêt du gel, elle ne demeure pas adaptée à tous les ADN origamis (elle est adaptée pour les origamis ayant un rendement de folding de quasiment 100%). [34]

Dans la publication « How we make DNA origami » de l'équipe de Dietz parue en 2017, les auteurs comparent différentes méthodes de purification. Ils y proposent deux tableaux comparatifs de cinq des différentes méthodes de purification sus-citées (Figure 24) [34].

	PEG precipitation	Gel purification	Filter purification	SEC	Ultracentrifugation
Analyze sample composition	✗	✓	✗	✓	✗
High-pass/low-pass molecular weight separation	✓	✗	✓	✗	✓
Band-pass molecular weight separation	✗	✓	✗	✓	✗*
Enrich target species	✓	✗	✓	✗	✓

	PEG precipitation	Gel purification	Filter purification	SEC	Ultracentrifugation
Yield	> 90 %	< 30 %	~90 %	70-90 %	> 90 %
Duration	1 h	4 h	0.5 h	3 h	1 h
Volume limitation	✗	✓	✗	✓	✗
Dilution	✗	✓	✗	✓	✗
Residual-free	✗	✗	✓	✓	✓
Damage	✗	✗	✗	✗	✗

Figure 24 : Comparaison de différentes méthodes de purification d'ADN origamis [34]

8. Etape 7 : Analyse des détails structuraux

Lorsque l'analyse de la qualité du folding et la purification sont réalisées, différentes méthodes sont alors utilisables [60] pour analyser les détails structuraux des ADN origamis.

Les méthodes les plus fréquemment utilisées sont l'imagerie en microscopie électronique à transmission (en coloration négative après coloration à l'uranyl acétate ou à l'uranyl formate, ou en cryo-microscopie électronique) et la microscopie à force atomique [29].

Tandis que la microscopie à force atomique (AFM) peut permettre l'étude de changement conformationnels d'ADN origamis [61,62], la microscopie électronique permet de réaliser des classifications 2D des molécules observées en coloration négative (moyenne de différentes images) [59] et peut aussi permettre la résolution de

structures en origami à très haute résolution, notamment grâce à la reconstruction 3D d'images prises en cryo-microscopie (Figure 25) [63].

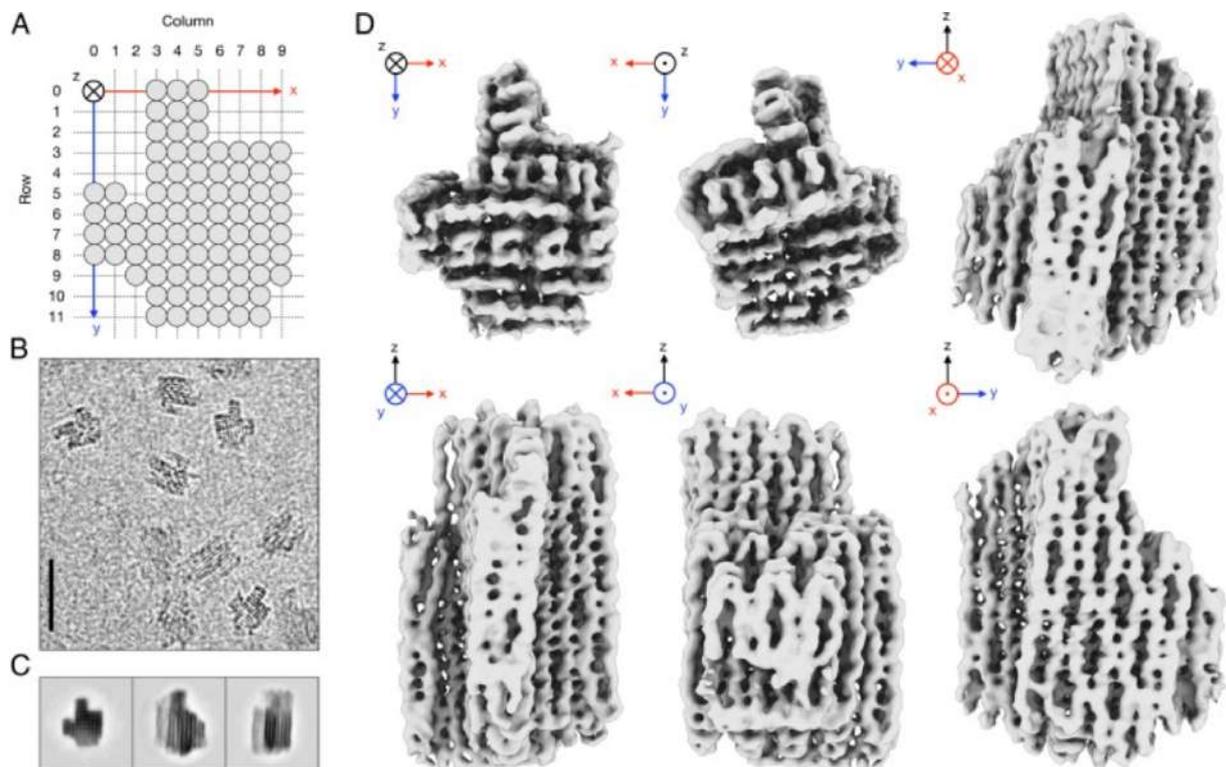


Figure 25 : Reconstruction en cryo-microscopie électronique (cryo-EM) d'un ADN origami en 3D. A : Représentation schématique du design (coupe transversale) comprenant 82 doubles hélices parallèles agencées en carrés, B : Image de microscopie électronique (barre d'échelle : 50 nm, C : Classifications 2D, D : Six vues orthogonales de la reconstruction 3D réalisées à partir d'images de cryo-EM

9. Oligomérisation/Polymérisation

Les ADN origamis peuvent donc se replier en structures de l'ordre de la centaine de nanomètres. Cependant, pour certaines applications il est nécessaire d'avoir des oligomères et/ou polymères d'ADN origamis [64,65]. Différentes méthodes peuvent être utilisées pour régir cette oligomérisation/polymérisation.

La première consiste à concevoir dans le design des deux origamis que l'on souhaite assembler des connecteurs. Ceux-ci sont en réalité des agrafes dont une partie va s'hybrider avec le scaffold d'un origami et l'autre avec le scaffold du second origami. On peut également concevoir des connecteurs « sticky ends » (extrémités cohésives) où les agrafes « sortantes » de deux origamis (une partie reliée au scaffold,

une partie simple brin libre) peuvent s'hybrider par complémentarité de bases. C'est ce qui est utilisé par Mills *et al.* pour assembler les jambes et le piston d'une nanomachine ensemble (Figure 26) [59].

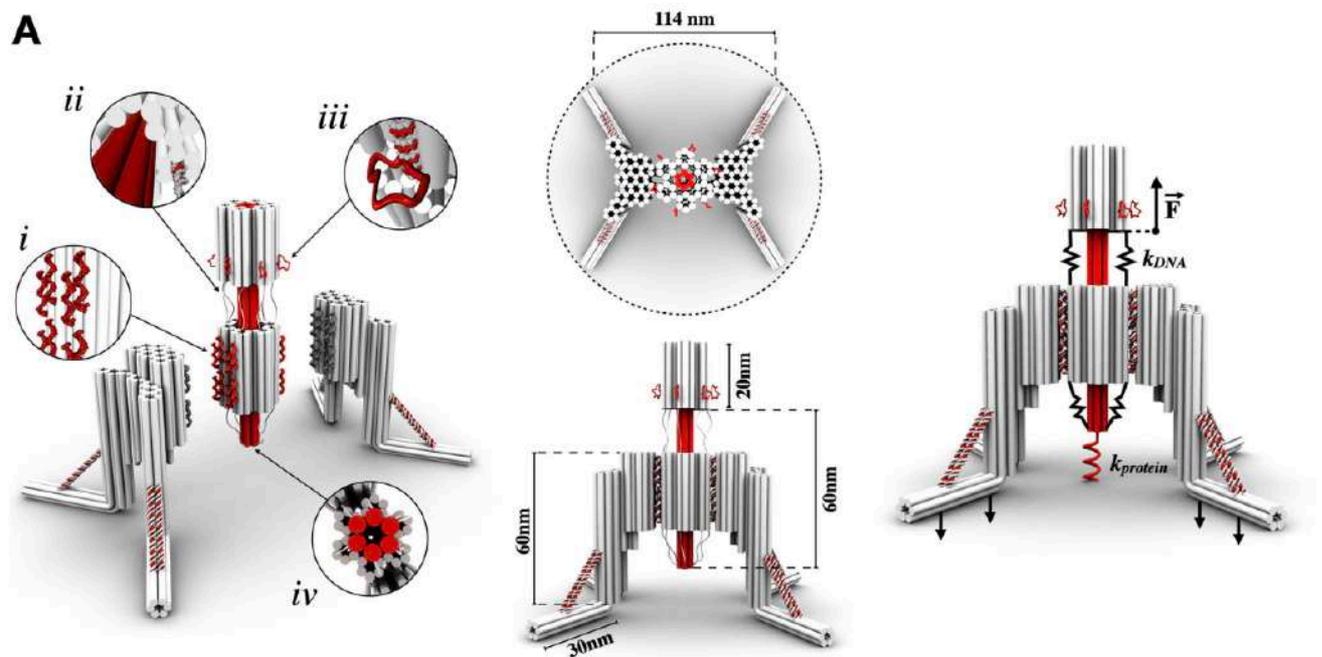


Figure 26 : Illustration schématique de la stratégie d'assemblage de la nanowinch. Celle-ci comprend deux origamis pour former un trimère grâce à un ratio 1:2 (un piston central et deux jambes) [59]

La seconde méthode consiste à jouer non pas sur la complémentarité de brins par appariement de bases mais sur la complémentarité de forme stabilisée par du « base stacking » (Figure 27B) [66]. Le base stacking est en réalité du π -stacking appliqué aux bases de l'ADN (contenant des cycles aromatiques). Le π -stacking, ou empiement π fait référence à des interactions attractives non-covalentes entre les liaisons π des cycles aromatiques (Figure 27A) [67]. C'est également avec cette technique que Wagenbauer, Sigl et Dietz arrivent à créer des origamis qui s'assemblent en structures de l'ordre du gigadalton [64].

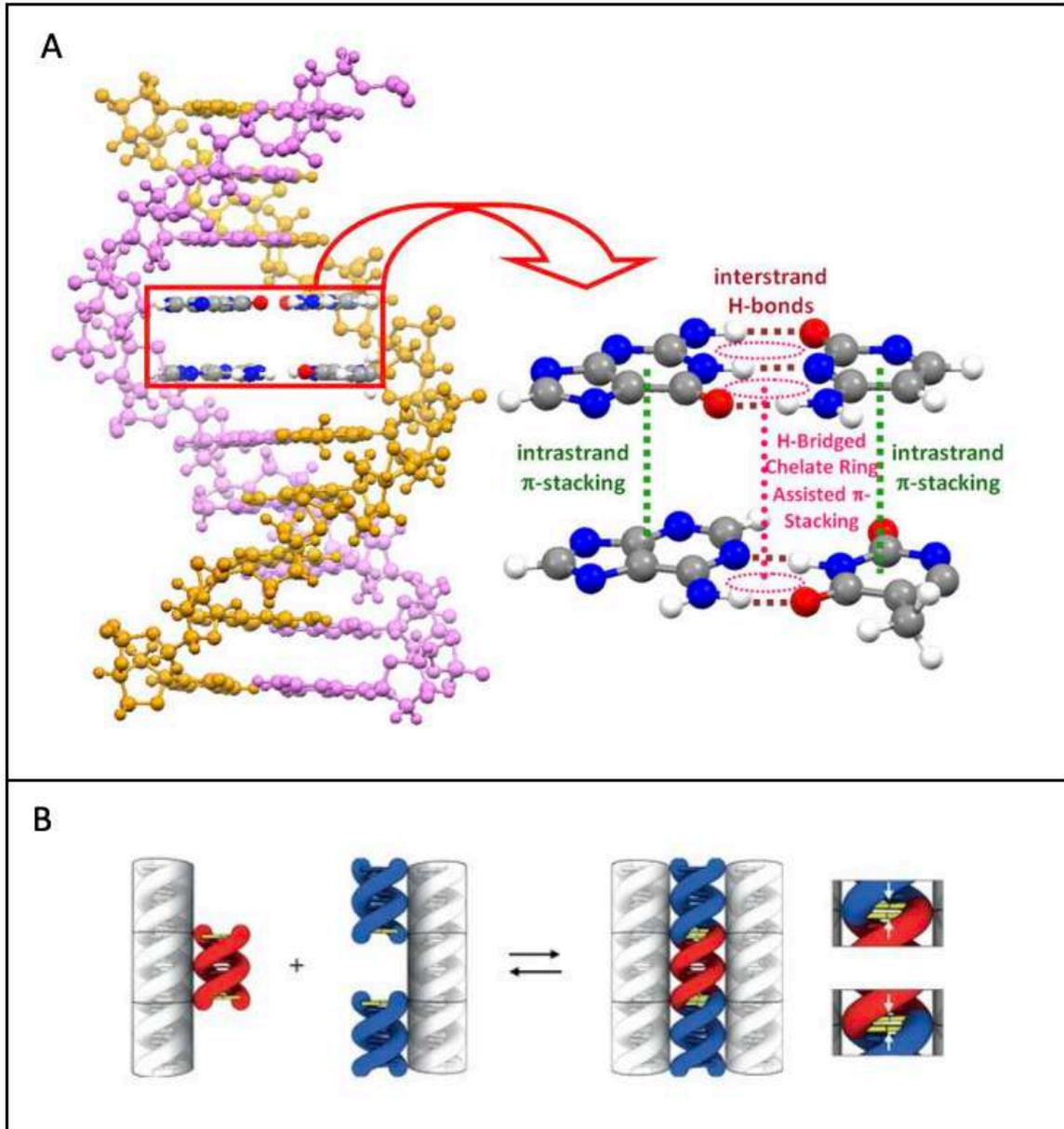


Figure 27 : A : Illustration du base-stacking dans l'ADN (intra-brin, en vert) [67], B : Modélisation de l'assemblage d'ADN par complémentarité de forme, stabilisée par base-stacking [66]

Une troisième méthode consiste à compiler le base stacking et l'hybridation par complémentarité de brins. C'est ce que réalise Tikhomirov *et al.* lors de leur synthèse de la Jonconde en ADN origami, mettant en évidence la réalisation d'un réseau de tuiles en ADN origamis polymérisées dans un ordre précis afin de former une structure de l'échelle du micromètre (Figure 28) [65].

