



## PhD fellowship (2025-2028)

### ***Collective effects of luminescent nanoprobes assembled on 3D protein origamis***

---

**Starting date:** 01/10/2025

**Duration:** 36 months

**Co-Supervisors :** Erik DUJARDIN and Aymeric LERAY

*Laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne (ICB), Univ. Bourgogne Europe, CNRS UMR 6303*

*Département Photonique - Equipe PRISM - 9 avenue Alain Savary - BP 47870 - 21078 Dijon Cedex - France*

*Email: erik.dujardin@cnrs.fr – Phone: +33 (0)3 80 39 59 62.*

---

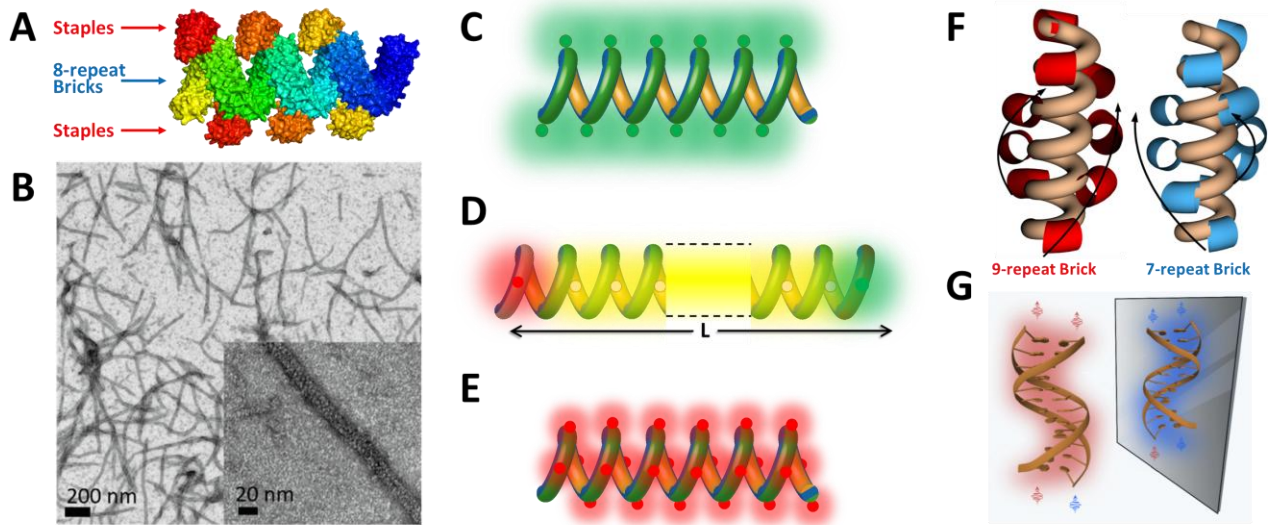
**Background.** The optical properties of molecular fluorophores, semiconductor luminescent nanocrystals (quantum dots) or metallic depend on intrinsic phenomena (structure, size, materials, morphology, etc.) and extrinsic phenomena (surface effects, local temperature, electric field, local index, collective effects and couplings, etc.). Control of the former allows optical engineering over a wide range of wavelengths and lifetimes. The emitted light can be shaped in time or space thanks to the latter.

In particular, dense and ordered arrays of emitters give rise to collective effects thanks to which the luminescence acquires unusual properties. **Superfluorescence** is an increased brightness of an ensemble of emitters that influence each other.<sup>1</sup> **Superradiance** is the emergence of a macroscopic emission dipole by coherent coupling between emitters that also results in enhanced luminescence.<sup>2</sup> Superradiance will be circularly polarized if the assembly of emitters has chiral symmetry.<sup>3</sup> Finally, such ensembles can give rise to new laser regimes.<sup>4</sup> Most experimental observations of these phenomena have been made at low temperature and in all-solid or cold atom systems. Recently, collective luminescent effects have been observed, at room temperature, for dense sets of emitters precisely positioned in a spherical viral capsid.<sup>5-7</sup> Although benefiting from the nanometric precision of the grafting of emitters onto viral proteins and the precise geometry of the capsid assembly, this system remains constrained by the natural topology of the virus.

