

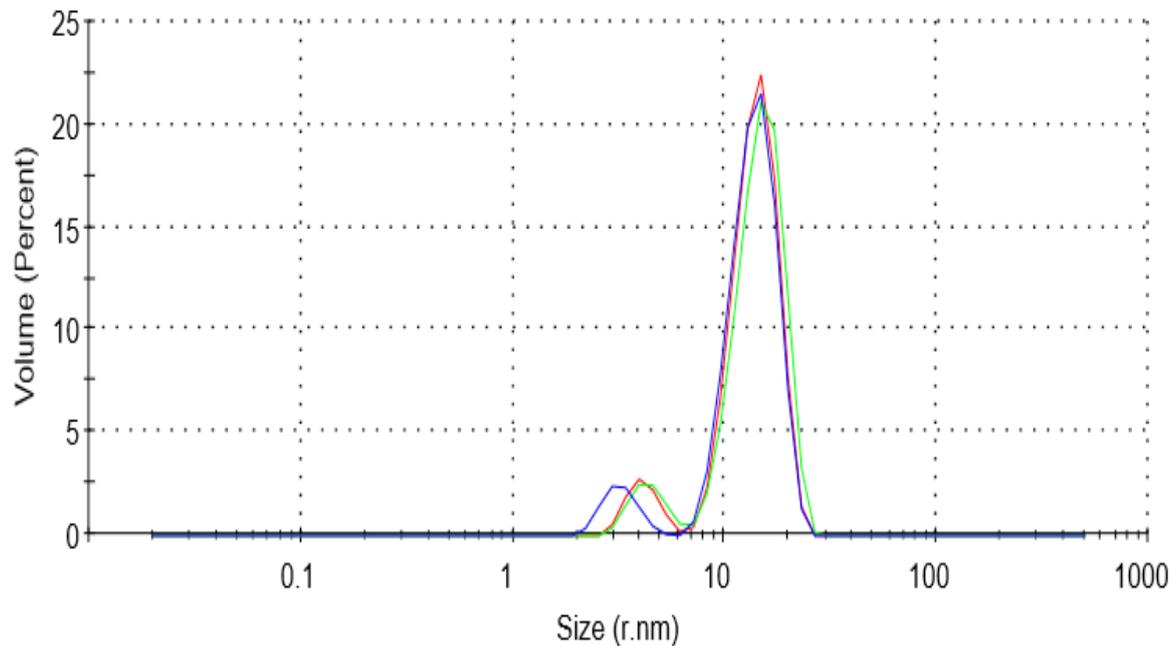
**a**

## Figure 1 : Caractérisation des Nanoparticules d'Argent.

**a.** Observation au microscope en champ sombre des nanoparticules d'argent (AgNPs) synthétisées par le protocole G.A.Martinez-Castanon *et al*, *Synthesis and antibacterial activity of Silver Nanoparticles with different sizes*. On peut observer la non agrégation des particules. La taille des particules est toutefois un peu trop faible pour être mesurée.