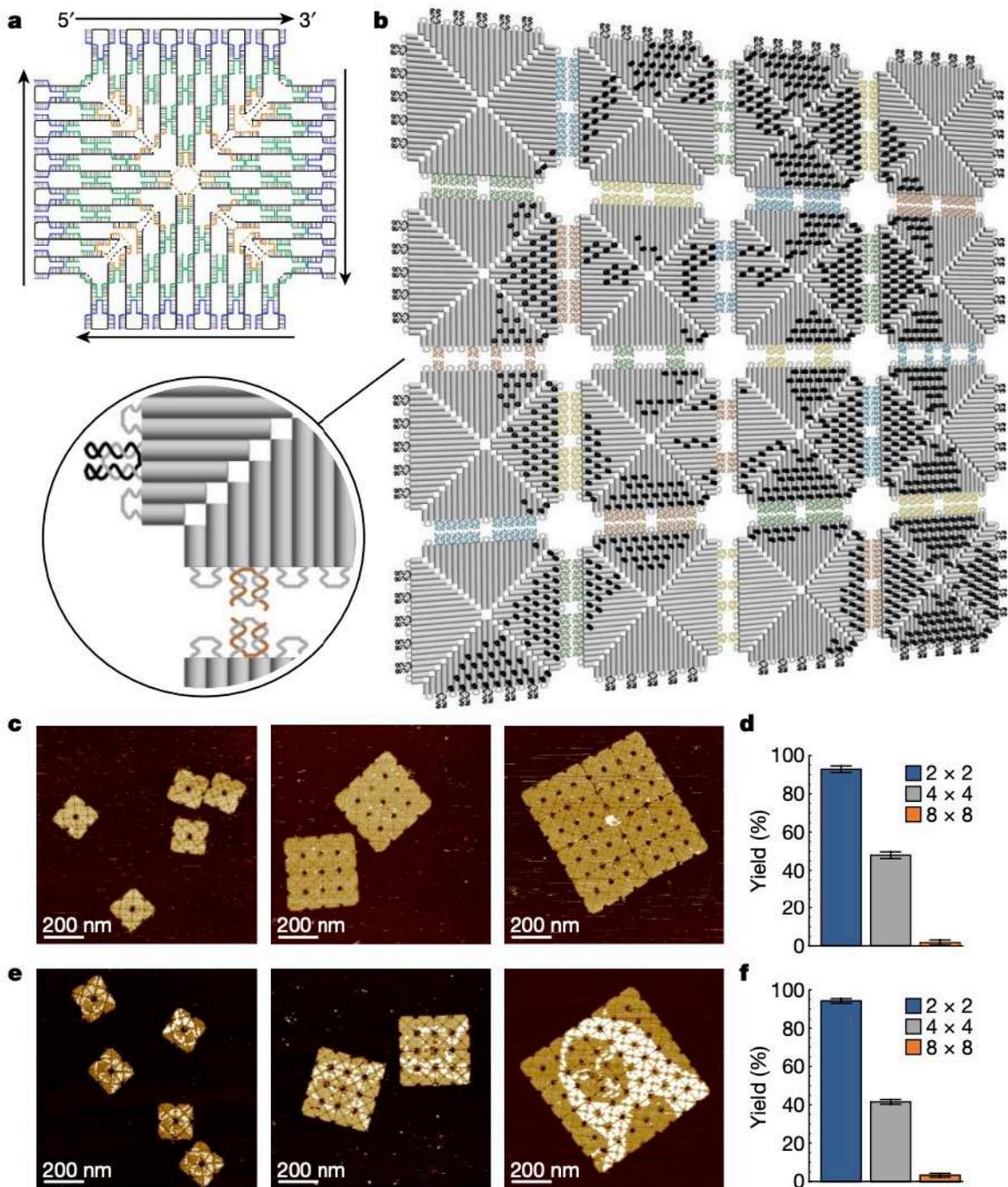


Figure 28 : Réseau de tuiles en origami s'agencant dans un ordre précis pour représenter la Joconde. a : Design d'une tuile en ADN origami, b : Modélisation de l'organisation des tuiles les unes par rapport aux autres, c : Assemblage en réseau des tuiles (2x2, 4x4 et 8x8) sans motif, vue en AFM, d : Rendement estimé des réseaux sans motif, e : Assemblage en réseau des tuiles (2x2, 4x4 et 8x8) avec motif, vue en AFM, f : Rendement estimé des réseaux avec motif [65]

Sur ce même principe, la même équipe décrit un an plus tard en 2018 un autre réseau de tuiles en ADN origami dont les tuiles s'assemblent entre elles grâce à de la complémentarité de brins mais aussi grâce à du base-stacking. Ici, les tuiles peuvent être remplacées par d'autres grâce à du déplacement de brin (un brin 1 ayant une

meilleure affinité/complémentarité de bases pour un brin 2 qu'un brin 3 va déplacer le brin 3 alors lié au brin 2 en s'hybridant à sa place avec le brin 2). Si ces brins sont liés à des tuiles en ADN origamis, alors on observe un déplacement de tuile provoqué par le déplacement de brin (Figure 29A). Dans cette publication, les tuiles ont des motifs X, O ou aucun motif ce qui permet de réaliser un jeu de morpion à l'échelle microscopique en remplaçant tour à tour les tuiles sans motif par des tuiles « X » ou « O » pour jouer (Figure 29B) [68].

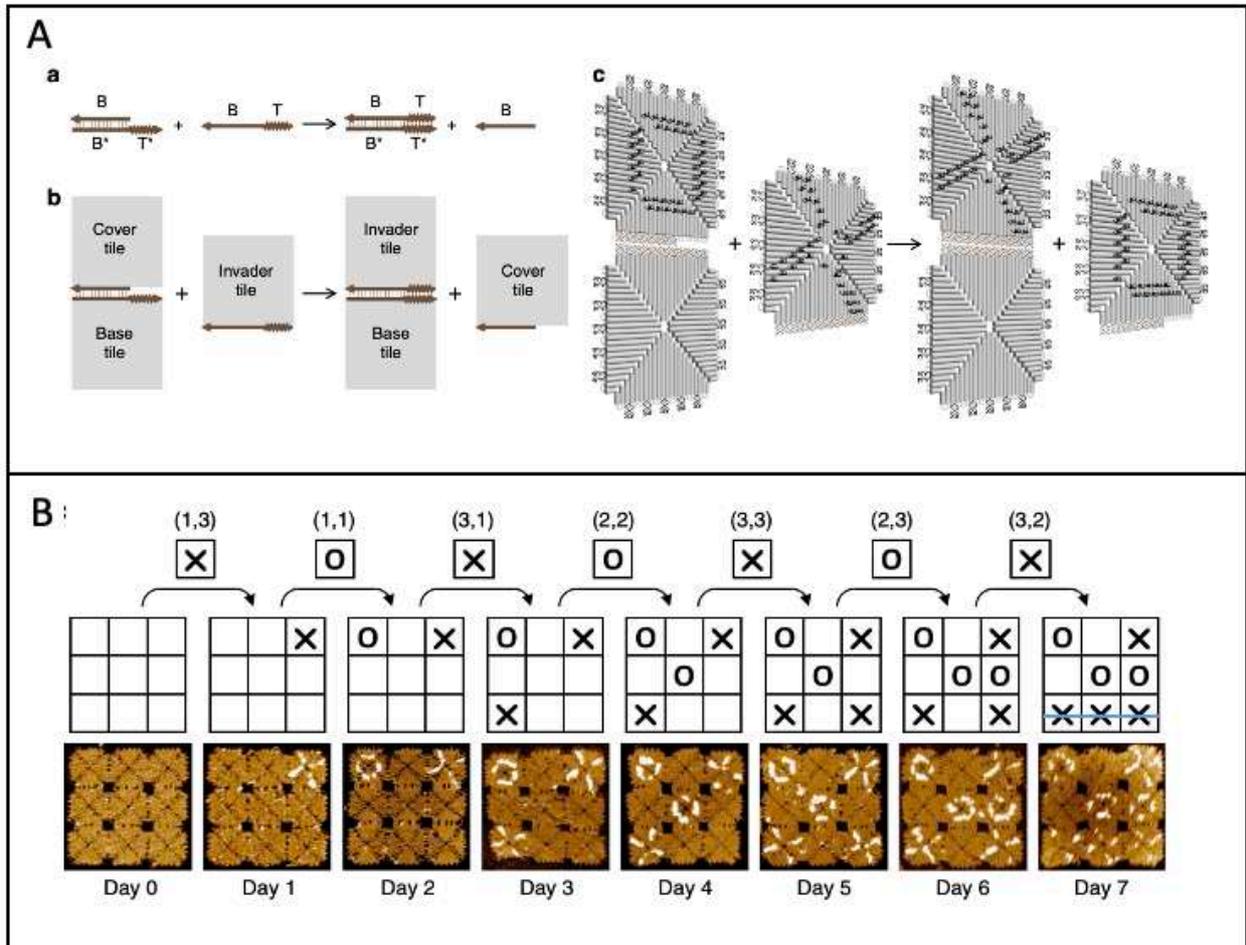


Figure 29 : A : Principe du déplacement de tuiles d'ADN origamis, B : Design et observation en AFM du jeu du morpion [68]

III. Conclusion

En conclusion, l'ADN est une molécule de choix pour ses qualités d'auto-assemblage programmable. Celles-ci sont particulièrement utilisées pour synthétiser des ADN origamis, nanostructures customisable de l'ordre d'une centaine de nanomètre pouvant s'oligomériser/se polymériser en de plus grandes structures

(jusqu'au gigaDalton). Ces ADN origamis sont composés d'un scaffold (long ADN simple brin) maintenu en une forme prédéfinie par différents oligonucléotides simple brins : les agrafes (ou staples).

Les ADN origamis peuvent avoir diverses applications : biophysiques, photoniques, plasmoniques, microélectroniques, diagnostiques, applications en biologie structurale [34]. Dans la seconde partie de cette thèse, nous nous intéresseront uniquement aux potentielles applications thérapeutiques de cette nanotechnologie.

Partie 2 :
**Potentielles applications thérapeutiques des
ADN origamis**

Partie 2 : Potentielles applications thérapeutiques des ADN origamis

I. Adressage des ADN origamis

Le ciblage de cellules par les ADN origamis est un challenge important de domaine d'études, d'autant plus lorsqu'on envisage des applications thérapeutiques.

Par exemple, des liens lipides-ADN peuvent être employés pour la délivrance de médicaments aux cellules (« drug delivery ») [69]. De plus, certaines techniques ont montré leur efficacité pour prévenir l'agrégation des molécules de cholestérol pouvant affecter le contrôle structural de la molécule : employer des séquences d'ADN avec le minimum de formation de structures secondaires, inclure une queue poly-T précédant l'étiquette cholestérol plutôt que des nucléotides à base de guanine et incorporer des extrémités libres simples brins à côté du groupe cholestérol lors du design de l'ADN origami. [70]

En cas de ciblage d'un récepteur spécifique, des ligands [71], aptamères [72], anticorps et nanobodies [73] peuvent être couplés à l'ADN origami, par exemple par l'intermédiaire de click-chemistry [74].

De plus, Angelin *et al.* ont développé des structures d'origamis multi-échelles comme interface pour les cellules (MOSAIC) qui permettent l'adaptation de géométries de l'échelle du nanomètre à celle du micromètre [75].

En l'absence de la capacité à lier un récepteur spécifique, l'ADN origami peut-être décoré avec un peptide de pénétration cellulaire [71].

Enfin, des techniques chimiques de conjugaison de l'ADN peuvent être utilisées pour cibler la surface des bactéries, par des approches covalentes (oxydation au peroxyde de sodium, photo-crosslinking) et non-covalentes (insertions hydrophobiques de lipides par exemple en attachant des molécules de cholestérol à l'extrémité d'un brin d'ADN, liaison à un aptamère et conjugaison bactérienne à l'ADN

en utilisant une bactérie génétiquement modifiée pour exprimer les protéines His-tag à la surface) [76].

II. Potentielles applications thérapeutiques

1. Potentielles applications en néphrologie

La rhabdomyolyse (lyse musculaire) conduit à une libération de ROS (Reactive Oxygen Species) par la myoglobine. Ceux-ci induisent une oxydation des cellules épithéliales des tubules rénaux, les endommageant et provoquant ainsi une insuffisance rénale aiguë [77,78].

Les bases de l'ADN étant oxydables, un rectangle en ADN origami est décrit en par Jiang *et al.* [77,78] comme « piège » pour les ROS (Figure 30). Trois ROS majeurs furent testés *in vivo* chez le modèle murin ayant une insuffisance rénale aiguë induite par rhabdomyolyse : le peroxyde d'hydrogène, les anions superoxydes et le radical hydroxyle. Dans les trois cas, l'origami ADN s'avère efficace pour piéger les ROS, la dose thérapeutique étant 400 fois plus basse chez le modèle animal pour les ADN origamis que pour la N-acétyl-cystéine, connue pour être néphroprotectrice [79]. L'efficacité des ADN origamis dans ce contexte pourraient s'expliquer en partie par leur accumulation dans les tubules rénaux [77].

