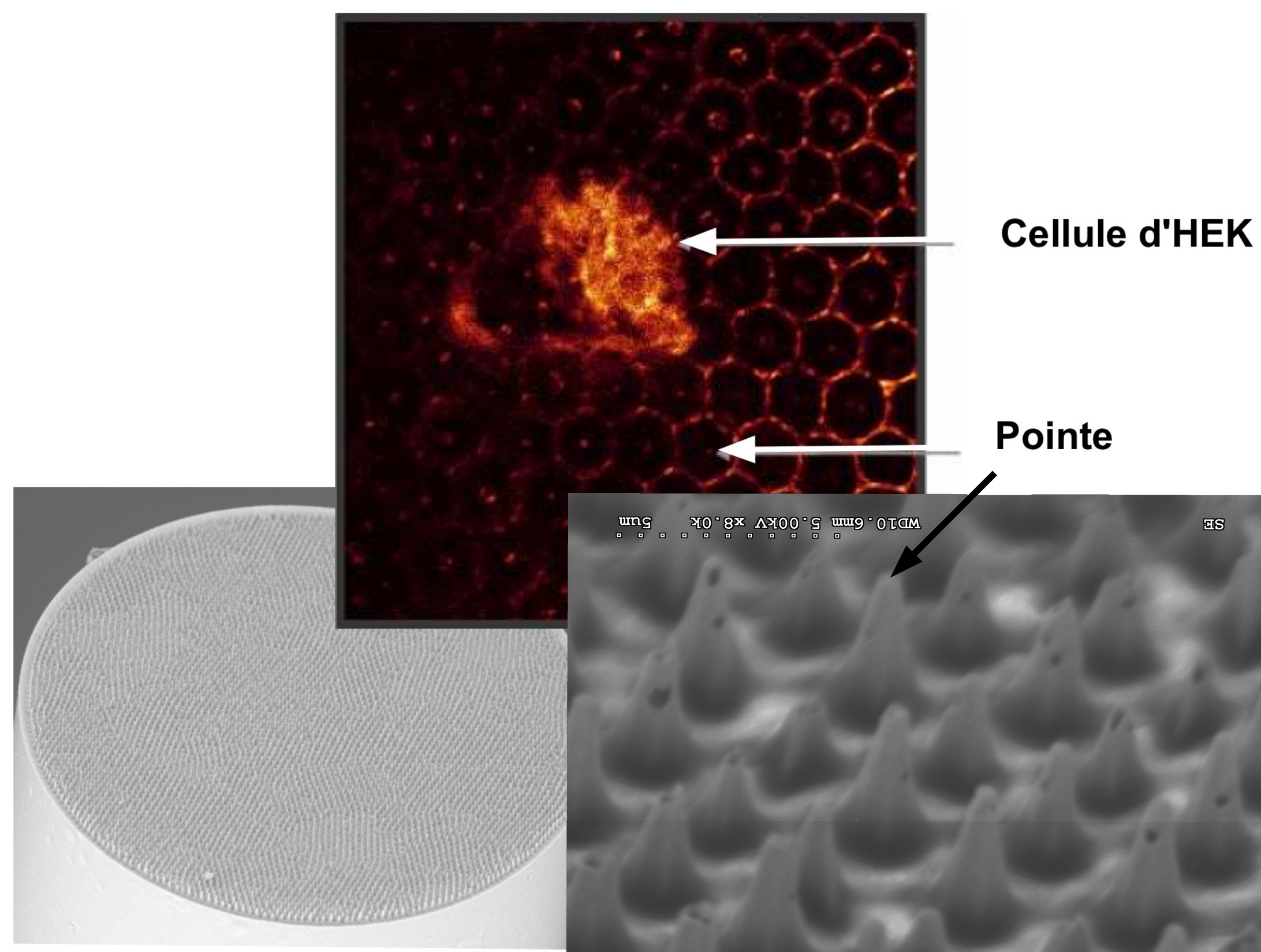


## Objectifs du projet :

Les objectifs de ce projet sont de coupler un outil bien connu des biologistes qui permet d'extraire des informations sur la dynamique de molécule unique (la spectroscopie de corrélation de fluorescence, dite FCS), avec des surfaces structurées, afin d'observer, à l'échelle de la dizaine de nanomètres, le rôle du cholestérol dans la maladie d'Alzheimer.