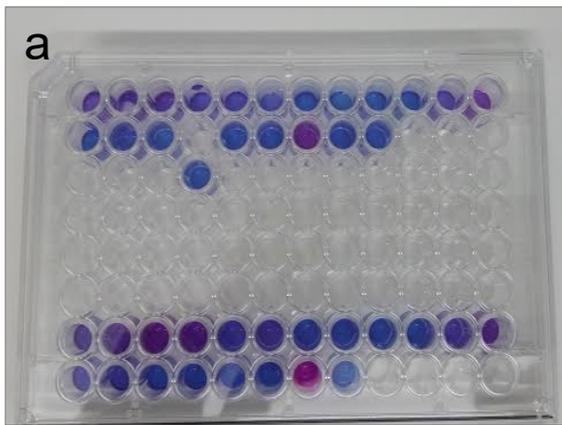
**b**

Size Distribution by Volume



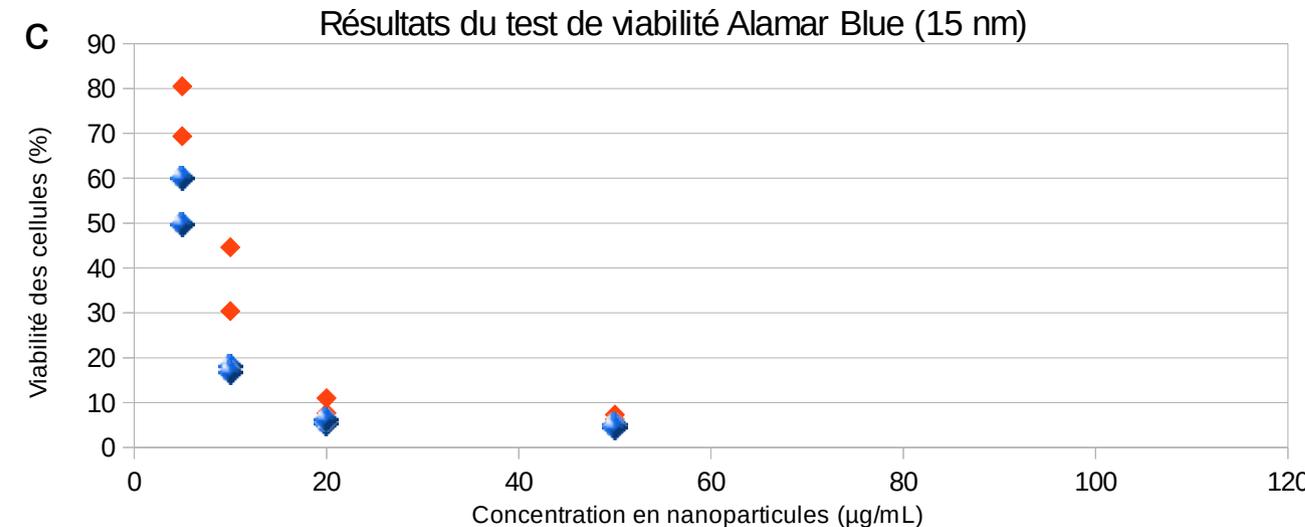
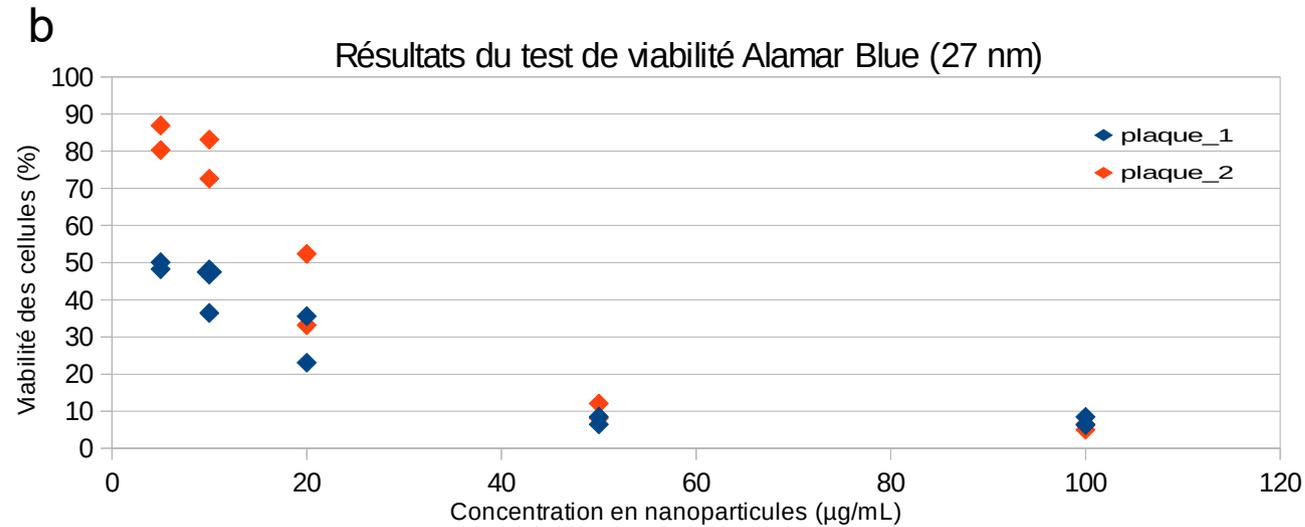
Record 7: AgNp Sechées 10 nm 20/01/17 1      Record 8: AgNp Sechées 10 nm 20/01/17 2  
 Record 9: AgNp Sechées 10 nm 20/01/17 3