The thesis project proposes to exploit protein origami, which are programmable 3D architectures of artificial proteins (Fig. 1AB), recently studied in the laboratory in collaboration with P. Minard's team of biochemists (I2BC, Gif sur Yvette),<sup>8,9</sup> to order emitters according to a highly anisotropic (1D) or chiral topology and to study their optical luminescence properties, including the collective effects mentioned above. The major advantage of protein origami is to be able to independently program the 3D geometry of the protein matrix - which is impossible with natural viruses but also with most organic (polymers) or inorganic (sol-gel oxides) matrices - and the positioning of the emitters which will be, in this project, molecular or nanoparticulate (quantum dots, gold clusters). The second advantage is that these assemblies are produced in colloidal suspension and therefore can be deposited on substrates, in cavities, etc.

This thesis project will exploit entirely artificial proteins produced by our biochemist partners and whose assembly properties (governing the 3D geometry) and grafting properties (determining the topology of the emitter assembly) can be adjusted in collaboration.<sup>10-12</sup> The aim will be to characterize these assemblies structurally by electron (SEM, TEM) and near-field (AFM, SNOM) microscopy and then to explore their luminescence properties in solution and after deposition on substrate. We will be interested in both the average behaviors and the responses of individual objects (a single origami). First, we will study the temporal and spatial characteristics of the fluorescence of superhelix origami uniformly decorated by the same emitter (Fig. 1C). The arrangement of emitters outside the superhelix (via the "staples") should produce a right- or left-handed chiral effect depending on the size of the brick (Figs. 1EFG). The arrangement of emitters inside the superhelix channel will be dense and one-dimensional. They can be isolated from the solvent to increase coherence and promote the observation of superfluorescence. In a second step, the origami will carry emitters with adjusted spectral characteristics to promote the emergence of Förster-like coupling phenomena, the energy transfer capacity of which, possibly chiral, along the superhelix will be measured (Fig. 1D). Finally, collective effects (superfluorescence, superradiance) will be explored in spatially (confocal microscopy) and temporally (lifetime, photon correlation) resolved fluorescence microscopy and spectroscopy<sup>13,14</sup> in both individual superhelices and highly aligned crystals of superhelices.<sup>8,9, 15</sup>

This experimental work will be accompanied by numerical support to help understand the observed phenomena thanks to the contribution of Gérard Colas des Francs (ICB/PRISM).



**Figure 1:** (A) 3D model of an origami superhelix that spontaneously forms by mixing two  $\alpha$ Rep proteins, the "brick" and the "staple". (B) CryoEM image of individual origami fibrils.<sup>8,9</sup> (C-E) Schematics of superhelices decorated with fluorophores that can give rise to (C) superfluorescence, (D) energy transfer by Förster-like coupling, (E) chiral superradiance. (F,G) Depending on the size of the brick, the staples follow a right-handed or left-handed chiral arrangement. (G) The coupling of emitters carried by the staples gives rise to a right-handed or left-handed selectivity of the emitted fluorescence.<sup>3</sup>

**Thesis objectives.** A multidisciplinary PhD contract in experimental physical chemistry is proposed at the Interdisciplinary Carnot Laboratory of Burgundy (ICB, CNRS Univ. Bourgogne Europe, Dijon, France). The work proposes to explore the optical properties of 3D protein assemblies functionalized with fluorescent molecules or nanocrystals by **advanced optical microscopy and spectroscopy** techniques.

It comprises three sub-topics: (i) Self-assembly of origami and functionalization with fluorophores, (ii) Structural characterization by electron microscopy and near field and (iii) optical studies in solution and on individual objects of the fluorescence properties, energy transfer and their collective effects (superfluorescence, superradiance).

