

# Nano-antennes plasmoniques pour la biophotonique

Juan DE TORRES<sup>1</sup>, Petru GHENUCHE<sup>1</sup>, Eva GRINENVAL<sup>2</sup>, Margaret BRENNAN<sup>2</sup>, Guillaume BAFFOU<sup>1</sup>, Hervé RIGNEAULT<sup>1</sup>, Jérôme WENGER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Fresnel, Aix Marseille Université, CNRS, École Centrale Marseille, 13013 Marseille, France

<sup>2</sup> Département de Bioélectronique, École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne, 13541 Gardanne, France

[jerome.wenger@fresnel.fr](mailto:jerome.wenger@fresnel.fr)

Les nano-antennes plasmoniques ouvrent des perspectives prometteuses pour la biophotonique. En exploitant les propriétés optiques des métaux nobles, l'énergie lumineuse est confinée à l'échelle du nanomètre, bien en dessous des limites de diffraction. Ces nouvelles méthodes sont à la base d'une nouvelle génération d'outils optiques pour la chimie et la biologie. Les nano-antennes permettent notamment de détecter des biomolécules avec une sensibilité exaltée, de contrôler les processus d'émission moléculaire, d'induire des élévations locales de température ou de piéger des micro-organismes vivants.

## Des nanoparticules de l'antiquité aux antennes optiques

Les propriétés optiques des nanoparticules de métaux nobles fascinent depuis l'antiquité. Par exemple, la coupe dite de Lycurgus (IV<sup>e</sup> siècle après JC, conservée au British Museum) possède une couleur qui passe du rouge au vert suivant qu'on la regarde en transmission ou en réflexion diffuse. Cette couleur intrigante est obtenue grâce à l'inclusion de nanoparticules d'or de 50 nm de diamètre dans la matrice de verre qui constitue la coupe. Un autre exemple est apporté par les vitraux de la Sainte Chapelle (XIII<sup>e</sup> siècle) dont la coloration est due à l'absorption lumineuse de nanoparticules d'argent de dimensions inférieures à 40 nm.

Plus récemment, l'étude de l'interaction résonante entre le rayonnement lumineux et les électrons libres à la surface d'un métal (la « plasmonique ») a été revisitée et généralisée pour aboutir au concept « d'antennes optiques ». Par définition, une antenne optique est un dispositif qui convertit un rayonnement lumineux se propageant librement en une énergie électromagnétique localisée, et réciproquement [1]. De la sorte, les antennes optiques sont conceptuellement

les équivalents dans le domaine optique des antennes communément utilisées pour les radiofréquences. Cependant, les propriétés électromagnétiques des métaux sont très différentes dans le domaine des fréquences optiques (centaine de THz) que dans le domaine des radiofréquences (quelques GHz). Ces disparités imposent des études spécifiques pour développer les antennes optiques.

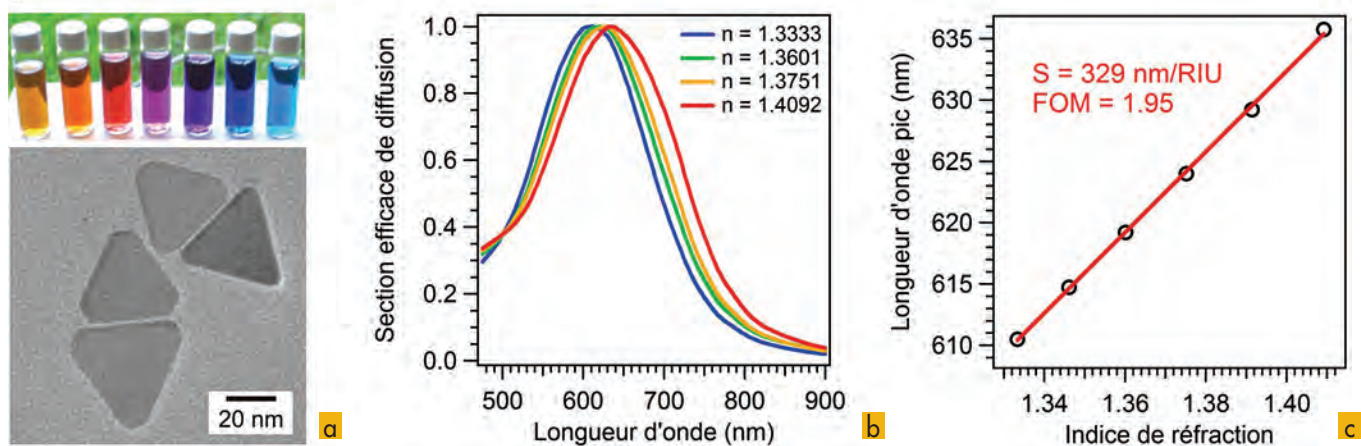
À la différence des lentilles optiques, les antennes optiques permettent une localisation de l'énergie électromagnétique à l'échelle du nanomètre, bien en dessous de la limite de diffraction. Cette propriété ouvre de nouvelles voies pour la manipulation de la lumière aux échelles nanométriques, et porte de nombreuses promesses pour exalter les efficacités d'émission optique et de photodétection, notamment pour les applications de l'optique vers la biologie (la « biophotonique »). Dans ce document, nous passons en revue les principales applications des antennes optiques pour la biophotonique. Ces applications concernent les capteurs de biomolécules et l'exaltation des processus d'émission optique moléculaire (fluorescence et diffusion Raman). Plus récemment, deux autres applications ont émergé : la thermoplasmonique