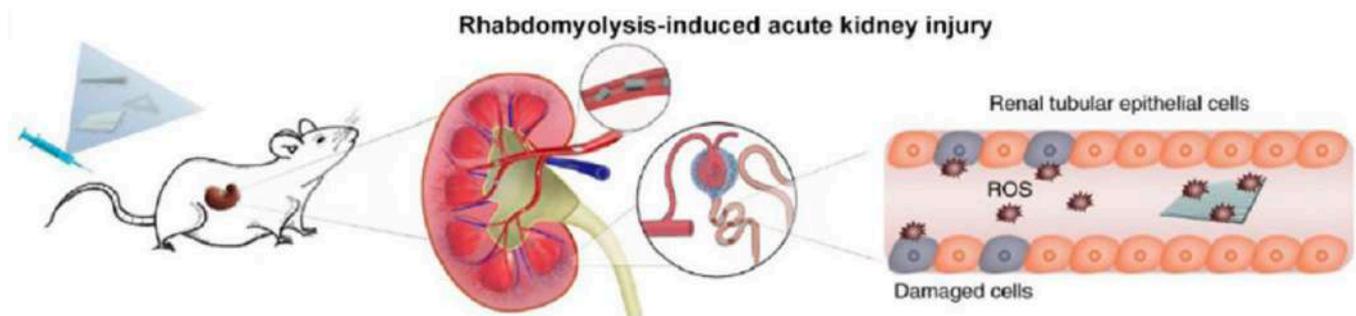


Figure 30 : ADN origami comme piège des ROS [77,78]

Dans l'insuffisance rénale aiguë d'origine ischémique, une voie de réparation du rein est de stimuler la réponse auto-immune. En 2021, Li *et al.* utilisent chez un modèle animal un radeau en ADN origami (nanoraft) sur lequel ils greffent des molécules d'interleukine 33 (IL-33) [80]. Les nanorafts s'accumulent dans les tubules rénaux [77],

ils permettent un relargage soutenu d'IL-33 dans le tubule rénal, induisant une rapide augmentation de lymphocytes T régulateurs (Treg) et des cellules lymphoïdes innées de type 2 (ILC2s) qui permettent une réparation du rein (Figure 31). Le traitement par nanoraft semble plus efficace que le traitement par IL-33 libres et laisse donc entrevoir un nouvel outil thérapeutique contre l'insuffisance rénale aiguë d'origine ischémique et d'autres maladies rénales.



Figure 31 : Mécanisme d'action du nanoraft dans l'insuffisance rénale aiguë d'origine ischémique [80]

Chez le patient souffrant d'insuffisance rénale sévère, une hémodialyse est nécessaire afin de suppléer la fonction rénale en dialysant le sang ex-vivo. Cependant, le développement d'anticoagulants et d'antidotes sûrs pour l'utilisation durant la dialyse reste un challenge. En 2021, Zhao, Tian, Liu *et al.* décrivent un ADN origami inhibant l'activité de la thrombine et donc la formation de thrombus [81]. Pour cela, deux types d'aptamères liant la thrombine sont greffés à l'ADN origami, permettant la reconnaissance et l'inhibition de la protéine (Figure 32). Ils observent une augmentation de l'anticoagulation dans le plasma humain, le sang frais et un modèle murin. Si besoin, les oligonucléotides comprenant les séquences complémentaires des aptamères peuvent neutraliser l'effet anticoagulant. Enfin, cet origami est sûr et immunologiquement inerte chez la souris saine et n'induit aucun changement détectable des fonctions hépatiques ou rénales ou encore des concentrations en cytokines.

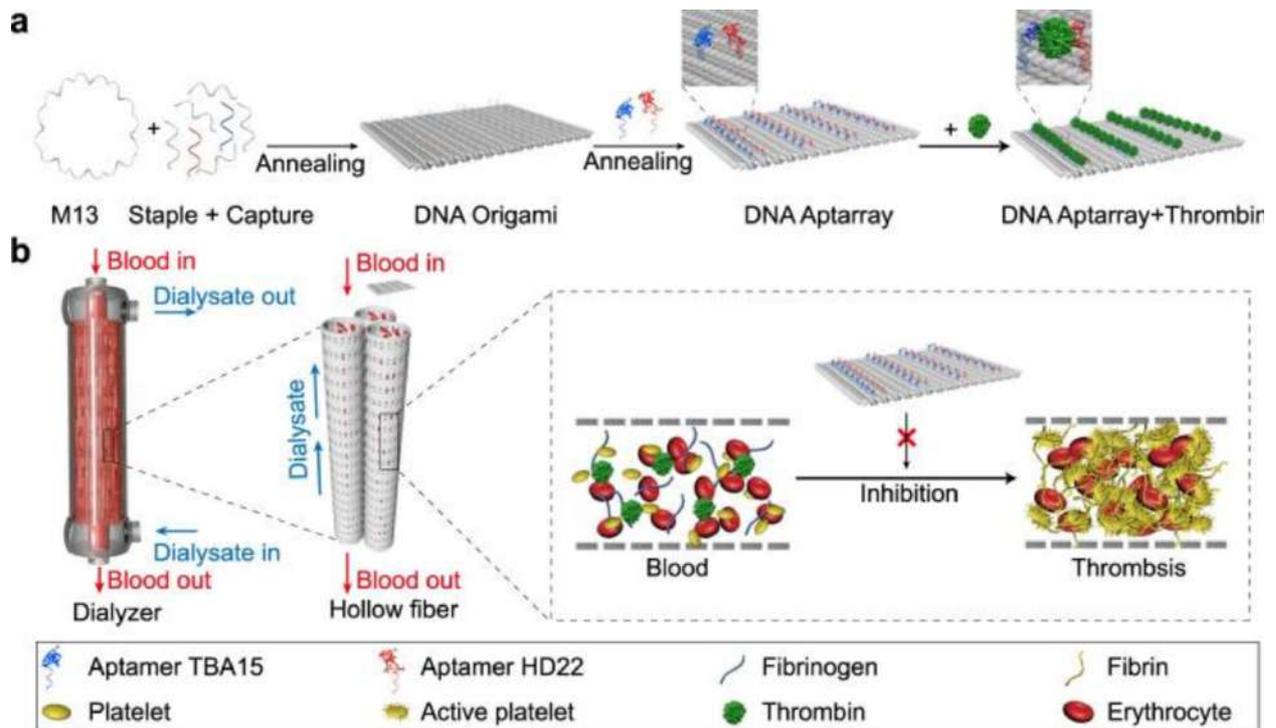


Figure 32 : Mécanisme d'action de l'origami anticoagulant décrit par Zhao, Tian, Liu et al. [81]

2. Potentielles applications en diabétologie

L'agrégation du polypeptide amyloïde humain des îlots (hIAPP) joue un rôle majeur dans la pathogénèse du diabète de type 2, notamment du fait de sa toxicité sur les cellules β des îlots de Langerhans dans le pancréas [82]. En 2020, Hanke *et al.* étudient les effets de deux nanostructures d'ADN origami (triangles, ou paquet de six doubles hélices) [83]. Les mesures de turbidités indiquent que les ADN origamis semblent retarder l'agrégation d'hIAPP tandis que les résultats AFM montrent une coagrégation d'hIAPP avec les origamis ADN, possiblement à cause des interactions électrostatiques fortes entre l'ADN chargé négativement et le peptide chargé positivement. Les ADN origamis représentent donc une nouvelle opportunité pour moduler l'agrégation d'amyloïde *in vivo*.

3. Potentielles applications en hépatologie

En 2021, Li *et al.* discutent brièvement de l'intérêt d'une structure origami pour charger des molécules de petit ARN interférent (siRNA) (Figure 33) et être potentiellement utilisés en thérapie du syndrome métabolique. Ce syndrome est une association de problématiques complexes et inflammatoires, caractérisé par une obésité centrale et un risque augmenté de maladies cardio-vasculaires. D'après eux, comme il a été montré que les ADN origamis peuvent s'accumuler dans le foie et être de bons transporteurs de siRNA [84], alors ils sont de bonnes potentielles applications pour la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) ainsi que la stéatohépatite non alcoolique (NASH) [85].

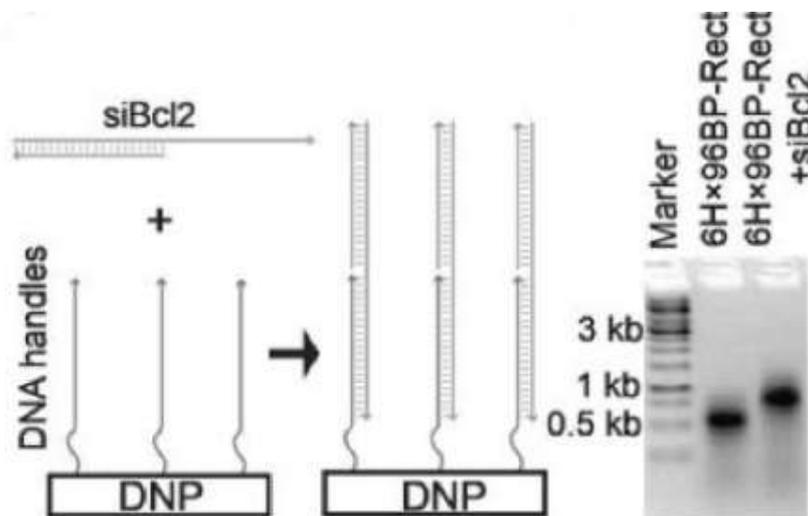


Figure 33 : Chargement du siRNA sur l'ADN origami

4. Potentielles applications en inflammation, infectiologie et immunologie

4.1. *Inflammation*

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique induisant des gonflement et douleurs dans les articulations et résultant à une synovite et une limitation à se servir des articulations touchées, voire d'un handicap. Dans le développement de la PR, les macrophages pro-inflammatoires M1 expriment de forts taux de ROS qui induisent l'inflammation de la synoviale et une érosion de l'os. Ma *et al.* décrivent en 2022 un ADN origami en forme triangulaire (tDONs) modifié avec de l'acide folique (FA-tDONs) [86]. Du fait de la propension des bases de l'ADN à être oxydés (voir 1. de ce chapitre), l'objectif était que cet origami piège les ROS et facilite ainsi la transition du phénotype M1 (pro-inflammatoire) des macrophages au phénotype M2 (anti inflammatoire) (Figure 34). Dans le modèle murin de PR, l'origami atténue la progression de la pathologie en limitant l'inflammation (visible, histologique, examens sériques).

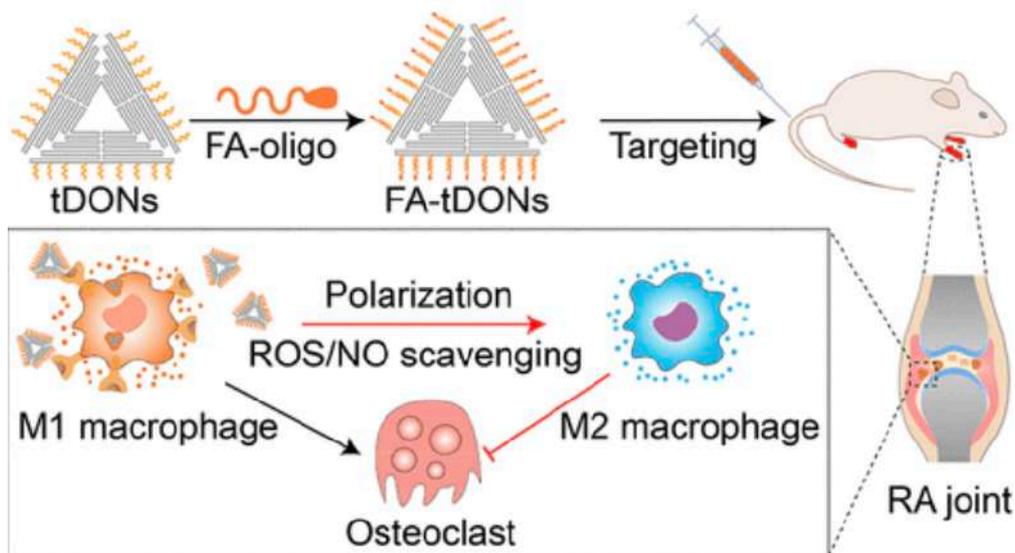


Figure 34 : FA-tDONs : Mécanisme d'action d'un origami ADN dans le cadre d'un inflammation chronique (la polyarthrite rhumatoïde) [86]

4.2. Bactéries

L'antibiorésistance est un problème de santé publique croissant qui nous rend de plus en plus vulnérables face aux infections bactériennes. En 2020, Mela *et al.* décrivent un ADN origami plan agissant comme une plateforme pouvant cibler les bactéries grâce à des aptamères et leur délivrer de manière spécifique du lysozyme visant à ralentir la croissance bactérienne [87]. Cette plateforme (Figure 35) fut testée et validée sur des bactéries à Gram positif (*Bacillus subtilis*) et Gram négatif (*Escherichia coli*), cet outil permettant de ralentir la croissance bactérienne plus efficacement que le lysozyme seul. Le fait de cibler et localiser le fait de délivrer plusieurs molécules de lysozyme par bactérie réduit donc la quantité d'agent actif nécessaire pour obtenir un effet antibactérien donné. Cette étude ouvre donc la voie aux utilisations des ADN origamis dans la lutte contre l'antibiorésistance, ce système pouvant s'adapter facilement pour transporter différentes charges vers différentes cibles. Enfin, cet origami aurait le potentiel de bloquer des cibles spécifiques à la surface grâce aux aptamères, inhibant ainsi certaines fonctions bactériennes.