**Missions and Training.** The candidate will be trained in the production of origami from artificial proteins designed and produced by our biochemist partners and will **develop functionalization protocols** to use origami as a support for self-assembly of emitters with sub-nm precision. He/she will **perform the structural characterization** of the hybrid origami-nanoparticle superstructures ordered in 3D by **AFM, FEGSEM** and conventional **TEM** in the ARCEM platform (ICB, Dijon). Advanced optical and spectroscopic studies (**Fluorescence, lifetime, TIRF, circular dichroism, Raman**) will allow to explore the standard, enhanced, FRET, superfluorescence, superradiance and even laser regimes.

### References

- 1- B. Russ, C. N. Eisler, **Nanophotonics**, 13, 1943 (2024) ([Link](#))
- 2- G. Rainò, H. Utzat, M. G. Bawendi, M. V. Kovalenko, **MRS Bulletin**, 45, 841 (2020). ([Link](#))
- 3- J. S. Peter, S. Ostermann, S. F. Yelin, **Phys. Rev. Res.** 6, 023200 (2024). ([Link](#))
- 4- K. Debnath, Y. Zhang, K. Mølmer, **Phys. Rev. A**, 98, 063837 (2018). ([Link](#))
- 5- J. Holmes, A. A. Sushma, I.B. Tsvetkova, W.L. Schaich, R.D. Schaller, B. Dragnea, **J. Phys. Chem. Lett.** 13, 14, 3237 (2022). ([Link](#))
- 6- Irina B. Tsvetkova, A. A. Sushma, J. Che-Yen Wang, W. L. Schaich, B. Dragnea, **ACS Nano**, 13, 11401 (2019). ([Link](#))
- 7- I.B. Tsvetkova, et al., B. Dragnea, **ACS Nano**, 19, 479 (2025). ([Link](#))
- 8- L. Moreaud, S. Viollet, A. Urvoas, M. Valerio-Lepiniec, et al. F. Artzner,, E. Dujardin, P. Minard, **PNAS**, 120, e2218428120 (2023). ([Link](#))
- 9- J. Miller, A. Urvoas, et al., M. Valerio-Lepiniec, F. Artzner, E. Dujardin, P. Minard, **J. Struct. Biol.**, 215, 108102 (2023). ([Link](#))
- 10- Guellouz A., Valerio-Lepiniec, M., Urvoas, A., Minard, P., et al., **PloS One**, 8, e71512 (2013). ([Link](#))
- 11- K. L. Gurunatha, A. C. Fournier, A. Urvoas, M. Valerio-Lepiniec, V. Marchi, P. Minard and E. Dujardin. **ACS Nano**, 10, 3176–3185 (2016). ([Link](#))
- 12- M. Fernandez, A. Urvoas, P. Even-Hernandez, et al., P. Minard, E. Dujardin, V. Marchi, **Nanoscale**, 12, 4612-4621 (2020). ([Link](#))
- 13- L. Hélot, A. Leray, **Sci. Rep.**, 11, 23858 (2021). ([Link](#))
- 14- M. Fournier, P. Leclerc, A. Leray, D. Champelovier, F. Agbazahou, F. Dahmani, G. Bidaux, A. Furlan, L. Hélot, **Sci. Rep.**, 13, 14633 (2023). ([Link](#))
- 15- N. S. Babcock, G. Montes-Cabrera, K. E. Oberhofer, M. Chergui, G. L. Celardo, P. Kurian, **J. Phys. Chem. B**, 128, 4035 (2024). ([Link](#))



## Bourse doctorale (2025-2028)

### ***Effets collectifs de nanosondes fluorescentes par décoration d'origami 3D de protéines.***

---

<b>Début:</b>	01/10/2025	<b>Durée:</b>	36 mois
<b>Encadrant :</b>	<b>Erik DUJARDIN et Aymeric LERAY</b> <i>Laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne (ICB), Univ. Bourgogne Europe, CNRS UMR 6303 Département Photonique - Equipe PRISM - 9 avenue Alain Savary - BP 47870 - 21078 Dijon Cedex - France Email: erik.dujardin@cnrs.fr – Phone: +33 (0)3 80 39 59 62.</i>		