pour induire un contrôle local de la température et les nano-pinces optiques pour piéger optiquement des nanoparticules et des cellules.

## Capteurs par décalage de résonance plasmon : la détection de biomolécules sans marquage

Les propriétés optiques de nanoparticules de métaux nobles dépendent de leur taille, de leur forme et du matériau utilisé. Ces propriétés sont intrinsèques aux nanoparticules. Par exemple, la *figure 1a* montre différentes dispersions de nanoparticules d'argent de forme triangulaire dont la taille varie entre 10 et 50 nm et l'épaisseur entre 5 et 10 nm. Les différentes tailles induisent une variation de la longueur d'onde de résonance plasmon de la nanoparticule, ce qui confère une couleur différente à chaque solution.

En plus de la taille, de la forme et du matériau, la longueur d'onde de résonance des nanoparticules dépend d'un quatrième paramètre qui est l'indice de réfraction du milieu entourant la nanoparticule. Cette propriété est à la base des capteurs de biomolécules : l'adhésion de molécules

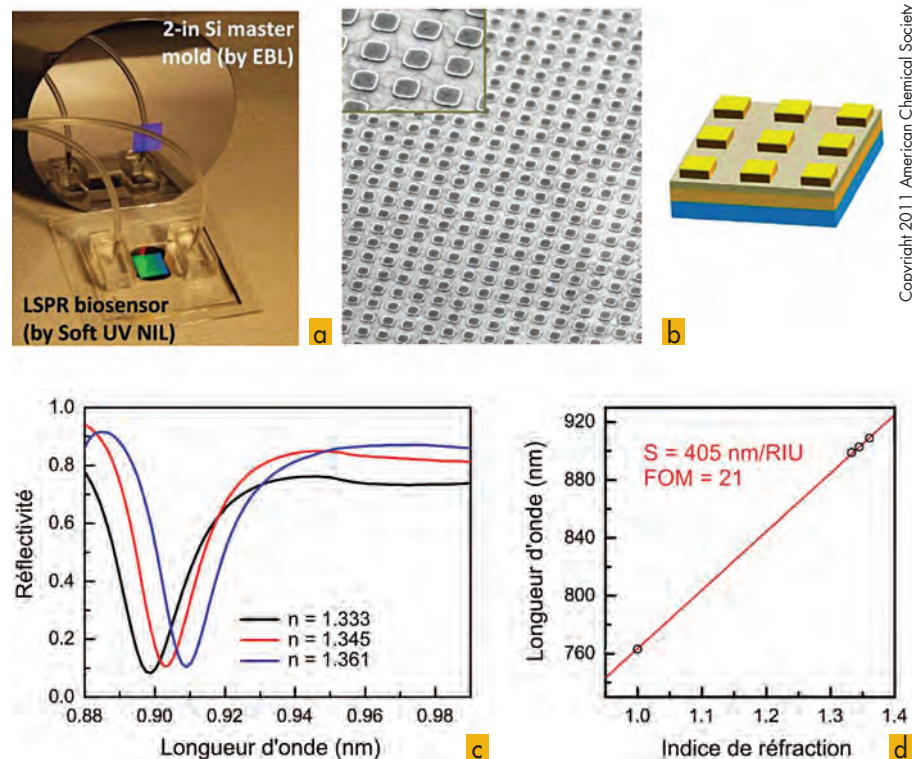


**Figure 1.** (a) Nanotriangles d'argent solubles dans l'eau, la taille des particules conditionne la longueur d'onde de résonance plasmon et donc la couleur de la solution. (b) Spectres de diffusion de nanotriangles d'argent dans différents mélanges eau-sucrose, une augmentation de l'indice de réfraction du milieu environnant les nanoparticules induit un décalage vers le rouge de la résonance plasmon. (c) Décalage en longueur d'onde de résonance en fonction de l'indice de réfraction du milieu. La pente de la courbe renseigne sur la sensibilité du système.

sur la surface de la nanoparticule (préalablement fonctionnalisée pour permettre une détection spécifique d'un certain type de biomolécule) induit un changement de l'indice de réfraction du milieu environnant, et donc un décalage de la longueur d'onde de résonance plasmon qui est alors quantifié par un spectromètre. La figure 1b illustre ce principe par différents spectres de diffusion de nanotriangles d'argent dans des solutions aqueuses de concentrations croissantes en sucre. Une densité plus forte en sucre augmente l'indice de réfraction du milieu, ce qui se traduit par un décalage vers le rouge de la résonance plasmon. La