

AFMIR

http://www.lcp.u-psud.fr/rubrique.php3?id_rubrique=115

Laboratoire de Chimie Physique

Université de Paris-Sud
Bâtiment349 - Campus d'Orsay
15, avenue Jean PERRIN
91405 Orsay Cedex
Tél : +33 (0) 1 69 15 75 75
Fax : +33 (0) 1 69 15 61 88

Mehran MOSTAFAVI

http://www.lcp.u-psud.fr/rubrique.php3?id_rubrique=266

Contact C'nano de l'équipe

DAZZI alexandre
alexandre.dazzi@u-psud.fr

Responsable d'équipe :

Alexandre DAZZI
alexandre.dazzi@u-psud.fr

Membres permanents de l'équipe :

Ariane Deniset
Ariane.deniset@u-psud.fr

Rui Prazeres
rui.prazeres@u-psud.fr

Francois Glotin
francois.glotin@u-psud.fr

Jean-Michel Ortega
jean-michel.ortega@u-psud.fr

- **Activités scientifiques de l'équipe :**

Nanoscopie infrarouge pour la biologie cellulaire. Spectroscopie infrarouge locale d'objets biologiques ou organiques et cartographie chimique des fonctions vibrationnelles à l'échelle du nanomètre.

Conception d'instruments adaptés à la microscopie et spectroscopie infrarouge. Accueil d'équipes scientifiques au sein du centre serveur de laser infrarouge CLIO (Laboratoire de Chimie Physique).

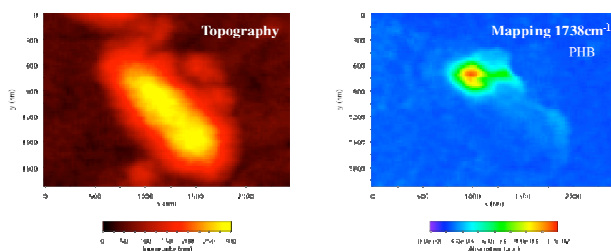
Étude de l'évolution des vésicules de réserve d'énergie (PHB ou TAGS) chez différentes souches bactériennes.

Utilisation d'une imagerie infrarouge utilisant des sondes greffables possédant une signature spectrale dans une fenêtre de transparence de la biologie.

- **Recherche(s) et résultat(s) obtenu(s) dans les domaines d'action des nanosciences :**

Détection de vésicules de PolyHydroxyButyrate à l'intérieur de Rhodobacter capsulatus

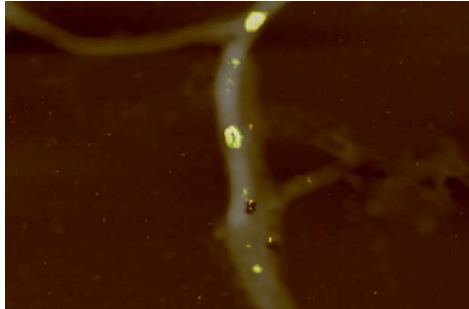
Topographie d'une bactérie Rhodobacter Capsulatus séchée (à droite) et cartographie chimique AFMIR correspondante sur la bande à 1738 cm^{-1} du PHB. On distingue parfaitement la vésicule avec à sa droite un autre signal provenant sans doute d'une vésicule plus petite.



La bactérie *Rhodobacter Capsulatus* a la particularité, lorsqu'elle se trouve dans un milieu riche en sucre, de générer des vésicules de polyhydroxybutyrate (PHB) à l'intérieur de sa membrane. L'intérêt du PHB est de posséder une bande infrarouge caractéristique à 1738 cm^{-1} en dehors de la bande amide I des bactéries. Notre technique de spectromicroscopie (AFMIR) est donc tout à fait appropriée pour détecter la présence de ces vésicules même si celles-ci ont une taille de 100 nm. Il est également possible de réaliser un spectre infrarouge sur cette vésicule.

Étude de la production de vésicules de TAGs chez Streptomyces

Image de la bactérie *Streptomyces lividans* (filament) représentée avec en surimpression (en jaune) ses poches de triacylglycols détectées par cartographie chimique.