Les tapis de pointes « nano-fakir » utilisés pour l'observation cellulaire sont obtenus à partir de faisceaux denses de fibres optiques (la taille de l'extrémité d'une pointe est inférieure à 100 nm).

## Les surfaces structurées :

Les surfaces structurées (surfaces « nano-fakir ») sont des tapis de pointes nanométriques.

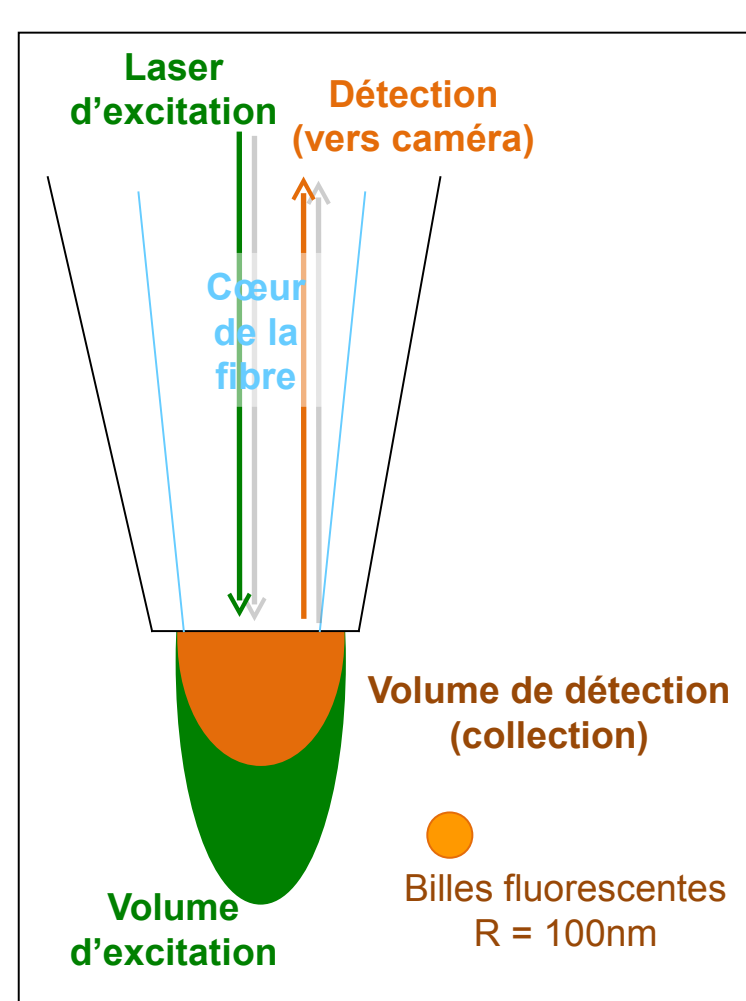
- Elles sont obtenues à partir de faisceaux de fibres optiques gravées par des méthodes chimiques puis couvertes par un film métallique.

Cette technique, simple et très reproductible, permet d'obtenir des surfaces couvrant une grande variété de formes par ajustement de la densité des pointes, de leur position et de leur taille.

- Elles permettent d'induire des zones de fortes intensités de lumière sur des tailles plus petites que la longueur d'onde (typiquement 100 nanomètres).

Les fortes intensités de lumière obtenues à l'extrémité des pointes permettent de mesurer la diffusion de molécules sur plusieurs volumes d'observation à la fois.