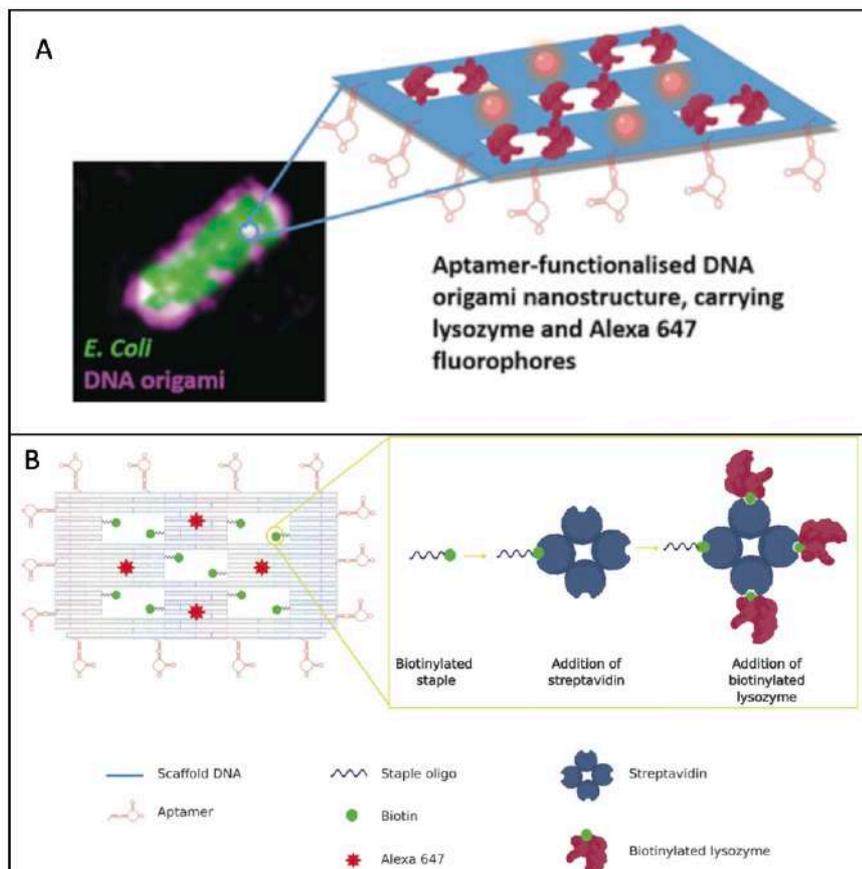


Figure 35 : Design de l'origami à visée antibactérienne [87]

4.3. Virus

En 2020, Veneziano *et al.* étudient le rôle de l'organisation des antigènes sur l'activation des lymphocytes B en utilisant un ADN origami [88]. Pour cela, ils synthétisent un ADN origami de forme icosaédrique « virus-like » sur lequel ils greffent des copies en différents nombres et différents emplacements de l'antigène eOD-GT8, un ARNm de 60 nucléotides étudié actuellement comme potentiel vaccin contre le VIH-1 (études de sécurité et d'immunogénicité, ClinicalTrials.gov, identifier : NCT05414786). Cet antigène est un domaine issu du domaine externe du VIH-1, la glycoprotéine-120. Ils montrèrent que la signalisation des lymphocytes B était maximisée par la disposition de cinq antigènes le plus espacés possible sur la surface de l'origami en forme de virus. Espacer les antigènes de 25 à 30 nm augmente l'activation des lymphocytes B. Également, la rigidité du scaffold est essentielle pour une activation robuste des lymphocytes B.

Ces résultats permettent de concevoir des règles qui pourraient être utilisées dans la conception de vaccins à base d'ADN origamis pour obtenir une réponse des lymphocytes B optimisée.

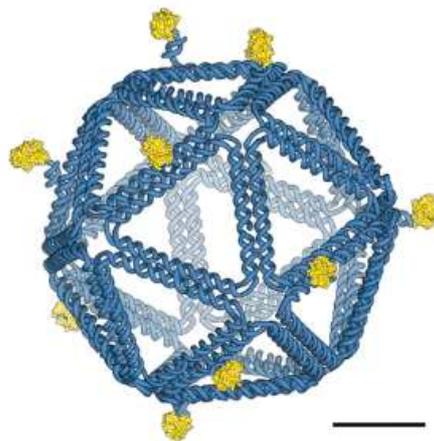


Figure 36 : Origami ADN en forme de virus (icosaédrique) présentant 10 copies de l'antigène eOD-GT8 (barre d'échelle = 10 nm) [88]

En 2021, l'équipe de Dietz publie dans le journal *Nature Materials* une série de capsides icosaédriques en ADN visant à piéger et ainsi neutraliser des particules virales [89]. Plusieurs ADN origamis triangles s'assemblent par complémentarité de forme (Figure 37) pour former ces capsides. Les différentes masses moléculaires des capsides vont de 43 à 925 MDa (8 à 180 sous-unités) et le diamètre de la cavité interne

va jusqu'à 280 nm. L'intérieur de la capside peut être fonctionnalisée avec des portions spécifiques d'un virus. Ils démontrèrent ce concept en encapsulant les particules virales du virus de l'hépatite B HBV (inhibant ainsi les interactions avec les surfaces *in vitro*) et de virus adéno-associés AAV (neutralisant l'infectiosité du virus exposé à des cellules humaines).

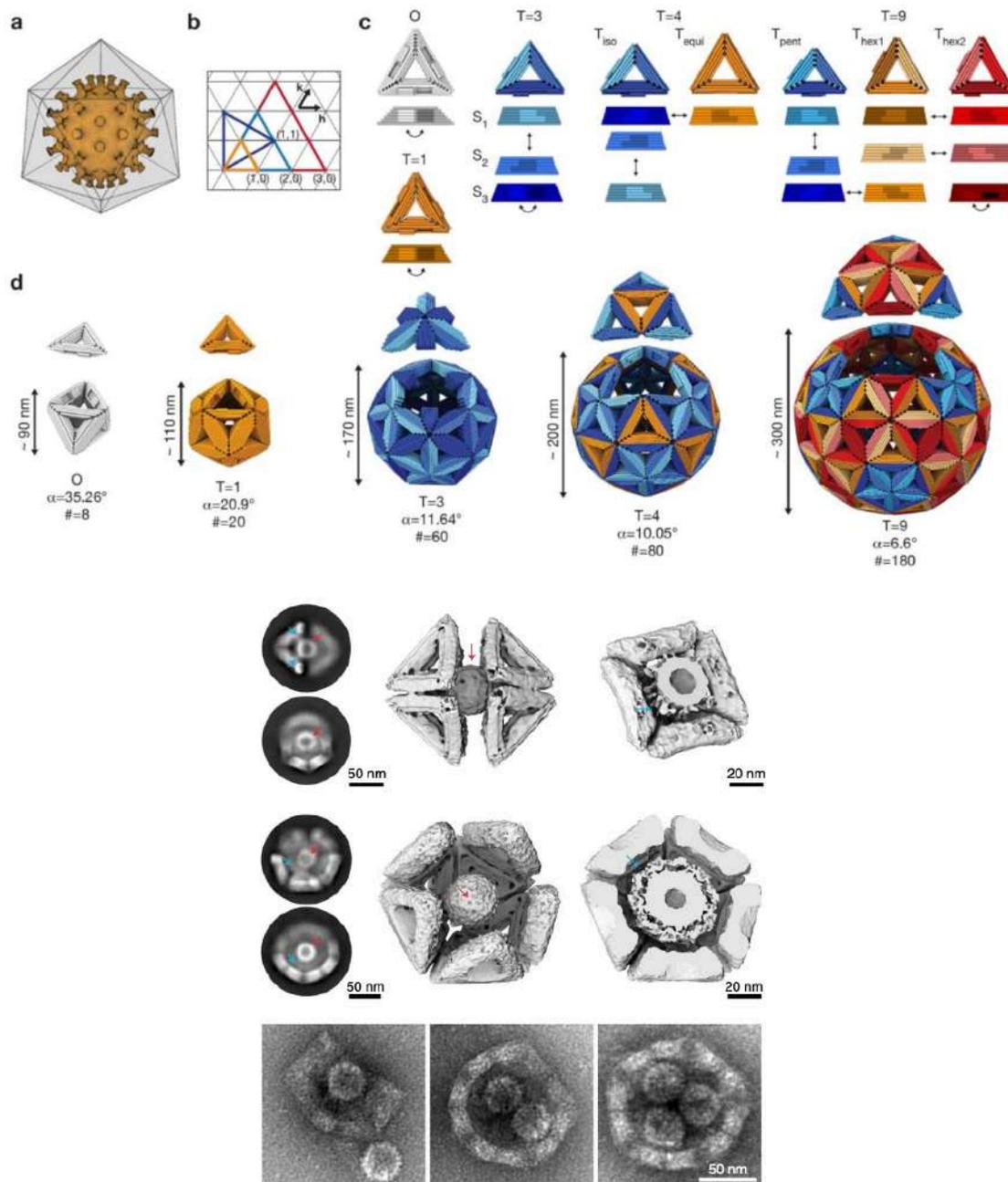


Figure 37 : Design et modélisation des capsides (en haut) puis vue en cryo-EM et reconstructions 3D des capsides piégeant les particules virales d'HBV [89]

Par la suite, d'autres techniques de neutralisation ou de contrôle de la virulence de virus par encapsidation avec des origamis furent publiées : l'encapsidation électrostatique de l'Herpès Simplex Virus 1 par des feuilles rectangulaires d'origamis conjugués à de l'acide folique (Figure 37A) [90], les nanocages icosaédriques pour le blocage du SARS-CoV-2 (Figure 37B) [91], les capsides icosaédriques de Dietz mais cette fois en exploitant l'affinité de différents virus pour les protéoglycanes à sulfate d'héparane (Figure 37C) [92] ou encore le nano-filet inhibiteur du SARS-CoV-2 (Figure 37D) [93].

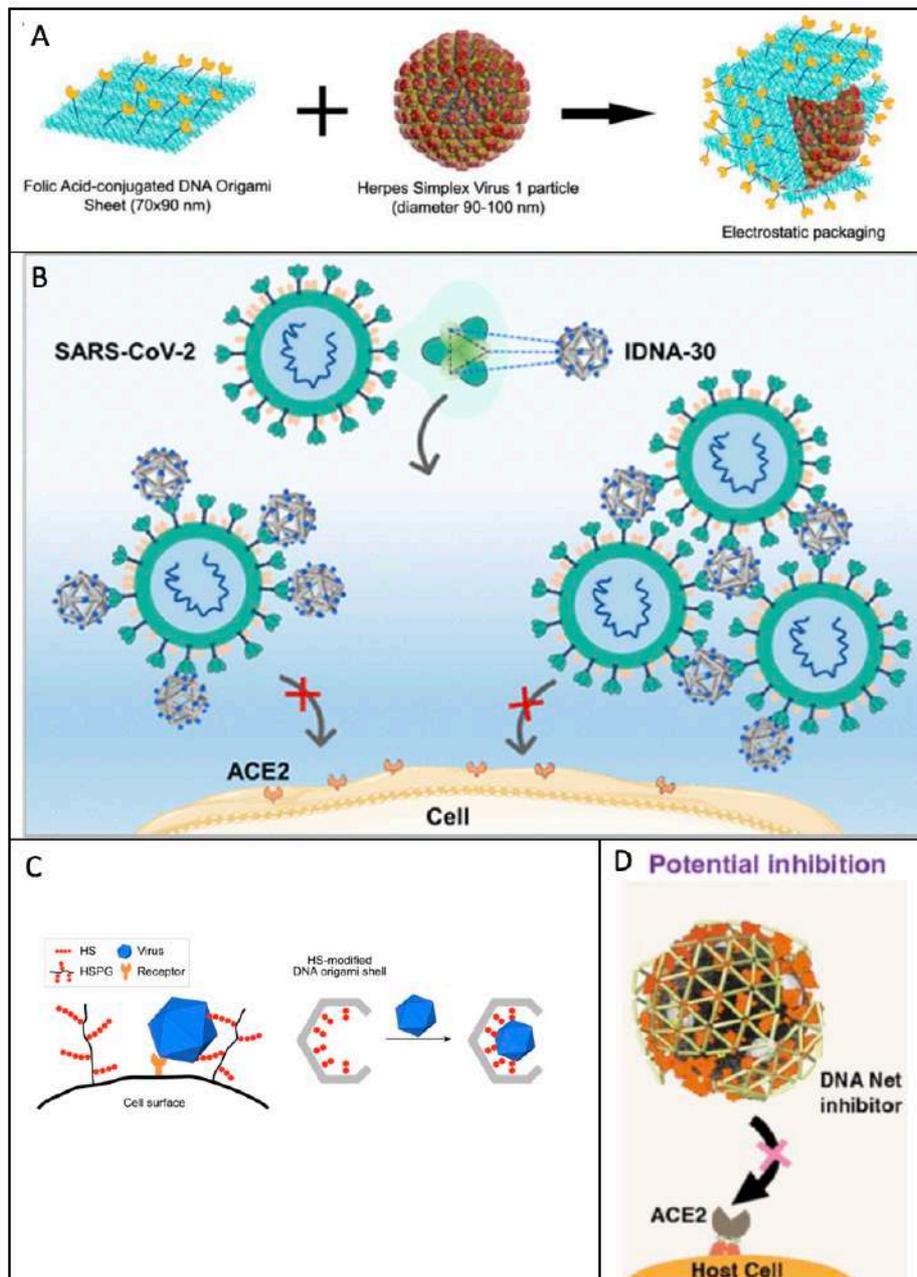


Figure 38 : Différentes techniques de neutralisation de virus par encapsidation [90–93]

5. Potentielles applications en cancérologie

L'enjeu des ADN origamis en cancérologie est de pouvoir obtenir une thérapie ciblée permettant de détruire les cellules tumorales, avec une bonne biocompatibilité et peu d'effets indésirables (cibler spécifiquement les cellules tumorales), contrairement aux chimiothérapies actuelles [94].