sensibilité du système est généralement quantifiée par le décalage en longueur d'onde par unité d'indice de réfraction (donnée en nm/RIU : *nanometer per refractive index unit*), et correspond à la pente de la droite présentée en figure 1c. Une seconde grandeur caractérisant le capteur est la figure de mérite (FOM) qui correspond à la sensibilité divisée par la largeur totale à mi-hauteur de la résonance plasmonique. Par sa nature, la figure de mérite quantifie la facilité avec laquelle le décalage de résonance plasmonique pourra être mesuré. Par rapport aux dispositifs utilisant les plasmons de surface sur une interface plane métal-diélectrique, la figure 1 démontre que les nanotriangles d'argent offrent une sensibilité comparable, et possèdent surtout l'avantage d'une mise en œuvre très simple en pratique.

Une sensibilité accrue peut être obtenue en tirant profit des résonances supplémentaires qui interviennent lorsque les nanoantennes sont couplées en réseau. La figure 2 illustre cette idée, en présentant

un capteur formé de nanoplots d'or déposés sur un isolant diélectrique lui-même déposé sur un miroir métallique. Ce composant, réalisé au Laboratoire de photonique et de nanostructures (LPN) à



**Figure 2.** (a) Photographie du capteur intégré dans une cellule microfluidique. (b) Image au microscope électronique de la structure, et schéma montrant les plots d'or sur le substrat métallique (jaune) avec un espaceur diélectrique (gris). Les plots métalliques ont une dimension latérale de 235 nm et un pas de 400 nm. (c) Décalage spectral de la résonance du réseau lorsque le capteur est recouvert de différents mélanges eau-éthanol. (d) Décalage en longueur d'onde de la résonance en fonction de l'indice de réfraction du milieu. (Adapté avec la permission de [2].)

Marcoussis, présente un mode optique ayant une résonance spectrale aiguë donnant lieu à une sensibilité et une figure de mérite accrue (figures 2c et 2d). L'originalité de l'approche vient d'une part de la structure d'antenne composite métal-isolant-métal, et d'autre part de la méthode de nanofabrication qui utilise une réplique par lithographie UV d'un moule en silicium. Grâce à cette méthode de nanofabrication, un grand nombre de biocapteurs peut être réalisé à faible coût.