**b.** Distribution en volume des nanoparticules, mesurée par granulométrie à diffraction laser (Zetasizer) ; solvant : eau. On réalise trois mesures successives afin de vérifier la reproductibilité. Les particules sont monodisperses et mesurent 15 nm de diamètre, ce qui est l'ordre de grandeur attendu (10 nm).



## Figure 2 : Viabilité des cellules L929 après 3 jours en présence de nanoparticules d'argent.

**a.** Plaque 96 puits avant lecture spectroscopique. 50 000 cellules ont été mises en présence de concentrations croissantes d'AgNPs de taille 27nm (puits 1 à 10) et 15nm (puits 11 à 18), pendant 3 jours. La respiration des cellules provoque la réduction de l'*Alamar blue*, lui donnant une couleur rose, après une incubation de 24 heures. On constate donc que la mortalité cellulaire semble augmenter avec la concentration en nanoparticules. En haut : plaque de culture n°1 ; en bas, plaque de culture n°2 (expérience réalisée en double).



**b. et c.** Résultats du test *Alamar Blue* : Viabilité cellulaire en présence d'AgNP de 27nm (**b**) et 15nm (**c**). La mesure des absorbances des puits (a) à 570nm et 600nm permet de connaître le pourcentage de réduction de l'*Alamar Blue* dans chaque puits, que l'on compare au pourcentage de réduction obtenu dans les puits contrôles ne contenant pas d'AgNP (avant-dernier puits dans chaque plaque de culture). On en déduit la viabilité cellulaire de chaque puits. On constate que la mortalité est croissante avec la concentration en AgNP, et est d'autant plus rapide pour les particules de 15 nm - 10 % de viabilité contre 40 % pour les AgNP de 27 nm à 20 µg/mL - ce qui confirme l'augmentation de la mortalité lorsque la taille des nanoparticules diminue.

### Figure 3 : Action des nanoparticules sur les membranes cellulaires.

**a.** Observation de cellules MDCK marquées au wheat-germ agglutinin (WGA). Le WGA interagit avec de la membrane, rendant cette dernière fluorescente ; toute modification de l'état de la membrane est donc remarquable de par les changements d'intensité de fluorescence observés. **a.** Puits contrôle ne contenant pas de nanoparticules. On observe une bonne intégrité membranaire. **b.** Puits de 30  $\mu\text{L}$  contenant des nanoparticules de 27 nm à 16,7  $\mu\text{g/mL}$ . Les membranes semblent altérées. **c.** Puits de 30  $\mu\text{L}$  contenant des nanoparticules de 15 nm à 6,7  $\mu\text{g/mL}$ . Les cellules sont plus petites que dans le contrôle. **d.** Puits de 30  $\mu\text{L}$  contenant des nanoparticules de 15 nm à 33,3  $\mu\text{g/mL}$ . On constate une grande mortalité cellulaire. A haute dose, on confirme donc que les 15 nm induisent de la mortalité cellulaire de façon dépendante de la concentration. **e.** Test de compressibilité sur une membrane synthétique de DPPC-cholestérol 70/30 à 1 mM dans un mélange chloroforme :éthanol 4:1, à une concentration en nanoparticules 15 nm de 20  $\mu\text{mol/L}$ . On a comprimé la membrane phospholipidique jusqu'à 40 mN/m pour le blanc. On observe une plus grande compressibilité de la membrane lorsqu'elle est en présence de nanoparticules. Cela s'expliquerait par un réarrangement des lipides autour des nanoparticules, permettant d'obtenir une membrane contenant plus d'espaces entre les lipides, et donc plus compressible, ce qui suggérerait que les membranes synthétiques au moins sont perméables aux nanoparticules de 15 nm.