5.1. *Drug delivery de doxorubicine*

Dans la littérature, on retrouve de nombreuses descriptions d'origamis de différentes formes servant de transporteur pour différentes molécules comme par exemple des petits ARN interférents (siRNA) [84]. C'est le « drug delivery ».

Une autre molécule souvent incorporée aux ADN origamis pour être ensuite délivrée à une cellule cancéreuse cible est la doxorubicine (DOX), molécule anticancéreuse étant un intercalant de l'ADN [95–98]. La Figure 39 montre le processus de design et de synthèse d'un ADN origami ainsi que de son chargement en doxorubicine [96]. Après distribution *in vivo*, l'origami triangulaire démontre une accumulation optimale dans la tumeur par rapport aux autres formes détaillées sur la figure (accumulation passive), c'est pourquoi il fut choisi pour transporter la doxorubicine. Après imagerie par fluorescence et évaluations de sécurité, le DOX/DNA origami montre une efficacité antitumorale remarquable sans toxicité observable chez la souris nude portant la tumeur du sein. Cette étude montre donc le potentiel pour les ADN origamis d'être des plateformes pour un drug delivery sûr et efficace de molécules anticancéreuses *in vivo*.

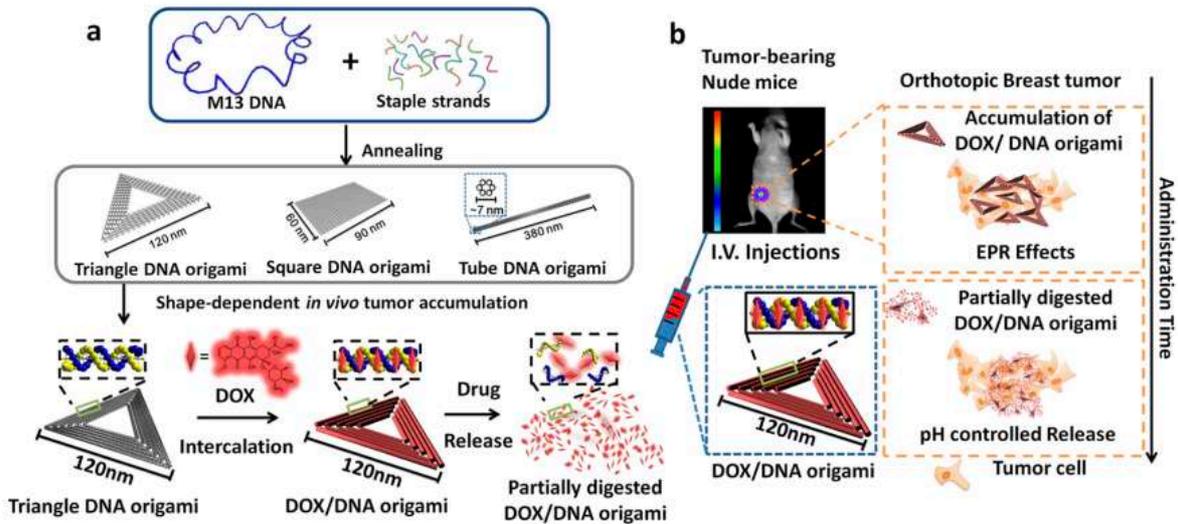


Figure 39 : Design et évolution *in vivo* du DOX/DNA origami

Dans ces travaux, il est question d'accumulation passive dans la tumeur. Pal et Rakshit [98] proposent eux un ADN origami fonctionnalisé avec des folates et qui peut donc cibler effectivement le récepteur aux folates α (FOLR1) surexprimé par les cellules cancéreuses du cancer du sein triple négatif *in vitro* (Figure 40). Ainsi, ils démontrent que ces ADN origamis adressés ciblent et tuent (grâce au relargage de doxorubicine) les cellules cancéreuses avec une meilleure efficacité qu'un origami non adressé.

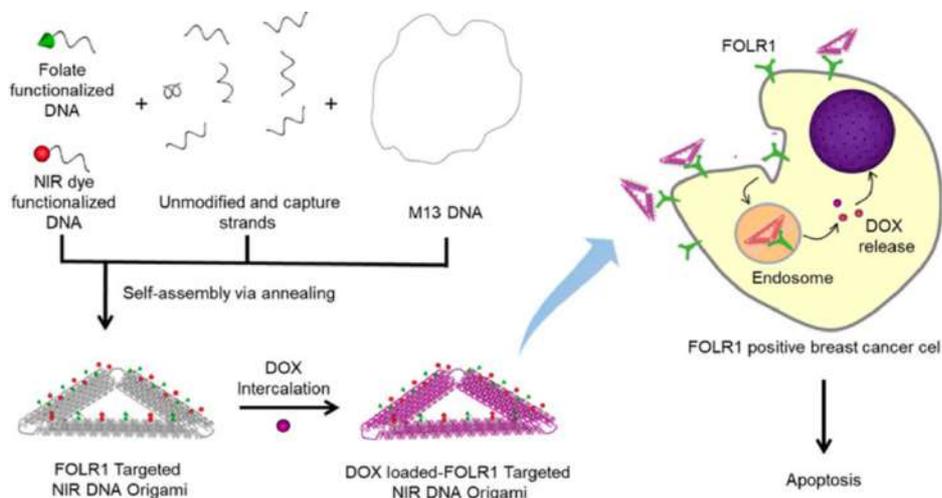


Figure 40 : Représentation schématique d'un ADN origami fonctionnalisé avec des folates pour le relargage ciblé de doxorubicine [98]

Ijäs *et al.* ont quant à eux démontré que le design de l'origami pouvait influencer le chargement et le relargage de la doxorubicine [95]. En effet, ils observent une claire corrélation entre la dégradation de l'ADN origami (DON) par les nucléases et le

relargage de la doxorubicine alors que l'on sait que la structure et la rigidité des DON ont un impact sur leur stabilité contre la dégradation (cf. précédemment). D'un autre côté, une rigidité trop forte de l'origami du fait d'hélices trop compactées détériorerait le chargement de la doxorubicine. Enfin, ils ont aussi observé qu'augmenter la quantité de DOX chargée sur l'origami ralentit ensuite sa digestion, possiblement à cause d'interférences entre la DOX et l'origami qui restreint l'accès que peut avoir la nucléase.

5.2. Nanorobot et relargage de thrombine

En 2018, Li *et al.* conçoivent un nanorobot en ADN consistant en un nanotube enfermant dans sa cavité des molécules de thrombine [72]. Le nanotube est fonctionnalisé avec un aptamère en ADN qui sert à la fois de molécule permettant l'adressage du nanorobot mais aussi d'élément déclenchant permettant l'ouverture mécanique du nanorobot. Au contact de nucléoline (exprimée seulement par les cellules endothéliales tumorales), le nanorobot change donc de conformation et s'ouvre, permettant alors à la thrombine d'exercer son action coagulante et de créer un thrombus, aboutissant lui-même à la nécrose de la tumeur (Figure 41). Le nanorobot a prouvé son efficacité, sa sécurité (pas d'ouverture du nanorobot dans les vaisseaux sains) et son caractère inerte immunologiquement chez la souris et chez le porc Bama. Cette approche représente donc une stratégie prometteuse pour le drug delivery en cancérologie.

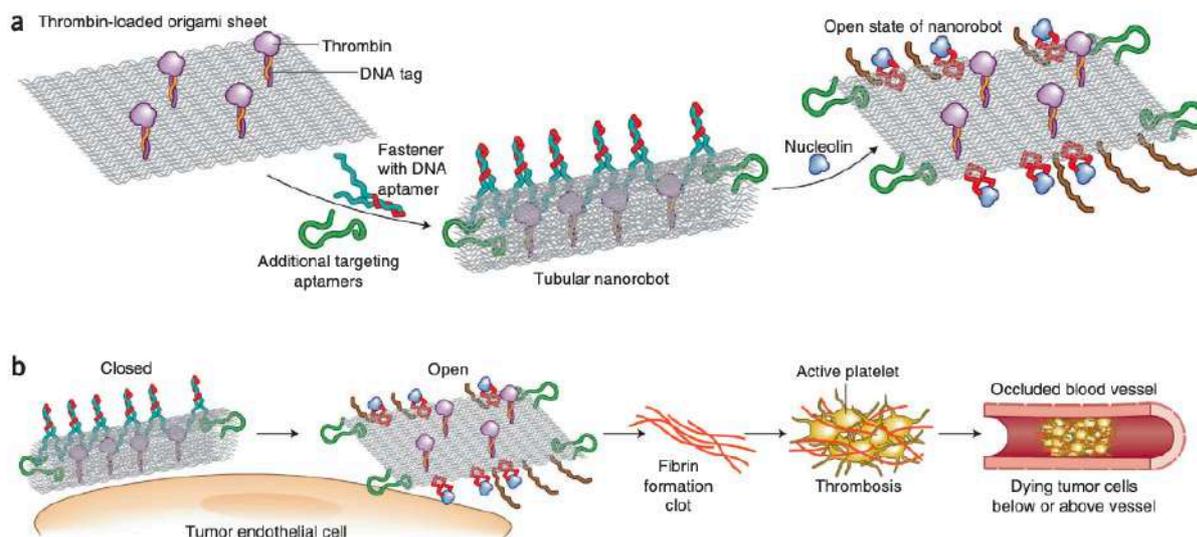


Figure 41 : Composition et mode d'action du nanorobot développé par Li *et al.* [72,99]

5.3. Clustering de récepteurs induisant l'apoptose

L'organisation spatiale des récepteurs transmembranaires du facteur de nécrose tumorale (TNF) est impliquée dans la régulation de la mort cellulaire. Ainsi, l'équipe de Björn Högberg a développé un ADN origami décoré de peptides analogues du TNF de façon à induire une mort cellulaire, 5 nm étant la distance inter-ligands critique pour des peptides placés de façons hexagonale les uns par rapport aux autres pour induire un clustering des récepteurs se traduisant par l'apoptose de la cellule (Figure 42) [100].

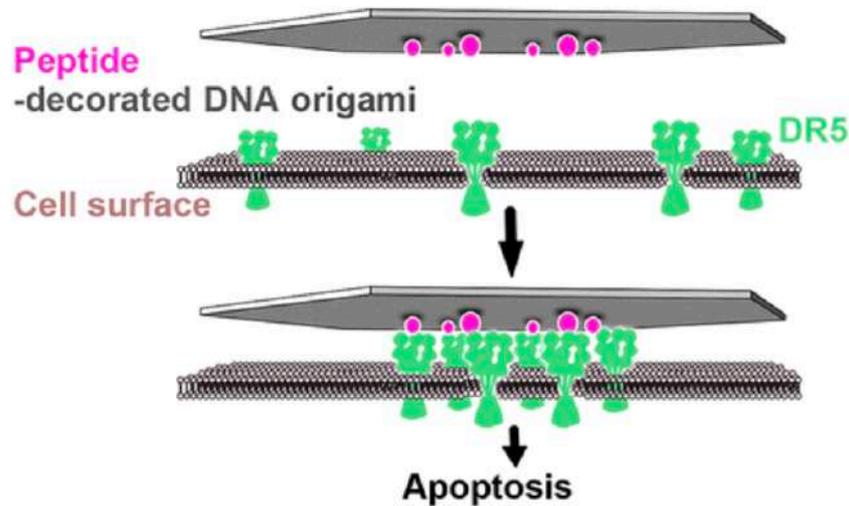


Figure 42 : Mode d'action de l'origami décoré d'analogues du TNF permettant le clustering des récepteurs DR5 et ainsi le déclenchement de l'apoptose dans les cellules tumorales [100]

Conclusion

En conclusion, la nanotechnologie des ADN origamis est une nanotechnologie programmable permettant de créer des structures robustes qui s'auto-assemblent. Celles-ci ont de nombreuses applications dans différents domaines (microélectronique, biophysique, plasmonique, ...). En thérapeutique, ses applications sont également variées (cancérologie, immunologie, ...) et peuvent toucher tous les systèmes (néphrologie, hépatologie, ...).

Si les nanotechnologies à base d'ADN et en particulier les ADN origamis ouvrent des opportunités notamment grâce à leur possible fonctionnalisation, adressage et reconfigurations, elles ont aussi des enjeux et des limitations.

En effet, cette branche connaît de nombreux challenges que ce soit en ce qui concerne le design avec des limitations actuelles concernant les structures courbes réalisables pour l'instant ou que ce soit sur les applications thérapeutiques. Les enjeux dans ce champ-là concernent notamment l'intégrité structurale des ADN origamis dans les tampons et milieux physiologiques, la résistance enzymatique aux nucléases ou encore les voies de pénétrations dans la cellule lorsque nécessaire.