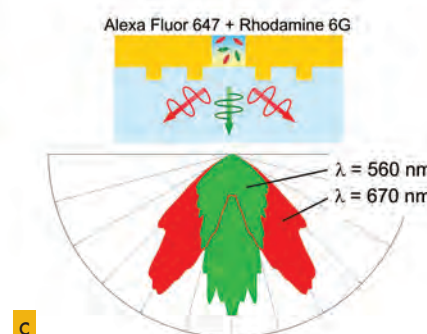
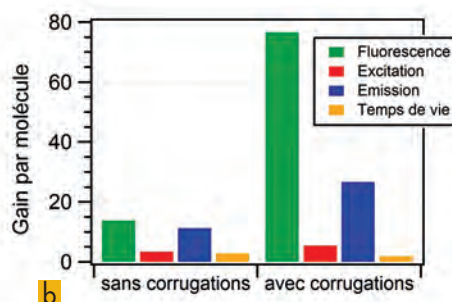
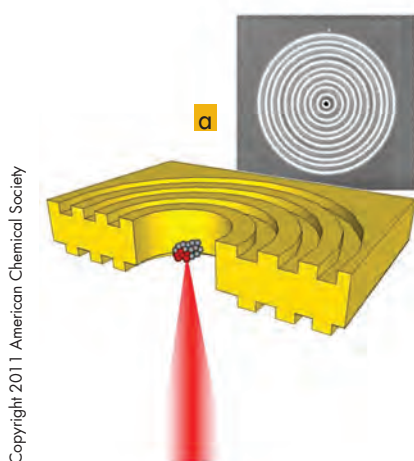
### Exaltation optique : des molécules 100 fois plus brillantes

La recherche en biologie moléculaire et l'industrie pharmaceutique possèdent une demande forte pour des techniques de spectroscopie atteignant une sensibilité jusqu'à la molécule individuelle. Cependant, détecter une molécule unique est une tâche difficile, en raison de la très

faible quantité de lumière émise, qui est au mieux de quelques picowatts répartis dans toutes les directions de l'espace. Avec un signal optique aussi faible, il est essentiel de maîtriser l'interaction entre la molécule et le champ lumineux. C'est à ce niveau qu'interviennent les nano-antennes optiques, pour renforcer localement l'intensité optique d'excitation, augmenter le taux d'émission et collecter plus efficacement le signal de fluorescence. Améliorer le rendement d'émission (ou la brillance) de chaque émetteur augmente de fait l'efficacité et la sensibilité des différentes méthodes de spectroscopie.

Un second défi majeur porte sur la capacité à suivre des réactions à l'échelle de molécules individuelles dans des solutions fortement concentrées. Un grand nombre de réactions biochimiques ne se déclenchent que si la concentration en molécules est suffisamment élevée, typiquement de l'ordre de quelques dizaines de micromoles par litre. Or, la microscopie classique est limitée par les lois de la diffraction à des volumes d'analyse de l'ordre de la fraction de micromètre cube, ce qui se traduit par des concentrations de l'ordre de quelques nanomoles par litre pour isoler une molécule dans le volume d'analyse. Le recours aux nano-antennes optiques s'impose pour obtenir des volumes d'analyse réduits de plus de trois ordres

**Figure 3.** (a) Schéma et image au microscope électronique d'une nanoantenne formée d'une ouverture de 135 nm percée dans un film d'or, l'ouverture est entourée de corrugations concentriques. (b) Facteurs d'exaltations introduits par la nano-ouverture seule et la nano-ouverture avec corrugations, calculés par molécule individuelle pour les différentes contributions (fluorescence totale, excitation seule, émission seule et temps de vie de fluorescence). (c) Contrôle de la direction d'émission de molécules fluorescentes suivant leur longueur d'onde d'émission. Le mélange de molécules est placé dans la nano-ouverture centrale, le couplage avec le réseau de corrugations induit une émission directive sensible à la longueur d'onde. [Adapté avec la permission de [3,4].]



