

Spécialité : PHYSIQUE / Physique des liquides

[Laboratoire : IRAMIS/NIMBE/LIONS](#)

Intermédiaire de nucléation dans la biocristallisation calcaire

Responsable de stage : CHEVALLARD Corinne

corinne.chevallard@cea.fr

Tel : +33 1 69 08 52 23

Stage pouvant se prolonger en thèse : Oui

Durée du stage : 4 mois

Résumé:

L'étude de la minéralisation chez les organismes vivants, ou « biominéralisation », sera menée en développant des systèmes modèles physico-chimiques. Les expériences réalisées se focaliseront sur la biocristallisation calcaire, et auront pour but de tester l'hypothèse d'une séparation de phase liquide-liquide dans le processus de nucléation cristalline biogénique.

Sujet :

Les organismes vivants ont la capacité de produire des structures minérales, ou « tissus durs » (dents, os, exosquelettes, etc.), dont les formes et propriétés mécaniques sont totalement adaptées à la fonctionnalité biologique ciblée [1]. La compréhension fine des mécanismes de biominéralisation est activement recherchée car elle est un prérequis au développement de voies de synthèse bio-inspirées permettant l'élaboration de nouveaux matériaux avec un très faible apport énergétique. Trois traits caractéristiques de la biominéralisation calcaires semblent émerger : (i) la précipitation de la phase minérale s'effectue toujours sous le contrôle de macromolécules organiques [1]; (ii) une phase minérale amorphe pourrait apparaître transitoirement et serait à l'origine des morphologies complexes observées [2]; (iii) tous les biocristaux calcaires présentent une nanostructuration, sous la forme d'un assemblage de granules de forme sphéroïdale et de taille caractéristique allant de 50 à 500 nm [3].

Nous nous proposons d'utiliser le point de vue de la physico-chimie pour comprendre les mécanismes génériques de la biominéralisation [4]. Une hypothèse actuellement en cours est que, avant même la nucléation cristalline, une séparation de phase liquide-liquide pourrait générer un intermédiaire liquide enrichi en minéraux qui se solidifierait pour donner des « granules » amorphes. La cristallisation de ces granules, intervenant dans un deuxième temps, conduirait au biocristal sous sa forme définitive avec une cohérence cristalline étendue à quelques granules.

Dans le cadre de ce stage, nous testerons cette hypothèse en mettant en œuvre des expériences de minéralisation du carbonate de calcium en présence de macromolécules organiques, pour lesquelles une séparation de phase liquide-liquide est attendue [5]. Nous chercherons dans un premier temps à préciser les conditions expérimentales permettant le développement d'une telle séparation de phase, en effectuant notamment des expériences de titrage de solutions carbonatées par des solutions de calcium, et en réalisant un suivi de la concentration calcique à l'aide d'une électrode ionique adaptée. Lorsque les conditions seront identifiées, nous réaliserons des synthèses de cristaux dans ces conditions, supposées biomimétiques, et collecterons les cristaux formés afin de les caractériser par des techniques de laboratoire (microscopies optiques, spectroscopies IR/Raman, diffusion/diffraction X) et de les comparer aux biocristaux calcaires. Nous envisageons ici l'utilisation d'un dispositif microfluidique permettant le mélange rapide et reproductible des espèces réactives.

Ce stage se déroulera dans le cadre d'un projet européen (3D-BIOMAT, ERC consolidator grant) développé en

collaboration avec des physiciens de l'Institut Fresnel (UMR 7249, Marseille) et des biologistes de la station IFREMER de Polynésie française. Les résultats obtenus permettront d'avancer dans la formulation d'un modèle physico-chimique de la biocrystallisation calcaire, but ultime de ce projet.

[1] H.A. Lowenstam and S. Weiner, *On Biomineralization* (New York), 1989.

[2] L. Addadi, et al., *Z. Kristallogr.*, 227: 711, 2012.

[3] Y. Dauphin, *Mineral. Mag.*, 72: 243, 2008.

[4] Y.-H. Tseng, et al., *CrystEngComm*, 16: 561, 2014.

[5] L. B. Gower, D. J. Odom, *J. Cryst. Growth*, 210: 719, 2000.

Nucleation intermediate in calcareous biocrystallization

Abstract:

The study of mineralization in living organisms, or "biomineralization", will be conducted by developing physico-chemical model systems. The experiments will focus on calcareous biocrystallization, and will test the hypothesis of a liquid-liquid phase separation in the biogenic process of crystal nucleation.

Subject :

Living organisms are able to produce mineralized structures, or "hard tissues" (teeth, bones, exoskeletons, etc.), the shape and mechanical properties of which are fully adapted to the targeted biological functionality [1]. The fine understanding of the biomineralization mechanisms is actively being sought because it is a prerequisite for the development of bio-inspired pathways of synthesis allowing the development of new materials with very low energy input. Three characteristic features of calcareous biomineralization seem to emerge: (i) the precipitation of the mineral phase is always carried out under the control of organic macromolecules [1]; (ii) an amorphous mineral phase could appear transiently and would explain the observed complex morphologies [2]; (iii) all calcareous biocrystals exhibit a nanostructuring in the form of an assembly of granules, with a spheroidal shape and a characteristic size ranging from 50 to 500 nm [3].

We propose to use a physicochemical perspective to understand the generic mechanisms of biomineralization [4]. One current hypothesis is that, even before crystal nucleation, a liquid-liquid phase separation could generate a mineral-enriched liquid intermediate that would solidify and produce amorphous "granules". The subsequent assembly and crystallization of these granules would lead to the biocrystal in its final state, with a crystalline coherence extended to a few granules.

During this internship, we will test this hypothesis by implementing calcium carbonate mineralization experiments in the presence of organic macromolecules, for which a liquid-liquid phase separation is expected [5]. We will first try to specify the experimental conditions allowing the development of such a phase separation, in particular carrying out titration experiments of carbonated solutions by calcium solutions, and monitoring the calcium concentration at the same time using a suitable ion electrode. When conditions will be identified, we will synthesize crystals under these supposedly biomimetic conditions and we will collect the crystals formed for characterization using laboratory techniques (optical microscopies, IR / Raman spectroscopies, X-ray diffraction) and comparison with the calcareous biocrystals. Here the use of a microfluidic device allowing fast and reproducible mixing of the reactive species will be considered.

This internship will take place within the framework of a European project (3D-BIOMAT, ERC consolidator grant) developed in collaboration with physicists of the Fresnel Institute (UMR 7249, Marseille) and biologists of the IFREMER laboratory of French Polynesia. The obtained results will help in formulating a physicochemical model of calcareous biocrystallization, the ultimate goal of this project.

[1] H.A. Lowenstam and S. Weiner, *On Biomineralization* (New York), 1989.

[2] L. Addadi, et al., *Z. Kristallogr.*, 227: 711, 2012.

[3] Y. Dauphin, *Mineral. Mag.*, 72: 243, 2008.

[4] Y.-H. Tseng, et al., CrystEngComm, 16: 561, 2014.

[5] L. B. Gower, D. J. Odom, J. Cryst. Growth, 210: 719, 2000.