## Utilisation de surfaces « nano-fakir » pour la mesure de coefficient de diffusion :



Le mouvement des objets fluorescents dans le milieu induit une variation temporelle de l'intensité lumineuse détectée au travers des fibres optiques. L'analyse de celle-ci permet de rendre compte des propriétés de diffusion du milieu. Chaque extrémité de fibres des surfaces « nano-fakir » définit une zone d'observation précisément délimitée dont la taille peut être inférieure à la centaine de nanomètres.

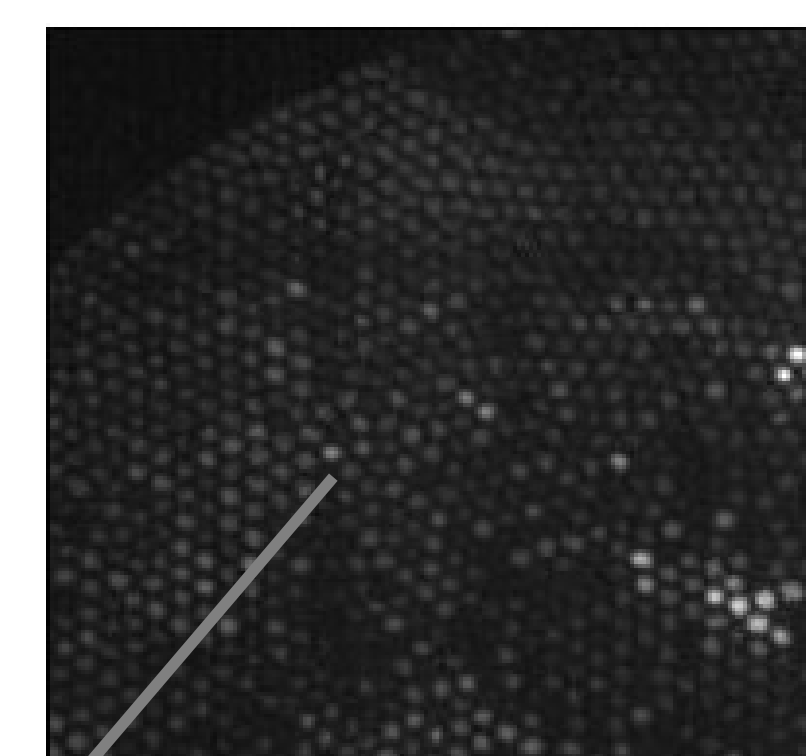
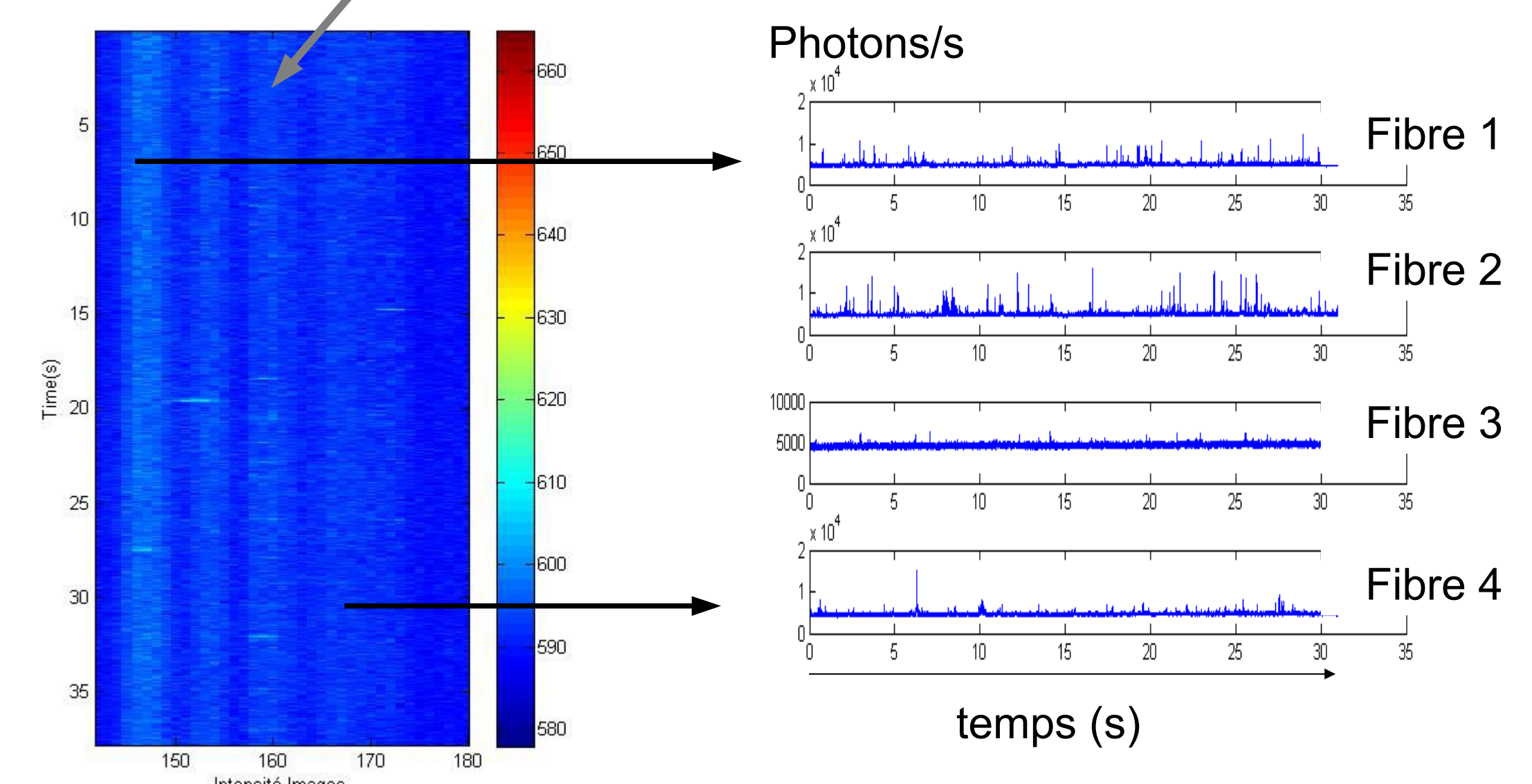