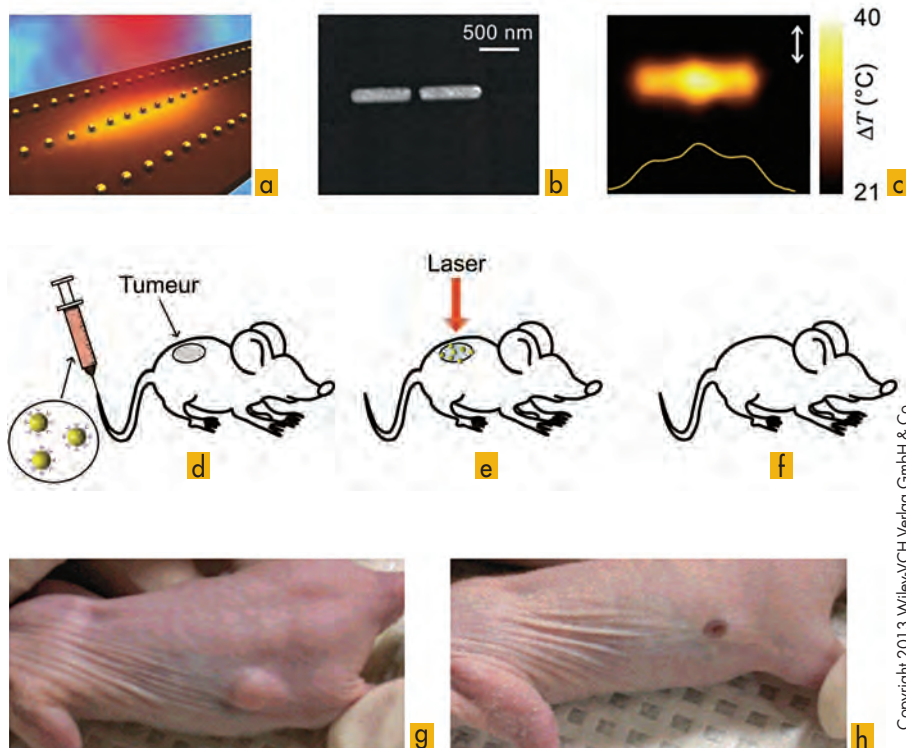
de grandeur sous la limite de diffraction.

Les deux enjeux décrits ci-dessus peuvent être résolus avec des nano-antennes formées d'ouvertures percées dans un film d'or, l'ouverture centrale étant entourée de corrugations en sillons circulaires (figure 3a, ces travaux sont réalisés en partenariat avec l'Institut de science et d'ingénierie supramoléculaires de Strasbourg). La nano-ouverture centrale possède un diamètre de 135 nm, qui empêche toute propagation optique directe et confine le volume d'analyse trois ordres de grandeur sous la limite de diffraction. Cette antenne transforme une molécule standard en une source de lumière intense et unidirectionnelle : l'intensité de fluorescence est augmentée jusqu'à 120 fois, et quasiment toute la lumière est émise dans un cône étroit. Cette exaltation du signal optique par molécule résulte de la combinaison de différents effets : un renforcement local de l'intensité d'excitation, une augmentation du taux d'émission et une meilleure collection du signal de fluorescence (figure 3b). De plus, en tirant profit des corrugations circulaires formant un réseau de diffraction, la direction d'émission peut être contrôlée suivant la longueur d'onde principale de fluorescence (figure 3c). Ce phénomène résulte d'interférences entre la lumière directement émise depuis l'ouverture centrale, et les ondes de surface diffusées en champ lointain par les corrugations circulaires. En jouant sur la distance entre l'ouverture et les corrugations, la phase relative des ondes peut être contrôlée, de même que la figure d'interférence. Cette réalisation démontre le potentiel nouveau offert par les nano-antennes optiques pour exalter et contrôler la direction d'émission de molécules individuelles.

### Thermoplasmonique : une élévation localisée de la température pour le traitement du cancer

Lorsqu'elle est illuminée à sa longueur d'onde de résonance, une nanoparticule métallique possède une absorption exaltée, ce qui en fait une nano-source de chaleur quasi-idéale et contrôlée





**Figure 4.** (a) Vue artistique de réseaux de nanoparticules éclairées par laser pour induire une élévation locale de la température. (b) Antenne plasmonique formée de deux bâtonnets d'or, réalisée par lithographie électronique. (c) Cartographie optique de l'élévation de température autour de l'antenne présentée en (b). (d, e, f) Principe de traitement de tumeurs cancéreuses par thermoplasmonique. Des nanoparticules métalliques fonctionnalisées chimiquement sont introduites (d). Elles vont diffuser dans l'organisme jusqu'à se greffer sur la tumeur cancéreuse (e), qui sera ensuite irradiée par laser pour induire un échauffement thermique et la mort cellulaire des tissus cancéreux (f). Une tumeur sous-cutanée est ainsi traitée chez une souris. Les photographies montrent respectivement la zone tumorale avant (g) et après traitement (h). (Adapté avec la permission de [5].)

optiquement (figure 4a). Cette propriété est à la base du domaine de la thermoplasmonique, qui a émergé au cours des dernières années.