---

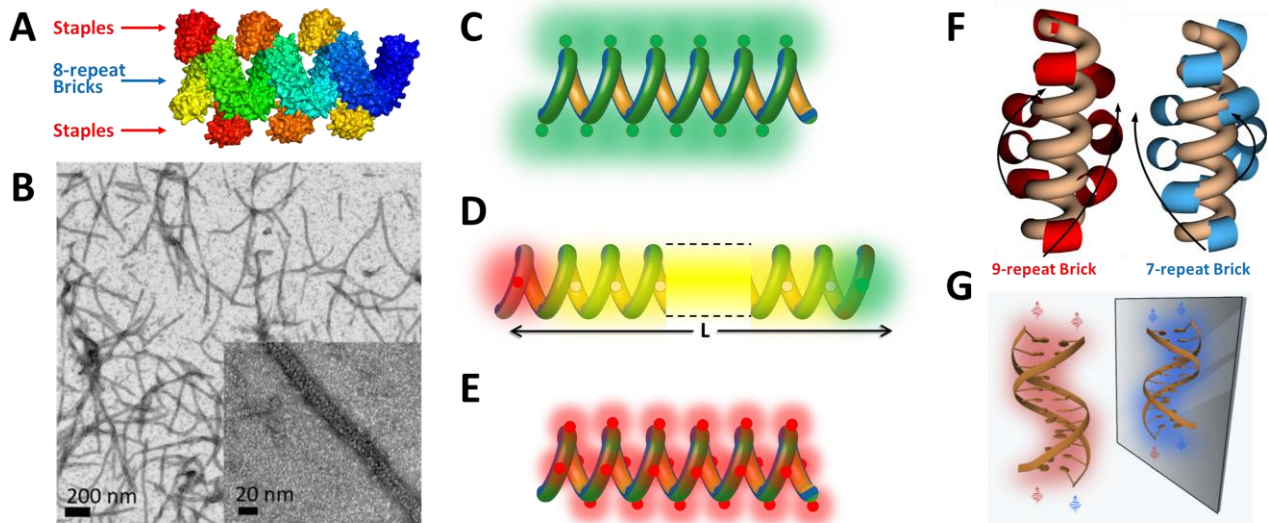
**Contexte.** Les propriétés optiques des fluorophores moléculaires, des nanocristaux luminescents semi-conducteurs (quantum dots) ou métalliques dépendent de phénomènes intrinsèques (structure, taille, matériaux, morphologie, ...) et de phénomènes extrinsèques (effets de surface, température locale, champ électrique, indice local, effets collectifs et couplages, ...). Le contrôle des premiers permet une ingénierie optique sur une large gamme de longueur d'onde et de durée de vie. La lumière émise peut être façonnée dans le temps ou dans l'espace grâce aux seconds.

En particulier, des ensembles denses et ordonnés d'émetteurs sont le siège d'effets collectifs grâce auxquels la luminescence acquiert des propriétés inhabituelles. La **super-fluorescence** est un surcroît de brillance d'un ensemble d'émetteurs qui s'influencent mutuellement.<sup>1</sup> La **superradiance** est l'émergence d'un dipôle macroscopique d'émission par couplage cohérent entre émetteurs qui résulte aussi en une luminescence renforcée.<sup>2</sup> La superradiance sera polarisée circulairement si l'assemblée des émetteurs possède une symétrie chirale.<sup>3</sup> Enfin, de tels ensembles peuvent donner lieu à de nouveaux régimes laser.<sup>4</sup> La plupart des observations expérimentales de ces phénomènes ont été faites à basse température et dans des systèmes tout-solide ou d'atomes froids. Récemment, des effets luminescents collectifs ont été observés, à température ambiante, pour des ensembles denses d'émetteurs positionnés précisément dans une capsid virale sphérique.<sup>5-7</sup> Bien que bénéficiant de la précision nanométrique du greffage des émetteurs sur les protéines virales et de la géométrie précise de l'assemblage de la capsid, ce système reste contraint par la topologie naturelle du virus.