Le but de ces études est de comprendre les mécanismes mis en jeu pour la production d'acide gras (TAGs) chez la bactérie *Streptomyces*. Des résultats préliminaires ont déjà été obtenus en spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR) permettant de mettre en évidence une signature spectroscopie pertinente pour notre étude. En effet les TAG présents au sein des vésicules possèdent plusieurs bandes d'absorption infrarouge caractéristiques. Notamment une des bandes correspondant à l'étirement de la liaison C=O de esters se situe à 1738 cm^{-1} et se distingue nettement de la bande amide I de la bactérie. En enregistrant les spectres IR par FTIR, nous avons pu ainsi observer qu'au cours de la croissance de *S. Lividans* l'amplitude de cette bande vibrationnelle augmentait preuve de la production des vésicules lipidiques. De plus grâce à notre dispositif de spectromicroscopie (AFMIR) nous avons pu aussi détecter ses vésicules et en déterminer la taille (de 100 à 300 nm).

Localisation d'un composé exogène « taggé » pour l'imagerie infrarouge AFMIR

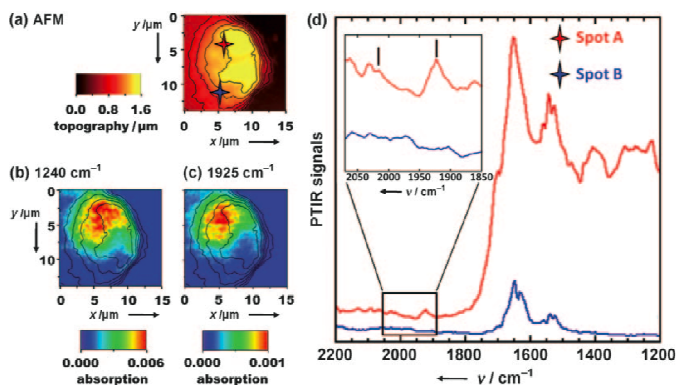


Figure 4. Enlarged image of the nucleus of the treated cell and spectromicroscopy. a) AFM topography. b,c) PTIR maps with the AFM contours superimposed as black lines recorded at 1240 cm^{-1} (b) and 1925 cm^{-1} (c). d) PTIR spectromicroscopy with an average incident power of 10 mW; spectrum at spot A in red, spectrum at spot B in blue; inset shows the region $1850\text{--}2050\text{ cm}^{-1}$ region; the two ticks indicate the position of the characteristic peaks of 1.

La spectromicroscopie infrarouge haute résolution AFMIR comme toutes imageries infrarouges ne permet pas de distinguer des cibles spécifiques en biologie cellulaire (contrairement à la fluorescence). La collaboration avec le groupe de C.Policar (ENS Paris) nous permet maintenant de proposer aux utilisateurs du microscope AFMIR des sondes infrarouges capables de se greffer sur des composés organiques. De cette manière il devient possible de suivre ou de localiser la distribution d'un composé dans une cellule ou bien de marquer une organelle particulière. Dans l'exemple de l'encadré, nous avons montré qu'il était possible de localiser le tamoxifène (hormone) dans le noyau de la cellule traitée grâce à une sonde carbonyle absorbant à 1925 cm^{-1} .

- **Programme de recherche :**

Développement d'un microscope multi-modal capable d'imager à la fois l'absorption infrarouge et la fluorescence utilisant des sondes dites « bi-modal » actives dans les deux domaines.

Adaptation du microscope pour l'imagerie infrarouge en milieu liquide pour permettre les études de cellules vivantes.

- **Références :**

« **Subcellular IR Imaging of a Metal–Carbonyl Moiety Using Photothermally Induced Resonance** », C. Policar, J. B. Waern, M. A. Plamont, S. Clède, C. Mayet, R. Prazeres, J.-M. Ortega, A. Vessières, and A. Dazzi, *Angewandte Chemie International Edition*, Vol 50, Issue 4, 860–864, (2011).

« **In situ identification and imaging of bacterial polymer nanogranules by infrared nanospectroscopy** », C. Mayet, A. Dazzi, R. Prazeres, J.-M. Ortega, D. Jaillard, *Analyst* 135, 2540-2545 (2010).

“**Theory of infrared nanospectroscopy by photothermal induced resonance**” , A. Dazzi, F. Glotin, and R. Carminati, *J. Appl. Phys.* **107**, 124519 (2010) .

« **Sub-100nm infrared spectromicroscopy of living cells** », C. Mayet, A. Dazzi, R. Prazeres, F. Allot, F. Glotin, J.M. Ortega, *Opt. Lett.* 33,1611-1613 (2008).