La figure 4b présente une antenne optique formée de deux bâtonnets d'or réalisés par lithographie électronique. Pour quantifier l'élévation locale de température, l'antenne a été recouverte de molécules fluorescentes dont le degré de polarisation de la lumière émise renseigne directement sur la température locale du fluide environnant. On peut ainsi remonter à une cartographie quantitative de distribution de température (figure 4c). De manière surprenante, l'élévation maximale de température est obtenue lorsque la polarisation du champ incident est perpendiculaire à l'axe principal de l'antenne (alors que le renforcement électromagnétique dans la jonction entre les bâtonnets est obtenu lorsque la polarisation du champ

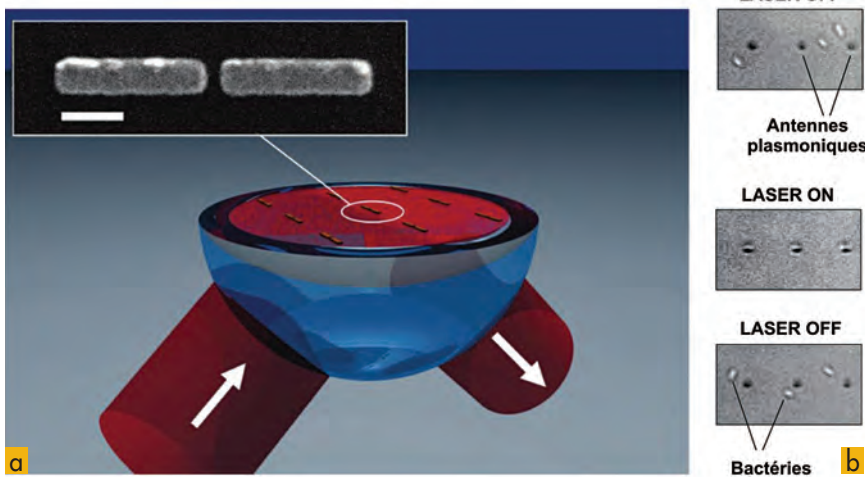
incident est parallèle). Ce résultat illustre la différence fondamentale qui existe entre les nano-sources de chaleur et les nano-sources de lumière. Pour simplifier encore les techniques expérimentales, un nouveau dispositif de microscopie avec une caméra sensible à la phase du champ lumineux a été développé à l'Institut Fresnel.

Une application phare de la thermoplasmonique concerne le traitement de tumeurs cancéreuses (figures 4d et 4e). Pour cela, la surface de nanoparticules de taille et de forme optimisées (généralement des systèmes cœur diélectrique – coquille d'or) est fonctionnalisée chimiquement pour favoriser l'adsorption sélective des nanoparticules métalliques sur les tissus cancéreux. Ces nanoparticules sont ensuite injectées par voie intraveineuse dans l'organisme et vont diffuser jusqu'à se greffer sur les tissus cancéreux. La zone

tumorale sera ensuite irradiée par laser pour induire un échauffement thermique et la mort cellulaire des tissus cancéreux. Les nanoparticules seront ensuite éliminées par les voies naturelles. Les photographies des figures 4g et 4h montrent le traitement spectaculaire d'une tumeur sous-cutanée chez une souris. Cette technique est actuellement en phase de tests cliniques chez l'homme.

### Nanopinces optiques pour piéger des cellules

Immobiliser des organismes vivants dans certaines positions spécifiques de l'espace est important pour étudier leur métabolisme et déclencher des stimuli *in situ*. Alors que les pinces optiques permettent le piégeage de cellules relativement grandes ou des microsphères diélectriques au point de focalisation d'un faisceau laser, ces systèmes rencontrent des difficultés pour maintenir des petits objets dont l'indice de réfraction diffère peu du milieu environnant, comme c'est le cas pour la majorité des bactéries. À nouveau, la limite de diffraction impose des tailles de piège de l'ordre de la longueur d'onde. Pour dépasser ces limites, les nano-antennes optiques ouvrent de nouvelles voies pour localiser le champ lumineux à l'échelle du nanomètre (figure 5a). Les forces optiques qui en résultent sont suffisamment fortes et localisées pour piéger des objets de dimensions sub-longueur d'onde. Un exemple d'application est démontré en figure 5b par le piégeage réversible de bactéries *Escherichia coli* par des nano-antennes formées de deux bâtonnets d'or. Ces bactéries, qui sont responsables de la majorité des infections urinaires chez l'homme, sont particulièrement délicates à piéger avec des pinces optiques classiques du fait de leurs dimensions de l'ordre du micromètre et de leur faible indice de réfraction, autour de 1,38. En exploitant les propriétés de confinement et d'exaltation du champ électromagnétique, les chercheurs de l'Institut de Ciències Fotòniques de Barcelone ont démontré le piégeage de ces bactéries tout en les maintenant en conditions physiologiques. De façon remarquable, les bactéries continuent de croître