Le projet de thèse propose d'exploiter les origamis de protéines, qui sont des architectures 3D programmables de protéines artificielles (Fig. 1AB), récemment étudiées au laboratoire en collaboration avec l'équipe de biochimistes de P. Minard (I2BC, Gif sur Yvette),<sup>8,9</sup> pour ordonner des ensembles émetteurs selon une topologie fortement anisotrope (1D) ou chirale et d'en étudier les propriétés optiques de luminescence, y compris les effets collectifs mentionnés ci-dessus. L'atout majeur des origamis de protéines est de pouvoir programmer indépendamment la géométrie 3D de la matrice protéique - ce qui est impossible avec les virus naturels mais aussi avec la plupart des matrices organiques (polymères) ou inorganiques (oxydes sol-gel) – et le positionnement des émetteurs qui seront, dans ce projet, moléculaires ou nanoparticulaires (quantum dots, clusters d'or). Le second avantage est que ces assemblages sont produits en suspension colloïdale et donc pourront être déposés sur des substrats, dans des cavités, etc...

Ce projet de thèse exploitera des protéines entièrement artificielles produites par nos partenaires biochimistes et dont les propriétés d'assemblage (gouvernant la géométrie 3D) et de greffage (déterminant la topologie de l'ensemble d'émetteur) pourront être ajustées en collaboration.<sup>10-12</sup> Il s'agira de caractériser structurellement ces assemblages par microscopies électroniques (MEB, MET) et champ proche (AFM, SNOM) puis d'en explorer les propriétés de luminescence en solution et après dépôt sur substrat. Nous nous intéresserons aussi bien aux comportements moyens d'ensemble qu'aux réponses d'objets individuels (un seul origami). Dans un premier temps, nous étudierons les caractéristiques temporelles et spatiales de la fluorescence d'origamis superhélices décorés uniformément par un même émetteur (Fig. 1C). L'agencement des émetteurs à l'extérieur de la superhélice (via les "agrafes") devrait produire un effet chiral de sens droit ou gauche selon la taille de la brique (Figs. 1EFG). L'insertion des émetteurs à l'intérieur du canal de la superhélice sera dense et unidimensionnel. Ils pourront y être isolés du solvant pour accroître la cohérence et favoriser l'observation de superfluorescence. Dans un deuxième temps, l'origami portera des émetteurs à caractéristiques spectrales ajustées pour favoriser l'émergence de phénomènes de couplages type FRET dont on mesurera la capacité de transfert d'énergie, éventuellement chiral, le long de la superhélice (Fig. 1D). Enfin, les effets collectifs (superfluorescence, superradiance) seront explorés en microscopie et spectroscopie de fluorescence résolues spatialement (microscopie confocale) et temporellement (temps de vie, corrélation de photons)<sup>13,14</sup> aussi bien dans les superhélices individuelles que dans les cristaux hautement alignés de superhélices.<sup>8,9,15</sup>

Ce travail expérimental sera accompagné par un soutien numérique pour aider à la compréhension des phénomènes observés grâce à la contribution de Gérard Colas des Francs (ICB/PRISM).



**Figure 1:** (A) Modèle 3D d'une superhélice origami qui se forme spontanément en mélangeant deux protéines aRep, la "brique" et l'"agrafe". (B) Image CryoEM de fibrilles d'origami individuelles.<sup>8,9</sup> (C-E) Schémas de superhélices décorées de fluorophores pouvant donner lieu à (C) une superfluorescence, (D) un transfert d'énergie par couplage type Förster, (E) une superradiance chirale. (F,G) selon la taille de la brique, les agrafes suivent un arrangement chirale droite ou gauche. (G) Le couplage des émetteurs portés par les agrafes donne lieu à une sélectivité droite ou gauche de la fluorescence émise.<sup>3</sup>

**Objectifs de la thèse.** Un contrat doctoral multi-disciplinaire en physico-chimie expérimentale est proposé au Laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne (ICB, CNRS Univ. Bourgogne Europe, Dijon, France). Le travail propose d'explorer les propriétés optiques des assemblages 3D de protéines fonctionnalisés avec des molécules ou nanocristaux fluorescents par des techniques de **microscopies et spectroscopies optiques de pointe**.