Bibliographie

1. Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. STUDIES ON THE CHEMICAL NATURE OF THE SUBSTANCE INDUCING TRANSFORMATION OF PNEUMOCOCCAL TYPES. *J Exp Med.* 1 févr 1944;79(2):137-58.
2. Dahm R. Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. *Hum Genet.* janv 2008;122(6):565-81.
3. Levene PA. THE STRUCTURE OF YEAST NUCLEIC ACID. *J Biol Chem.* déc 1919;40(2):415-24.
4. Chargaff E. Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia.* juin 1950;6(6):201-9.
5. Watson JD, Crick FHC. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature.* 25 avr 1953;171(4356):737-8.
6. Wilkins MHF, Stokes AR, Wilson HR. Molecular Structure of Nucleic Acids: Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids. *Nature.* 25 avr 1953;171(4356):738-40.
7. Franklin RE, Gosling RG. Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate. *Nature.* 25 avr 1953;171(4356):740-1.
8. Pray LA. Discovery of DNA Structure and Function: Watson and Crick. *Nat Educ.* 2008;1(1):100.
9. Seeman NC. Nanotechnology and the Double Helix. *Sci Am.* juin 2004;290(6):64-75.
10. Garrett, Grisham. *Biochemistry.* Saunders Coll Publ. 1995;220.
11. Bansal A, Kaushik S, Kukreti S. Non-canonical DNA structures: Diversity and disease association. *Front Genet.* 5 sept 2022;13:959258.

12. Holliday R. A mechanism for gene conversion in fungi. *Genet Res.* juill 1964;5(2):282-304.
13. Seeman NC. Nucleic acid junctions and lattices. *J Theor Biol.* nov 1982;99(2):237-47.
14. Kallenbach NR, Ma RI, Seeman NC. An immobile nucleic acid junction constructed from oligonucleotides. *Nature.* oct 1983;305(5937):829-31.
15. Seeman NC. DNA NANOTECHNOLOGY: Novel DNA Constructions. *Annu Rev Biophys Biomol Struct.* juin 1998;27(1):225-48.
16. Sa-Ardyen P, Vologodskii AV, Seeman NC. The Flexibility of DNA Double Crossover Molecules. *Biophys J.* juin 2003;84(6):3829-37.
17. LaBean TH, Yan H, Kopatsch J, Liu F, Winfree E, Reif JH, et al. Construction, Analysis, Ligation, and Self-Assembly of DNA Triple Crossover Complexes. *J Am Chem Soc.* 1 mars 2000;122(9):1848-60.
18. Fu TJ, Seeman NC. DNA double-crossover molecules. *Biochemistry.* 1 avr 1993;32(13):3211-20.
19. Ullal KA. DNA Origami: Its Evolution and Application in Nanotechnology. *Int J High Sch Res.* 30 juin 2022;4(3):109-15.
20. Nangreave J, Han D, Liu Y, Yan H. DNA origami: a history and current perspective. *Curr Opin Chem Biol.* oct 2010;14(5):608-15.
21. Yan H, LaBean TH, Feng L, Reif JH. Directed nucleation assembly of DNA tile complexes for barcode-patterned lattices. *Proc Natl Acad Sci.* 8 juill 2003;100(14):8103-8.
22. Shih WM, Quispe JD, Joyce GF. A 1.7-kilobase single-stranded DNA that folds into a nanoscale octahedron. *Nature.* févr 2004;427(6975):618-21.
23. Rothemund PWK. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature.* mars 2006;440(7082):297-302.

24. Douglas SM, Dietz H, Liedl T, Högberg B, Graf F, Shih WM. Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes. *Nature*. mai 2009;459(7245):414-8.
25. Dietz H, Douglas SM, Shih WM. Folding DNA into twisted and curved nanoscale shapes. *Science*. 7 août 2009;325(5941):725-30.
26. Liu Y, Yan H. Designer Curvature. *Science*. 7 août 2009;325(5941):685-6.
27. Peters JP, Maher LJ. DNA curvature and flexibility *in vitro* and *in vivo*. *Q Rev Biophys*. févr 2010;43(1):23-63.
28. Han D, Pal S, Nangreave J, Deng Z, Liu Y, Yan H. DNA Origami with Complex Curvatures in Three-Dimensional Space. *Science*. 15 avr 2011;332(6027):342-6.
29. Castro CE, Kilchherr F, Kim DN, Shiao EL, Wauer T, Wortmann P, et al. A primer to scaffolded DNA origami. *Nat Methods*. mars 2011;8(3):221-9.
30. Ke Y, Douglas SM, Liu M, Sharma J, Cheng A, Leung A, et al. Multilayer DNA Origami Packed on a Square Lattice. *J Am Chem Soc*. 4 nov 2009;131(43):15903-8.
31. Rangnekar A, Gothelf KV, LaBean TH. Design and synthesis of DNA four-helix bundles. *Nanotechnology*. 10 juin 2011;22(23):235601.
32. Ke Y, Voigt NV, Gothelf KV, Shih WM. Multilayer DNA Origami Packed on Hexagonal and Hybrid Lattices. *J Am Chem Soc*. 25 janv 2012;134(3):1770-4.
33. Ke Y, Bellot G, Voigt NV, Fradkov E, Shih WM. Two design strategies for enhancement of multilayer–DNA-origami folding: underwinding for specific intercalator rescue and staple-break positioning. *Chem Sci*. 2012;3(8):2587.
34. Wagenbauer KF, Engelhardt FAS, Stahl E, Hechtl VK, Stömmer P, Seebacher F, et al. How We Make DNA Origami. *ChemBioChem*. 5 oct 2017;18(19):1873-85.
35. Douglas SM, Marblestone AH, Teerapittayanon S, Vazquez A, Church GM, Shih WM. Rapid prototyping of 3D DNA-origami shapes with caDNAno. *Nucleic Acids Res*. août 2009;37(15):5001-6.

36. Glaser M, Deb S, Seier F, Agrawal A, Liedl T, Douglas S, et al. The Art of Designing DNA Nanostructures with CAD Software. *Molecules*. 15 avr 2021;26(8):2287.
37. Koh H, Lee JG, Lee JY, Kim R, Tabata O, Kim JW, et al. Design Approaches and Computational Tools for DNA Nanostructures. *IEEE Open J Nanotechnol*. 2021;2:86-100.
38. Huang CM, Kucinic A, Johnson JA, Su HJ, Castro CE. Integrated computer-aided engineering and design for DNA assemblies. *Nat Mater* [Internet]. 19 avr 2021 [cité 6 mai 2021]; Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41563-021-00978-5>
39. Veneziano R, Ratanalert S, Zhang K, Zhang F, Yan H, Chiu W, et al. Designer nanoscale DNA assemblies programmed from the top down. *Science*. 24 juin 2016;352(6293):1534-1534.
40. Snodin BEK, Randisi F, Mosayebi M, Šulc P, Schreck JS, Romano F, et al. Introducing improved structural properties and salt dependence into a coarse-grained model of DNA. *J Chem Phys*. 21 juin 2015;142(23):234901.
41. Kick B, Praetorius F, Dietz H, Weuster-Botz D. Efficient Production of Single-Stranded Phage DNA as Scaffolds for DNA Origami. *Nano Lett*. 8 juill 2015;15(7):4672-6.
42. Denhardt DT, Model P. The Single-Stranded DNA Phages. *CRC Crit Rev Microbiol*. janv 1975;4(2):161-223.
43. Marchi AN, Saaem I, Vogen BN, Brown S, LaBean TH. Toward Larger DNA Origami. *Nano Lett*. 8 oct 2014;14(10):5740-7.
44. Niekamp S, Blumer K, Nafisi PM, Tsui K, Garbutt J, Douglas SM. Folding complex DNA nanostructures from limited sets of reusable sequences. *Nucleic Acids Res*. 20 juin 2016;44(11):e102-e102.

45. Engelhardt FAS, Praetorius F, Wachauf CH, Brüggenthies G, Kohler F, Kick B, et al. Custom-Size, Functional, and Durable DNA Origami with Design-Specific Scaffolds. *ACS Nano*. 28 mai 2019;13(5):5015-27.
46. Said H, Schüller VJ, Eber FJ, Wege C, Liedl T, Richert C. M1.3 – a small scaffold for DNA origami. *Nanoscale*. 2013;5(1):284-90.
47. Pound E, Ashton JR, Becerril HA, Woolley AT. Polymerase Chain Reaction Based Scaffold Preparation for the Production of Thin, Branched DNA Origami Nanostructures of Arbitrary Sizes. *Nano Lett*. 9 déc 2009;9(12):4302-5.
48. Erkelenz M, Bauer DM, Meyer R, Gatsogiannis C, Raunser S, Saccà B, et al. A Facile Method for Preparation of Tailored Scaffolds for DNA-Origami. *Small*. 15 janv 2014;10(1):73-7.
49. Reese CB. Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis. *Org Biomol Chem*. 2005;3(21):3851.
50. Schmidt TL, Beliveau BJ, Uca YO, Theilmann M, Da Cruz F, Wu CT, et al. Scalable amplification of strand subsets from chip-synthesized oligonucleotide libraries. *Nat Commun*. déc 2015;6(1):8634.
51. Ducani C, Kaul C, Moche M, Shih WM, Högberg B. Enzymatic production of « monoclonal stoichiometric » single-stranded DNA oligonucleotides. *Nat Methods*. juill 2013;10(7):647-52.
52. Praetorius F, Kick B, Behler KL, Honemann MN, Weuster-Botz D, Dietz H. Biotechnological mass production of DNA origami. *Nature*. 7 déc 2017;552(7683):84-7.
53. Jungmann R, Liedl T, Sobey TL, Shih W, Simmel FC. Isothermal Assembly of DNA Origami Structures Using Denaturing Agents. *J Am Chem Soc*. août 2008;130(31):10062-3.
54. Rossi-Gendron C, El Fakih F, Nakazawa K, Chocron L, Endo M, Sugiyama H, et al. Isothermal self-assembly of multicomponent and evolutive DNA nanostructures [Internet]. *Chemistry*; 2022 mars [cité 2 déc 2022]. Disponible sur:

<https://chemrxiv.org/engage/chemrxiv/article-details/6231020d5c8dae9fa4eb0d46>

55. Schneider F, Möritz N, Dietz H. The sequence of events during folding of a DNA origami. *Sci Adv.* 3 mai 2019;5(5):eaaw1412.
56. Lin C, Perrault SD, Kwak M, Graf F, Shih WM. Purification of DNA-origami nanostructures by rate-zonal centrifugation. *Nucleic Acids Res.* 1 janv 2013;41(2):e40-e40.
57. Hanke M, Hansen N, Chen R, Grundmeier G, Fahmy K, Keller A. Salting-Out of DNA Origami Nanostructures by Ammonium Sulfate. *Int J Mol Sci.* 4 mars 2022;23(5):2817.
58. Bellot G, McClintock MA, Lin C, Shih WM. Recovery of intact DNA nanostructures after agarose gel-based separation. *Nat Methods.* mars 2011;8(3):192-4.
59. Mills A, Aissaoui N, Maurel D, Elezgaray J, Morvan F, Vasseur JJ, et al. A modular spring-loaded actuator for mechanical activation of membrane proteins. *Nat Commun.* déc 2022;13(1):3182.
60. Scheible M, Jungmann R, Simmel FC. Assembly and Microscopic Characterization of DNA Origami Structures. In: Zahavy E, Ordentlich A, Yitzhaki S, Shafferman A, éditeurs. *Nano-Biotechnology for Biomedical and Diagnostic Research [Internet].* Dordrecht: Springer Netherlands; 2012 [cité 15 sept 2022]. p. 87-96. (*Advances in Experimental Medicine and Biology*; vol. 733). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-94-007-2555-3_9
61. Endo M. AFM-based single-molecule observation of the conformational changes of DNA structures. *Methods.* oct 2019;169:3-10.
62. Endo M, Hidaka K, Sugiyama H. Direct AFM observation of an opening event of a DNA cuboid constructed via a prism structure. *Org Biomol Chem.* 7 avr 2011;9(7):2075-7.
63. Bai X chen, Martin TG, Scheres SHW, Dietz H. Cryo-EM structure of a 3D DNA-origami object. *Proc Natl Acad Sci.* 4 déc 2012;109(49):20012-7.

64. Wagenbauer KF, Sigl C, Dietz H. Gigadalton-scale shape-programmable DNA assemblies. *Nature*. 7 déc 2017;552(7683):78-83.
65. Tikhomirov G, Petersen P, Qian L. Fractal assembly of micrometre-scale DNA origami arrays with arbitrary patterns. *Nature*. 7 déc 2017;552(7683):67-71.
66. Gerling T, Wagenbauer KF, Neuner AM, Dietz H. Dynamic DNA devices and assemblies formed by shape-complementary, non-base pairing 3D components. *Science*. 27 mars 2015;347(6229):1446-52.
67. Karabiyik H, Sevinçek R, Karabiyik H. π -Cooperativity effect on the base stacking interactions in DNA: is there a novel stabilization factor coupled with base pairing H-bonds? *Phys Chem Chem Phys*. 2014;16(29):15527.
68. Petersen P, Tikhomirov G, Qian L. Information-based autonomous reconfiguration in systems of interacting DNA nanostructures. *Nat Commun*. déc 2018;9(1):5362.
69. Cao Z, Tong R, Mishra A, Xu W, Wong GCL, Cheng J, et al. Reversible Cell-Specific Drug Delivery with Aptamer-Functionalized Liposomes. *Angew Chem Int Ed*. 17 août 2009;48(35):6494-8.
70. Ohmann A, Göpfrich K, Joshi H, Thompson RF, Sobota D, Ranson NA, et al. Controlling aggregation of cholesterol-modified DNA nanostructures. *Nucleic Acids Res*. 2 déc 2019;47(21):11441-51.
71. Balakrishnan D, Wilkens GD, Heddle JG. Delivering DNA origami to cells. *Nanomed*. avr 2019;14(7):911-25.
72. Li S, Jiang Q, Liu S, Zhang Y, Tian Y, Song C, et al. A DNA nanorobot functions as a cancer therapeutic in response to a molecular trigger in vivo. *Nat Biotechnol*. 12 févr 2018;36(3):258-64.
73. Sograte-Idrissi S, Oleksiievets N, Isbaner S, Eggert-Martinez M, Enderlein J, Tsukanov R, et al. Nanobody Detection of Standard Fluorescent Proteins Enables Multi-Target DNA-PAINT with High Resolution and Minimal Displacement Errors. *Cells*. 14 janv 2019;8(1):48.

