

FLUOROPHORES DENDRITIQUES A 2 PHOTONS POUR L'IMAGERIE CELLULAIRE ET CHEZ L'ANIMAL VIVANT

BIOLOGIE & SANTÉ 2011



BIODENDRIDOT ANR PCV-2006

Anne-Marie CAMINADE (Coordinatrice) et Jean-Pierre Majoral, UPR CNRS 8241, Toulouse
Mireille Blanchard-Desce (Partenaire 2), UMR CNRS 6510, Rennes
Etienne Joly (Partenaire 3) et Justin Teissié, UMR 5089, Toulouse
Bettina Couderc (Partenaire 4), Institut Claudius Regaud, Toulouse

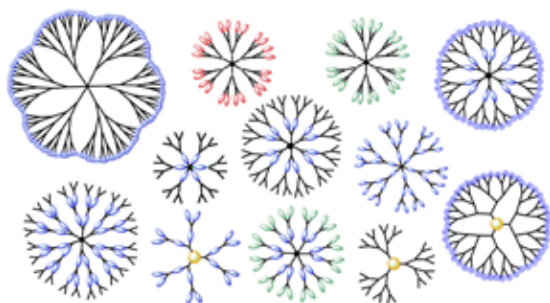
Contexte et objectifs

L'imagerie du vivant par fluorescence souffre de nombreux défauts, en particulier une pénétration très limitée à travers les tissus biologiques, et d'importants risques de photo-dommages induits par une irradiation laser généralement dans l'UV. La fluorescence par absorption à deux photons peut apporter de réelles améliorations, parce qu'elle utilise des longueurs d'onde d'irradiation dans le proche IR, et que la profondeur de pénétration est au moins 5 fois plus grande que par une irradiation classique, sans risque de photo-dommages induits. Les fluorophores employés jusqu'à présent ont de sérieuses limitations: sensibilité pour les fluorophores organiques classiques, toxicité et « clignotement » pour les nanoparticules luminescentes (quantum dots).

Nous avons proposé dans ce projet de développer une alternative « tout organique » aux quantum dots, basée sur la présence de fluorophores organiques particulièrement élaborés pour l'absorption à deux-photons, dans des molécules multi-ramifiées : les dendrimères.

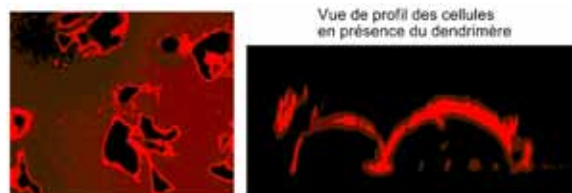
Résultats majeurs

Des fluorophores absorbant à 2 photons de structure et symétrie variables (dipolaire, quadripolaire, octupolaire) et de longueur d'onde d'émission variables (bleu, vert, jaune, orange) ont été synthétisés par le Partenaire 2, puis greffés sur dendrimères par le Partenaire 1 (coordinatrice), qui a aussi assuré le greffage de fonctions permettant la solubilité dans l'eau. La figure ci-dessous donne un aperçu partiel de la quantité énorme de composés dendritiques absorbant à 2 photons qui ont été synthétisés (la couleur correspond à la couleur d'émission des fluorophores isolés).

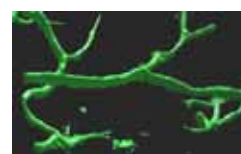
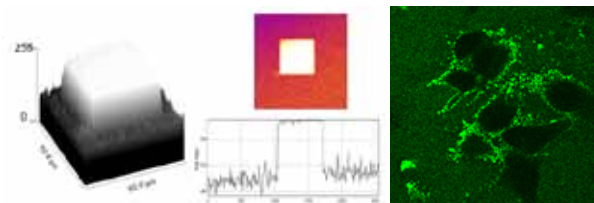


Ces composés présentent des propriétés d'absorption à 2 photons exceptionnelles, et un effet coopératif très original sur la réponse biphotonique a pu être mis en évidence pour la première fois.

Le Partenaire 3 a utilisé les microscopes biphotoniques pour tester les dendrimères fluorescents et absorbants à deux photons sur des cultures cellulaires. Des dendrimères en forme de cône, ayant un fluorophore émettant dans l'orange-rouge au niveau du cœur, et des ammoniums en surface, présente une très forte affinité pour la membrane des cellules B16F10, comme le montrent les photos ci-dessous.



Le deuxième type de dendrimère testé par le Partenaire 3 possède 12 fluorophores et 24 motifs PEG. Son excitation biphotonique a permis de mettre en évidence un phénomène très original, de thermo-agrégation photo-assistée de ce composé dans l'eau dans le microvolume (fl) où l'excitation biphotonique est présente. Le volume irradié est facilement contrôlé par balayage du laser dans la solution. Sur l'illustration qui suit, nous avons limité l'irradiation à un carré. Le même dendrimère est utilisé pour visualiser la membrane de cellules.



Un dendrimère ayant des ammoniums en surface et un cœur émettant dans le vert a été injecté dans le cœur d'un têtard par le Partenaire 2; il a permis la visualisation en 3D du système vasculaire de l'animal vivant.

Conclusions, perspectives

Nous avons fixé au départ des objectifs extrêmement ambitieux, qui ont quasiment tous été atteints. Nous sommes même allés bien au-delà dans un domaine très spectaculaire : l'écriture contrôlée en 3 dimensions dans l'eau par irradiation d'une solution aqueuse d'un dendrimère absorbant à 2 photons. Nous sommes encore en train d'essayer de comprendre les phénomènes physiques, chimiques, thermodynamiques associés à cette propriété totalement inédite.

CONTACT :

caminade@lcc-toulouse.fr

Anne-Marie Caminade
Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS
205 route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex 4

Publications - valorisation:

- 6 publications multi-partenaires dont *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009, 48, 8691-8694
- 7 conférences internationales sur invitation + 6 en France, toutes multi-partenaires



Aussi 7 publications et 29 communications monopartenaire