Il comporte trois volets: (i) Auto-assemblage d'origamis et fonctionnalisation avec des fluorophores, (ii) Caractérisation structurales par microscopie électronique et champ proche et (iii) études optiques en solution et sur objet individuels des propriétés de fluorescence, de transfert d'énergie et leurs effets collectifs (superfluorescence, superradiance).

**Missions et Formation.** Le(la) candidat(e) sera formé(e) à la production des origamis à partir de protéines artificielles conçues et produites par nos partenaires biochimistes et **développera des protocoles de fonctionnalisation** pour utiliser les origamis comme support d'auto-assemblage des émetteurs avec une précision sub-nm. Il/elle **réalisera les caractérisations structurales** des superstructures hybrides origami-nanoparticules ordonnées en 3D par **AFM, FEGSEM** et **TEM conventionnel** dans la plateforme ARCEM (ICB, Dijon). Des études optiques et spectroscopiques poussées (**Fluorescence, temps de vie, TIRF, dichroïsme circulaire, Raman**) permettront d'explorer les régimes standard, exaltés, FRET, superfluorescence, superradiance et même laser.

### Bibliographie

- 1- B. Russ, C. N. Eisler, **Nanophotonics**, 13, 1943 (2024) ([Link](#))
- 2- G. Rainò, H. Utzat, M. G. Bawendi, M. V. Kovalenko, **MRS Bulletin**, 45, 841 (2020). ([Link](#))
- 3- J. S. Peter, S. Ostermann, S. F. Yelin, **Phys. Rev. Res.** 6, 023200 (2024). ([Link](#))
- 4- K. Debnath, Y. Zhang, K. Mølmer, **Phys. Rev. A**, 98, 063837 (2018). ([Link](#))
- 5- J. Holmes, A. A. Sushma, I.B. Tsvetkova, W.L. Schaich, R.D. Schaller, B. Dragnea, **J. Phys. Chem. Lett.** 13, 14, 3237 (2022). ([Link](#))
- 6- Irina B. Tsvetkova, A. A. Sushma, J. Che-Yen Wang, W. L. Schaich, B. Dragnea, **ACS Nano**, 13, 11401 (2019). ([Link](#))
- 7- I.B. Tsvetkova, et al. , B. Dragnea, **ACS Nano**, 19, 479 (2025). ([Link](#))
- 8- L. Moreaud, S. Viollet, A. Urvoas, M. Valerio-Lepiniec, et al. F. Artzner,, E. Dujardin, P. Minard, **PNAS**, 120, e2218428120 (2023). ([Link](#))
- 9- J. Miller, A. Urvoas, et al., M. Valerio-Lepiniec, F. Artzner, E. Dujardin, P. Minard, **J. Struct. Biol.**, 215, 108102 (2023). ([Link](#))
- 10- Guellouz A., Valerio-Lepiniec, M., Urvoas, A., Minard, P., et al., **PloS One**, 8, e71512 (2013). ([Link](#))
- 11- K. L. Gurunatha, A. C. Fournier, A. Urvoas, M. Valerio-Lepiniec, V. Marchi, P. Minard and E. Dujardin. **ACS Nano**, 10, 3176–3185 (2016). ([Link](#))
- 12- M. Fernandez, A. Urvoas, P. Even-Hernandez, et al., P. Minard, E. Dujardin, V. Marchi, **Nanoscale**, 12, 4612-4621 (2020). ([Link](#))
- 13- L. Héliot, A. Leray, **Sci. Rep.**, 11, 23858 (2021). ([Link](#)).
- 14- M. Fournier, P. Leclerc, A. Leray, D. Champelovier, F. Agbazahou, F. Dahmani, G. Bidaux, A. Furlan, L. Héliot, **Sci. Rep.**, 13, 14633 (2023). ([Link](#))
- 15- N. S. Babcock, G. Montes-Cabrera, K. E. Oberhofer, M. Chergui, G. L. Celardo, P. Kurian, **J. Phys. Chem. B**, 128, 4035 (2024). ([Link](#))