74. Fabricius V, Lefèbre J, Geertsema H, Marino SF, Ewers H. Rapid and efficient C-terminal labeling of nanobodies for DNA-PAINT [Internet]. *Biophysics*; 2018 août [cité 17 oct 2022]. Disponible sur: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/389445>
75. Angelin A, Weigel S, Garrecht R, Meyer R, Bauer J, Kumar RK, et al. Multiscale Origami Structures as Interface for Cells. *Angew Chem Int Ed*. 21 déc 2015;54(52):15813-7.
76. Kong Y, Du Q, Li J, Xing H. Engineering bacterial surface interactions using DNA as a programmable material. *Chem Commun*. 2022;58(19):3086-100.
77. Jiang D, Ge Z, Im HJ, England CG, Ni D, Hou J, et al. DNA origami nanostructures can exhibit preferential renal uptake and alleviate acute kidney injury. *Nat Biomed Eng*. nov 2018;2(11):865-77.
78. Jiang D, Rosenkrans ZT, Ni D, Lin J, Huang P, Cai W. Nanomedicines for Renal Management: From Imaging to Treatment. *Acc Chem Res*. 15 sept 2020;53(9):1869-80.
79. Tepel M, van der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zidek W. Prevention of Radiographic-Contrast-Agent-Induced Reductions in Renal Function by Acetylcysteine. *N Engl J Med*. 20 juill 2000;343(3):180-4.
80. Li W, Wang C, Lv H, Wang Z, Zhao M, Liu S, et al. A DNA Nanoraft-Based Cytokine Delivery Platform for Alleviation of Acute Kidney Injury. *ACS Nano*. 23 nov 2021;15(11):18237-49.
81. Zhao S, Tian R, Wu J, Liu S, Wang Y, Wen M, et al. A DNA origami-based aptamer nanoarray for potent and reversible anticoagulation in hemodialysis. *Nat Commun*. déc 2021;12(1):358.
82. Berardet C. Développement de techniques physiques et chimiques pour l'étude et l'inhibition de l'oligomérisation et de l'agrégation de IAPP : intérêt dans le diabète de type II [Internet]. Université Paris-Saclay; 2018. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-03030245/document>

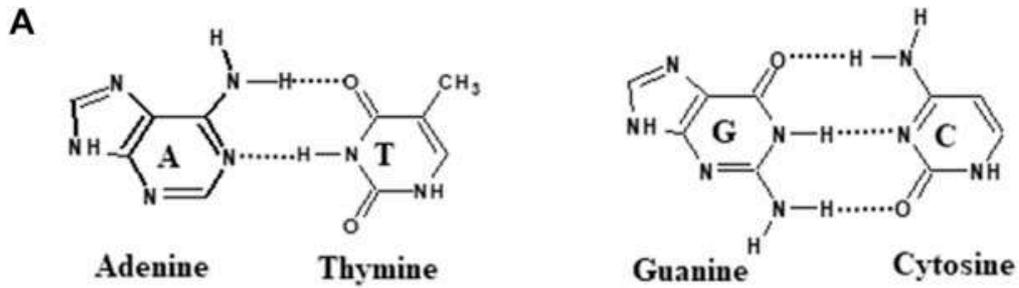
83. Hanke M, Gonzalez Orive A, Grundmeier G, Keller A. Effect of DNA Origami Nanostructures on hIAPP Aggregation. *Nanomaterials*. 4 nov 2020;10(11):2200.
84. Rahman MA, Wang P, Zhao Z, Wang D, Nannapaneni S, Zhang C, et al. Berichtigung: Systemic Delivery of Bc12-Targeting siRNA by DNA Nanoparticles Suppresses Cancer Cell Growth. *Angew Chem*. 27 juill 2020;132(31):12675-12675.
85. Li T, Zhu L, Zhu L, Wang P, Xu W, Huang J. Recent Developments in Delivery of MicroRNAs Utilizing Nanosystems for Metabolic Syndrome Therapy. *Int J Mol Sci*. 23 juill 2021;22(15):7855.
86. Ma Y, Lu Z, Jia B, Shi Y, Dong J, Jiang S, et al. DNA Origami as a Nanomedicine for Targeted Rheumatoid Arthritis Therapy through Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide Scavenging. *ACS Nano*. 23 août 2022;16(8):12520-31.
87. Mela I, Vallejo-Ramirez PP, Makarchuk S, Christie G, Bailey D, Henderson RM, et al. DNA Nanostructures for Targeted Antimicrobial Delivery. *Angew Chem Int Ed*. 27 juill 2020;59(31):12698-702.
88. Veneziano R, Moyer TJ, Stone MB, Wamhoff EC, Read BJ, Mukherjee S, et al. Role of nanoscale antigen organization on B-cell activation probed using DNA origami. *Nat Nanotechnol*. août 2020;15(8):716-23.
89. Sigl C, Willner EM, Engelen W, Kretzmann JA, Sachenbacher K, Liedl A, et al. Programmable icosahedral shell system for virus trapping. *Nat Mater [Internet]*. 14 juin 2021 [cité 15 juin 2021]; Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41563-021-01020-4>
90. Borum RM, Lin AE, Dong X, Kai M, Chen Y. DNA Origami Disguises Herpes Simplex Virus 1 Particles and Controls Their Virulence. *Molecules*. 23 oct 2022;27(21):7162.
91. Zhang J, Xu Y, Huang Y, Sun M, Liu S, Wan S, et al. Spatially Patterned Neutralizing Icosahedral DNA Nanocage for Efficient SARS-CoV-2 Blocking. *J Am Chem Soc*. 27 juill 2022;144(29):13146-53.

92. Monferrer A, Kretzmann JA, Sigl C, Sapelza P, Liedl A, Wittmann B, et al. Broad-Spectrum Virus Trapping with Heparan Sulfate-Modified DNA Origami Shells. *ACS Nano*. 2 nov 2022;acsnano.1c11328.
93. Chauhan N, Xiong Y, Ren S, Dwivedy A, Magazine N, Zhou L, et al. Net-Shaped DNA Nanostructures Designed for Rapid/Sensitive Detection and Potential Inhibition of the SARS-CoV-2 Virus. *J Am Chem Soc*. 26 juill 2022;jacs.2c04835.
94. Singh R, Deshmukh R. DNA Nanobots – Emerging Customized Nanomedicine in Oncology. *Curr Drug Deliv* [Internet]. 31 mars 2022 [cité 17 mai 2022];19. Disponible sur: <https://www.eurekaselect.com/202887/article>
95. Ijäs H, Shen B, Heuer-Jungemann A, Keller A, Kostianen MA, Liedl T, et al. Unraveling the interaction between doxorubicin and DNA origami nanostructures for customizable chemotherapeutic drug release [Internet]. *Biochemistry*; 2020 mai [cité 2 août 2021]. Disponible sur: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.05.13.088054>
96. Zhang Q, Jiang Q, Li N, Dai L, Liu Q, Song L, et al. DNA Origami as an *In Vivo* Drug Delivery Vehicle for Cancer Therapy. *ACS Nano*. 22 juill 2014;8(7):6633-43.
97. Li X, Wang X, Li H, Shi X, Zheng P. A Programming 20–30nm Rectangular DNA Origami for Loading Doxorubicin to Penetrate Ovarian Cancer Cells. *IEEE Trans NanoBioscience*. janv 2020;19(1):152-7.
98. Pal S, Rakshit T. Folate-Functionalized DNA Origami for Targeted Delivery of Doxorubicin to Triple-Negative Breast Cancer. *Front Chem*. 16 août 2021;9:721105.
99. Tasciotti E. Smart cancer therapy with DNA origami. *Nat Biotechnol*. mars 2018;36(3):234-5.
100. Wang Y, Baars I, Fördös F, Högberg B. Clustering of Death Receptor for Apoptosis Using Nanoscale Patterns of Peptides. *ACS Nano*. 22 juin 2021;15(6):9614-26.

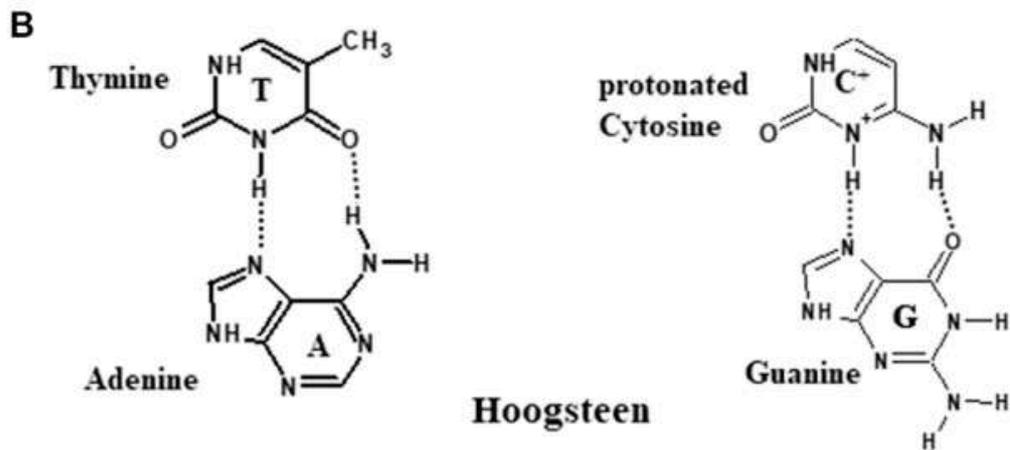
Annexes

	Double Helix Type		
	A	B	Z
Overall proportions	Short and broad	Longer and thinner	Elongated and slim
Rise per base pair	2.3 Å	3.32 Å ± 0.19 Å	3.8 Å
Helix packing diameter	25.5 Å	23.7 Å	18.4 Å
Helix rotation sense	Right-handed	Right-handed	Left-handed
Base pairs per helix repeat	1	1	2
Base pairs per turn of helix	~11	~10	12
Mean rotation per base pair	33.6°	35.9° ± 4.2°	-60°/2
Pitch per turn of helix	24.6 Å	33.2 Å	45.6 Å
Base-pair tilt from the perpendicular	+19°	-1.2° ± 4.1°	-9°
Base-pair mean propeller twist	+18°	+16° ± 7°	~0°
Helix axis location	Major groove	Through base pairs	Minor groove
Major groove proportions	Extremely narrow but very deep	Wide and with intermediate depth	Flattened out on helix surface
Minor groove proportions	Very broad but shallow	Narrow and with intermediate depth	Extremely narrow but very deep
Glycosyl bond conformation	anti	anti	anti at C, syn at G

Annexe 1 : Comparaison des propriétés structures des formes d'ADN A, B et Z. [28]