Image du faisceau de fibres optiques. Des points lumineux indiquent l'éclairement des corps fluorescents à travers les fibres.

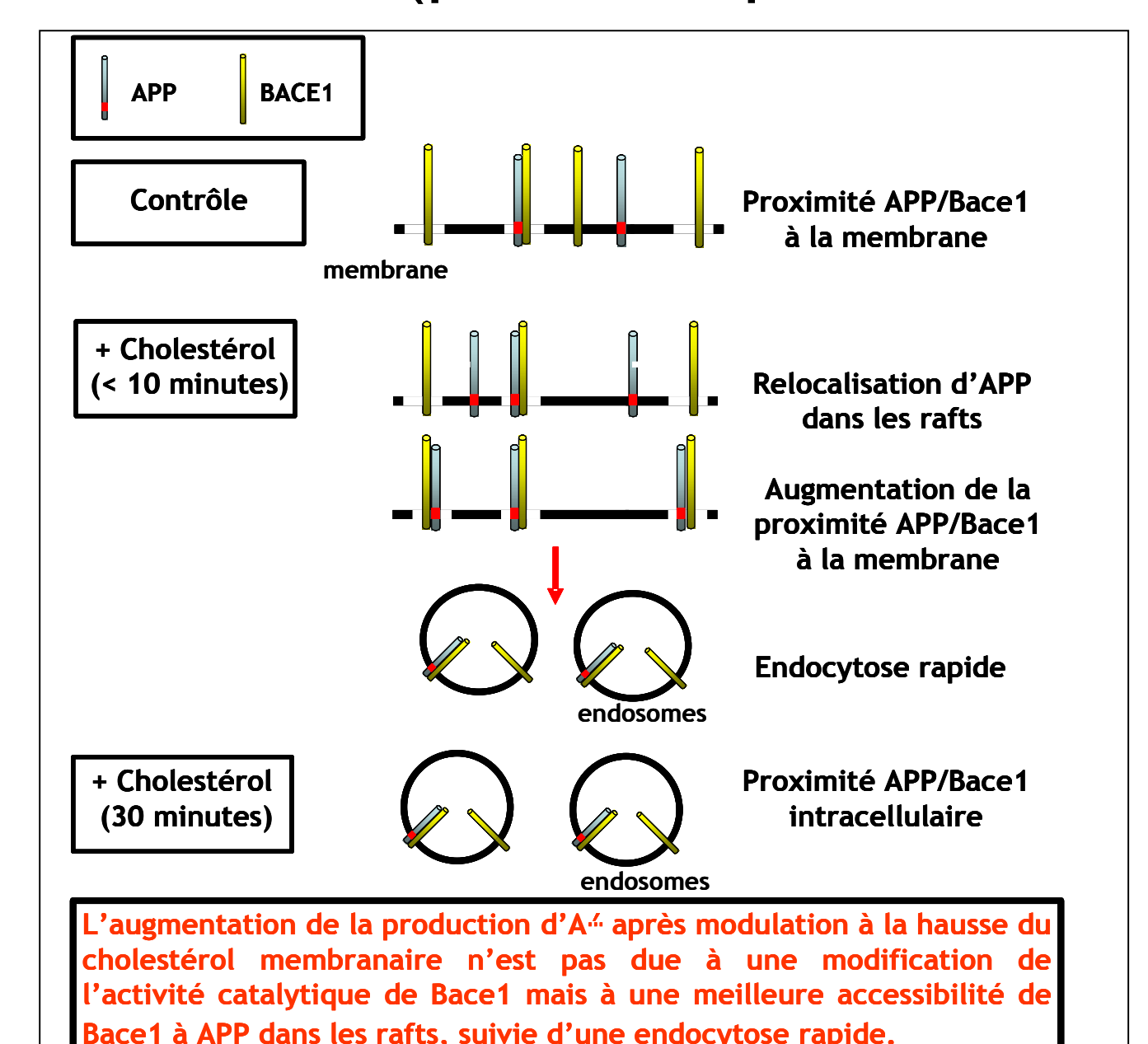


## Application à l'étude de la maladie d'Alzheimer :

Le peptide amyloïde (A $\beta$ ) est un composant majoritaire des plaques séniles retrouvées dans le cerveau de patients atteints de la maladie d'Alzheimer. L'A $\beta$  est produit par clivage séquentiel de la protéine APP (protéine précurseur de l'amyloïde) par la  $\beta$ -secretase (BACE-1) et le complexe  $\gamma$ -secretase.

Nous avons montré que le cholestérol modifie la proximité de la protéine (APP) et de son enzyme (BACE-1).

Les interactions entre le cholestérol et la maladie d'Alzheimer pourraient être mieux appréhendées par le suivi de molécules individuelles à l'échelle de la membrane cellulaire.



L'augmentation de la production d'A $\beta$  après modulation à la hausse du cholestérol membranaire n'est pas due à une modification de l'activité catalytique de Bace1 mais à une meilleure accessibilité de Bace1 à APP dans les rafts, suivie d'une endocytose rapide.

## Production scientifique :

C. Marquer et al, *The FASEB Journal* 25 p1296 (2011)

J. Delahaye et al, *Proceedings of SPIE* 7571 (2010)

### CONTACT :

samuel.gresillon@espci.fr  
emmanuel.fort@espci.fr  
fiona.quinlan-pluck@espci.fr