Copyright 2009 American Chemical Society

et de se multiplier dans un piège nano-optique. Ceci démontre leur viabilité et ouvre de nouvelles perspectives pour étudier des organismes sous microscopie optique.

### Des outils majeurs pour l'utilisation de la photonique en biologie

La capacité de réaliser des nanostructures dont les formes sont contrôlées avec une résolution de quelques nanomètres ouvre des perspectives prometteuses pour la nanophotonique et la biophotonique. Des avancées récentes permettent de confiner et d'exalter le champ lumineux dans des dimensions nettement sous la limite de diffraction. Ces nouvelles possibilités apportent des améliorations essentielles dans la détection de biomolécules et les spectroscopies exaltées. Elles ouvrent de plus des perspectives d'applications innovantes pour le contrôle optique local de la température et des forces optiques de piégeage. Les nano-antennes optiques sont donc des outils majeurs pour le futur de la photonique pour la biologie.

#### Références

[1] P. Biagioni, J.S. Huang, B. Hecht, Nanoantennas for visible and infrared radiation, *Rep. Prog. Phys.* 75, 024402 (2012).

[2] A. Cattoni, P. Ghenuche, A.-M. Haghiri-Gosnet, D. Decanini, J. Chen, J.-L. Pelouard, S. Collin,  $\lambda/1000$  plasmonic nanocavities for biosensing fabricated by soft UV nanoimprint lithography, *Nano Lett.* 11, 3557-3563 (2011).

[3] H. Aouani, O. Mahboub, N. Bonod, E. Devaux, E. Popov, H. Rigneault, T.W. Ebbesen, J. Wenger, Bright unidirectional fluorescence emission of molecules in a nanoaperture with plasmonic corrugations, *Nano Lett.* 11, 637-644 (2011).

[4] H. Aouani, O. Mahboub, E. Devaux, H. Rigneault, T.W. Ebbesen, J. Wenger, Plasmonic antennas for directional sorting of fluorescence emission, *Nano Lett.* 11, 2400-2406 (2011).

[5] G. Baffou, R. Quidant, Thermo-plasmonics: using metallic nanostructures as nano-sources of heat, *Laser Photonics Rev.* 7, 171-187 (2013).

[6] M. Righini, P. Ghenuche, S. Cherukulappurath, V. Myroshnychenko, F.J. Garcia de Abajo, et R. Quidant, Nano-optical trapping of Rayleigh particles and *Escherichia coli* bacteria with resonant optical antennas, *Nano Lett.* 9, 3387-3391 (2009).

#### Informations complémentaires

Développements instrumentaux pour la nano- et la biophotonique, publications récentes : voir notre site web [www.fresnel.fr/mosaic](http://www.fresnel.fr/mosaic). Les auteurs remercient le soutien du septième programme-cadre de la Commission Européenne (contrats 288263 NanoVista et 278242 ExtendFRET).

**NOUVEAU**

## Analyseur de front d'onde HASO™3 128 GE-2

- 1 Très grande dynamique : plus de  $\lambda/1500$
- 2 Précision absolue inégalée :  $\lambda/100$
- 3 Grande pupille : 15 mm
- 4 Mesure de phase et d'intensité indépendante et simultanée
- 5 Le logiciel le plus robuste et le plus convivial du marché

Laser Munich stand B2.469  
[imagine-optic.com](http://imagine-optic.com)  
 +33 (0)1 64 86 15 60

*Imagine Optic™*

©2013 Imagine Optic. Tous droits réservés. M PUB Photoniques 65 1305