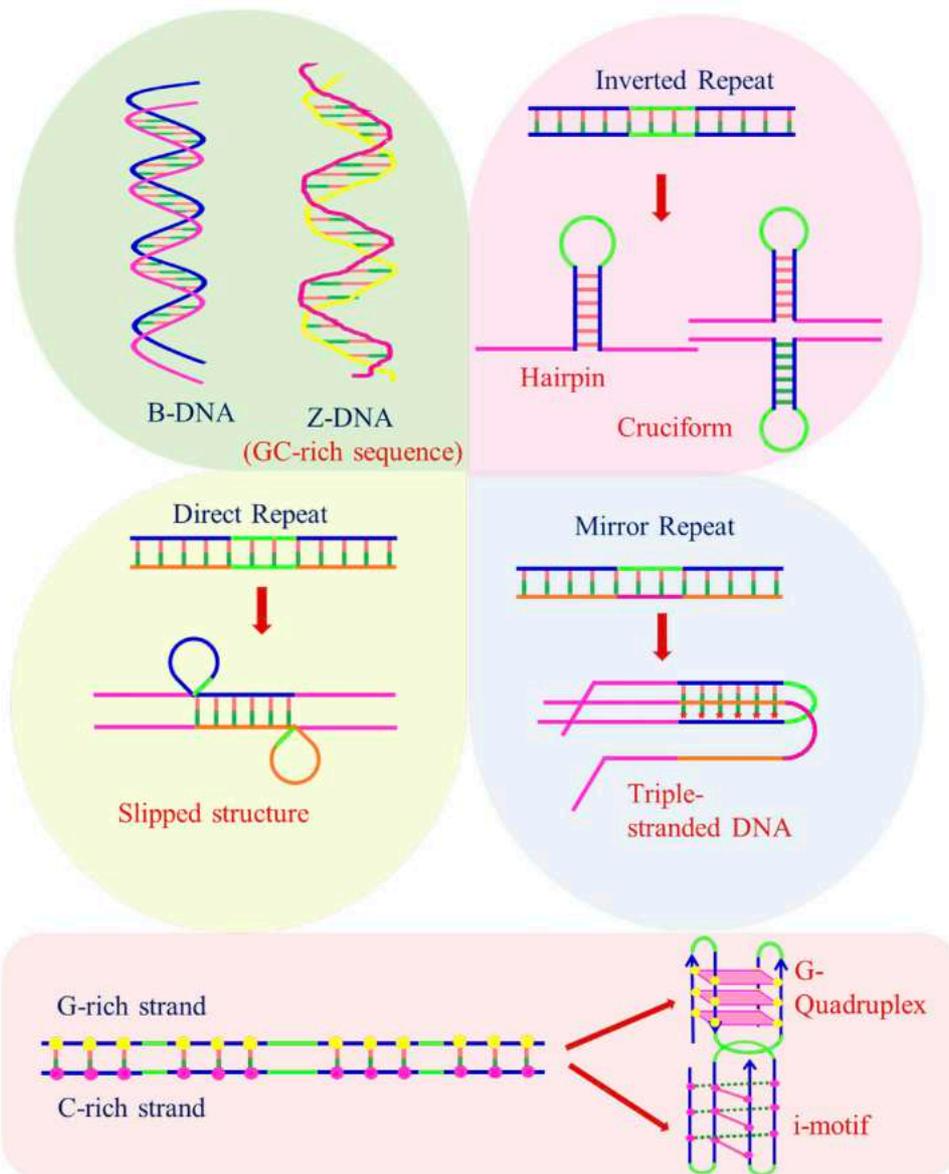


Watson-Crick

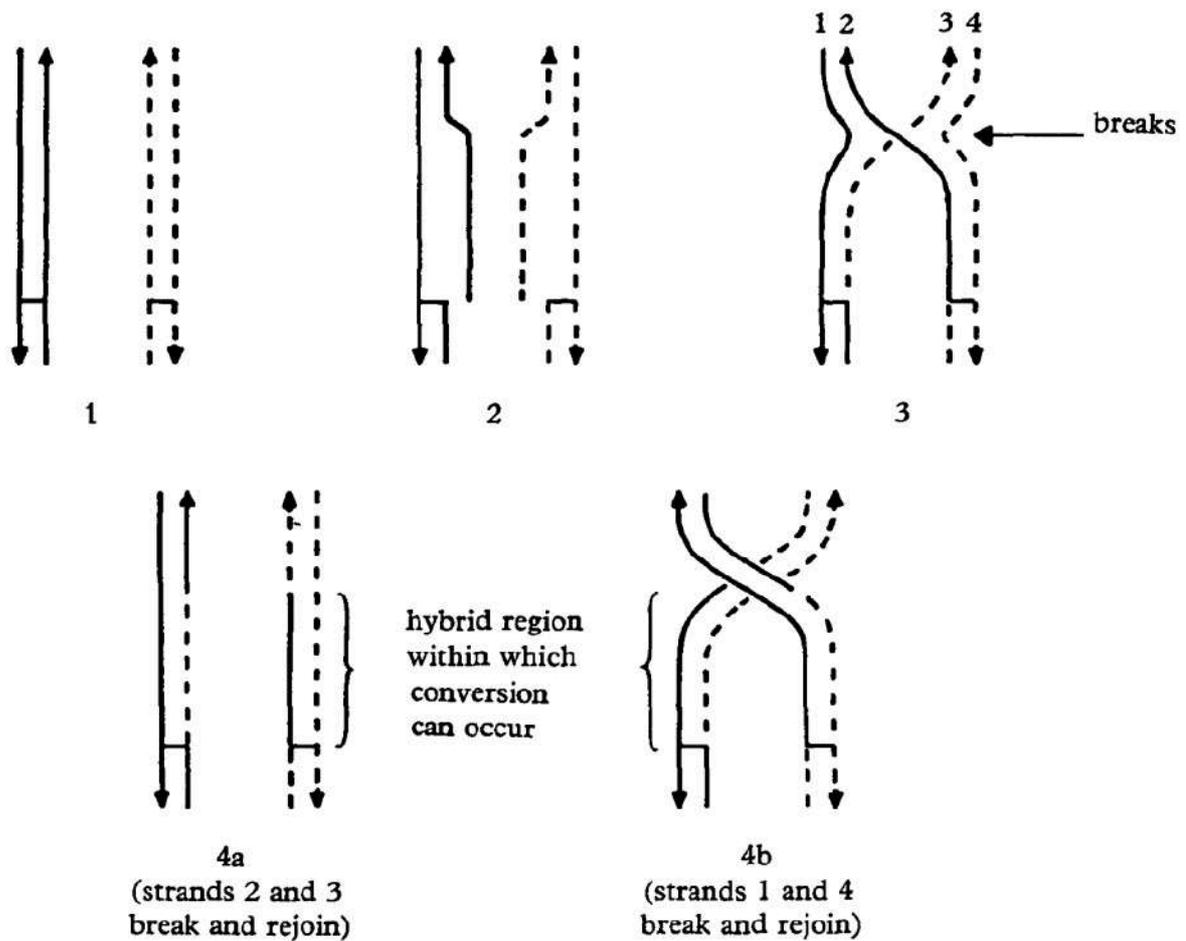


Hoogsteen

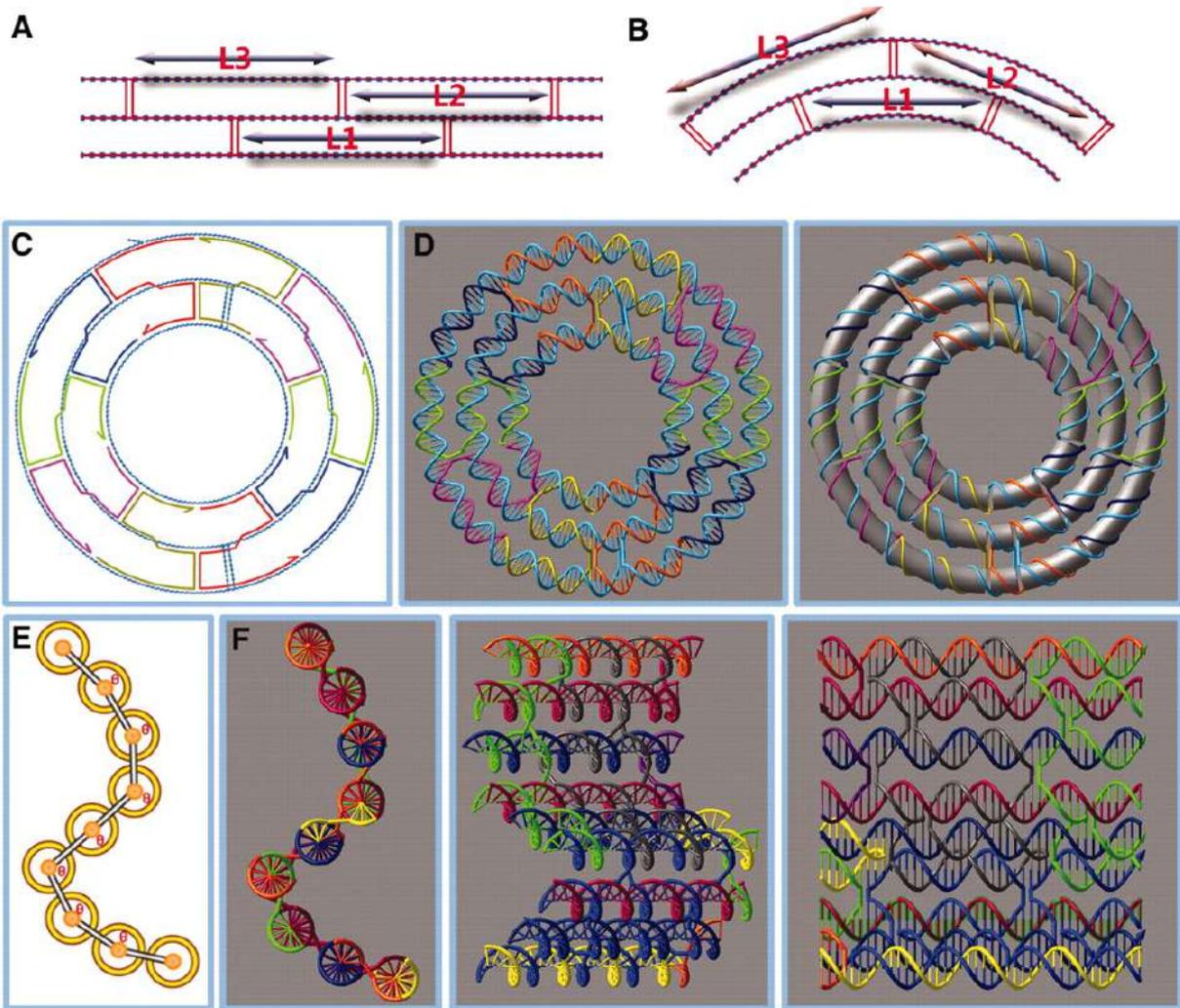
Annexe 2 : Représentation schématique de A : L'appariement de bases de Watson et Crick (canonique), B : L'appariement de bases de Hoogsteen (non canonique). [37]



Annexe 3 : Structure de l'ADN forme B et structures non-forme B. [11]



Annexe 4 : Schéma des étapes successives d'appariement et de recombinaison entre deux brins d'ADN mis en évidence par Holliday. Les lignes pleines représentent des brins d'ADN tandis que les lignes en pointillés représentent leurs brins complémentaires. Le sens des brins est indiqué par les flèches. [12]



Annexe 5 : Principes de conception d'ADN origami à courbes complexes en 3D [28]

	Author/ year	Type	Target	Sequence preparation	Algorithm/limits rules
GIDEON	Birac et al., 2006 [93]			Readjustment of base pairs	Proportional integral differential algorithm
SARSE	Anderson et al., 2008 [94]	Manual sequence arrangement	Any design under consideration	T loop and T extension editor	1.5 helical turn for crossovers
TIAMAT	Williams et al., 2009 [95]			Random sequence generator with 3 rules	1) Unique sequence limit 2) Repetition limit to prevent the same letter in series 3) Manual modification of GC portion
caDNA _{no}	Douglas et al., 2009 [96]			Arbitral connecting between helices	- Every 21 base pairs with 2 helical turns - Antiparallel staple crossovers
V-Helix BSCOR 2D/3D	Benson et al., 2015 [16] 2016 [17]	Automatic sequence arrangement	3D polyhedral mesh	Desired scaffold strand sequence	A-trail search algorithm with heuristically designed rules
DAEDALUS	Veneziano et al., 2016 [102]		3D polyhedron	No under or over-winding condition	Prim's algorithm
TALOS	Jun et al., 2019 [103]		Edges of six-helix bundles		Vertices of honeycomb-rod edges "mitered vertex" (MV) motif arrangement
PERDIX	Jun et al., 2019 [104]		2D wireframe	Manually adjustable poly T loop	Prim's algorithm, nonmember's spanning tree algorithm
tacoxDNA	Suma et al., 2019 [106]	Web service	Data file type conversion	Given data file	Input/output file conversion between oxDNA, caDNA _{no} , TIAMAT, CanDo, PDB, xyz, LAMMPS input files
ATHENA	Jun et al., 2020 [107]	Integrated design processing	Any design under consideration	Same as TALOS and PERDIX	Algorithm used in TALOS, PERDIX
ADENITA	Llano et al., 2020 [109]			Semi-manually defined strand or structure	Algorithm in Daedalus and semi-manual modification from GUI into the sequence information

Annexe 6 : Différents logiciels (passés ou actuels) utilisés pour concevoir ou analyser les nanostructures à base d'ADN [37]

Abstract en Anglais

DNA Origami Nanotechnology: Potential Therapeutic Applications

DNA, or desoxyribonucleic acid, is known to be the support of genetic information. In this thesis, we will focus on its structure rather than this function: the structure of a double-helix with complementary base-pairing between two strands. This base-pairing (adenine with thymine, guanine with cytosine) was discovered by Watson, Crick and Franklin in 1953 and allow the possibility of folding DNA into a designed structure. That is what is called "DNA origami". To do so, we use a long single stranded DNA (scaffold) and we fold it in a preconceived shape thanks to short single stranded DNA (staples) that will anneal different parts of the scaffold to maintain it in a specific shape. Thanks to its properties of programmable self-assembly and to the robustness of DNA, DNA origami technic is useful for various applications: biophysics, plasmonics, biomedical. Here, we will first discuss the history and methods of production of DNA origamis before discuss its potential therapeutic applications.

Keywords: DNA, origami, nanotechnology, microscopy, therapeutic innovation, drugs, biotechnology

Résumé en Français

L'ADN, ou acide désoxyribonucléique, est connu pour être le support de l'information génétique. Dans cette thèse, nous ne nous intéresserons pas à cette fonction mais plutôt à sa structure : celle d'une double hélice droite dont les bases azotées s'apparient deux-à-deux. En effet, cet appariement de bases (adénine avec thymine, guanine avec cytosine) découvert par Watson, Crick et Franklin en 1953 permet d'utiliser l'ADN pour le replier dans la nanostructure de notre choix, c'est ce qu'on appelle « L'ADN origami ». Pour cela, on utilise un long ADN simple brin (le scaffold) que l'on replie dans une forme prédéfinie grâce à de courts brins d'ADN simples brins (les agrafes) qui viennent s'hybrider à différentes parties du scaffold pour le maintenir dans la forme conçue. De par ses propriétés programmables et d'auto-assemblages ainsi que par la robustesse de l'ADN, la technique des ADN origamis est une technique de choix pour une grande variété d'applications : biophysiques, plasmoniques, électroniques, biomédicales. Ici, nous nous intéresseront dans un premier temps au principe, à l'histoire et aux méthodes de production des ADN origamis avant d'aborder le sujet de ses potentielles applications thérapeutiques.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : DOCTORAT D'EXERCICE EN PHARMACIE

MOTS-CLES : ADN, origami, nanotechnologies, microscopie, innovations thérapeutiques, médicaments, biotechnologies

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté de santé – Département des sciences pharmaceutiques, Toulouse III
35 chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE cedex 9

Directeur de thèse (Nom et Prénom): Cussac Daniel