

NANOPARTICULE MULTIFONCTIONNELLE POUR L'IMAGERIE ET LE SUIVI À L'ÉCHELLE NANOMÉTRIQUE DE COMPLEXES BIOLOGIQUES : VECTORISATION ET APPLICATIONS À LA VISUALISATION DES ÉTAPES PRÉCOCES DU CYCLE RÉPLICATIF VIH

N. Arhel, A. Fragola, B. Malher, P. Charneau, J.C. Olivo-Marin, E. Doris, A.C. Boccara, B. Dubertret

Les quantum dots (QD) sont des nanocristaux de semi-conducteurs (fig 1) fluorescents nanométriques aux propriétés optiques étonnantes : rendement quantique élevé, grande résistance au photoblanchiment, spectre d'absorption large, longueur d'onde d'émission liée à la taille de la particule. Ils permettent de pousser la détection jusqu'à la molécule unique et de réaliser des images multicolores simultanément (fig 2).

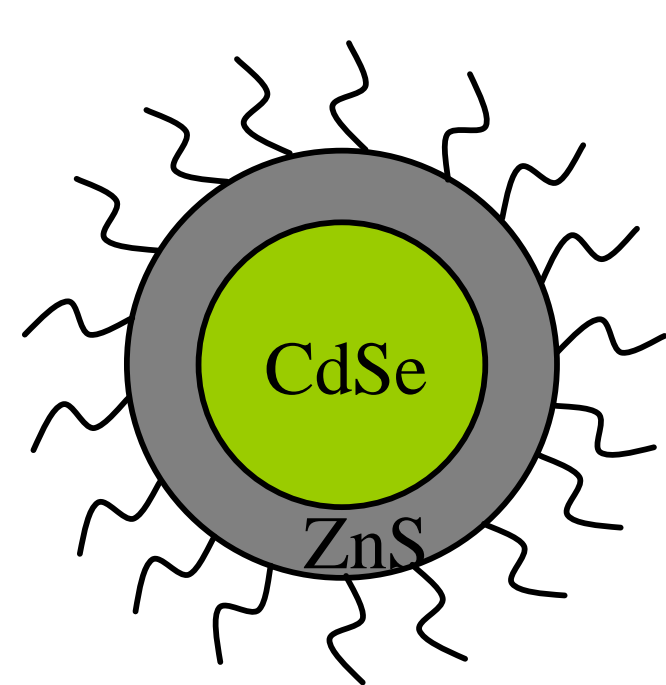


figure 1

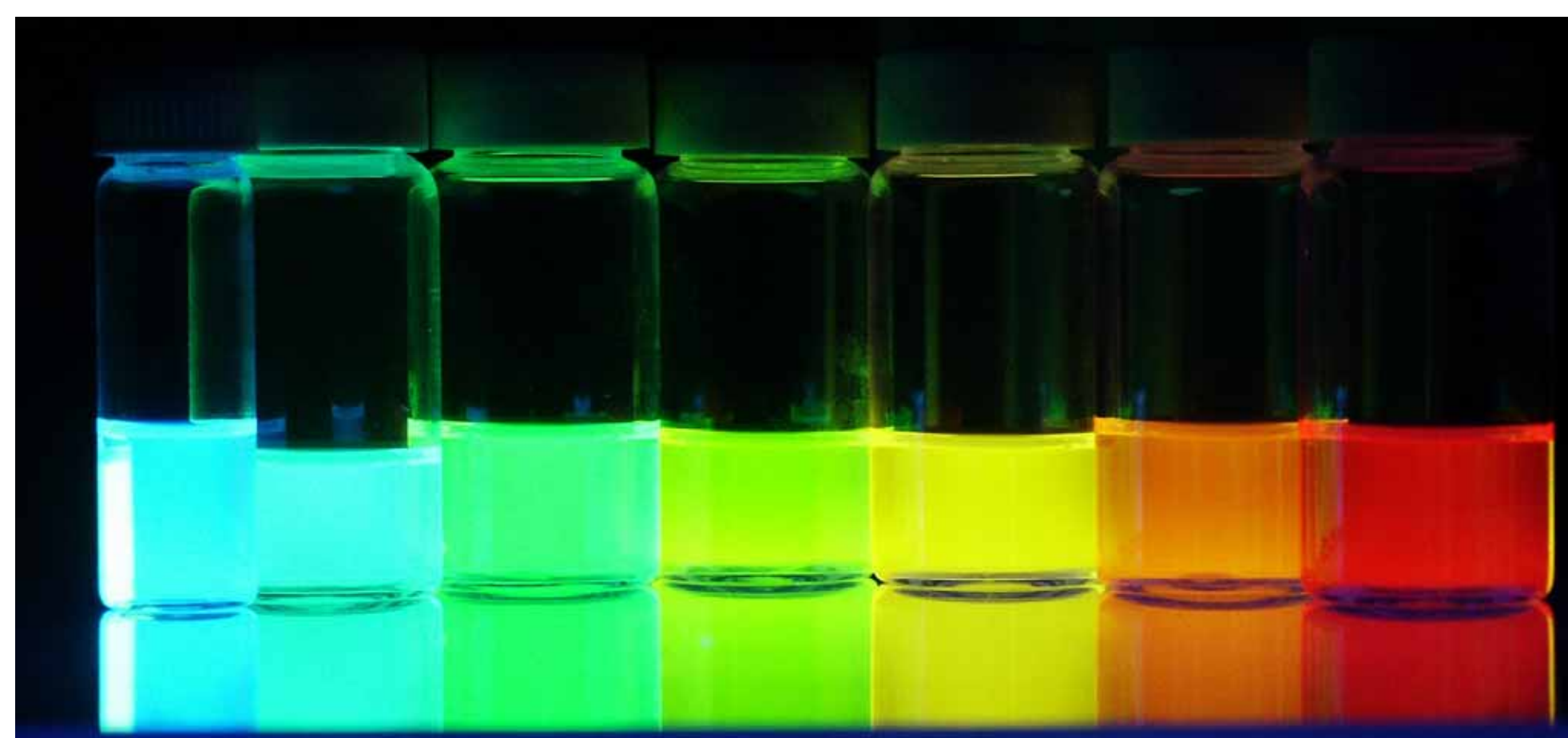


figure 2

Le projet repose sur la mise au point d'un nouveau système de délivrance des QDs dans les cellules, basé sur la charge des QD à l'intérieur de pseudo-capsides rétrovirales non infectieuses puis leur fusion efficace avec les cellules cibles grâce à l'utilisation de différentes enveloppes virales.

La co-électroporation des QD et du plasmide codant pour la protéine VSV-G dans des cellules HeLa induit un bourgeonnement (fig 3) et permet d'obtenir des pseudo-particules remplies de QD et fonctionnalisées (fig 5).



figure 3

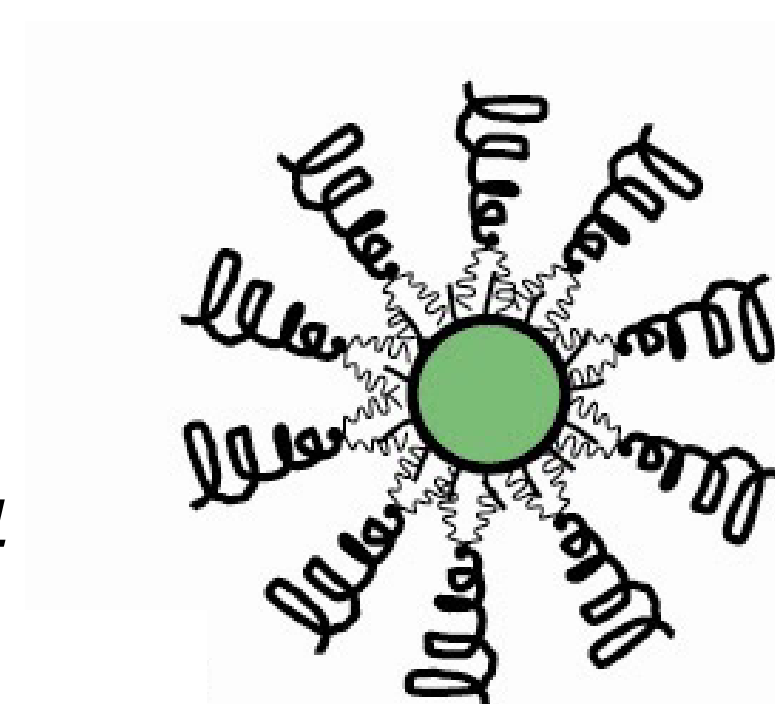


figure 4

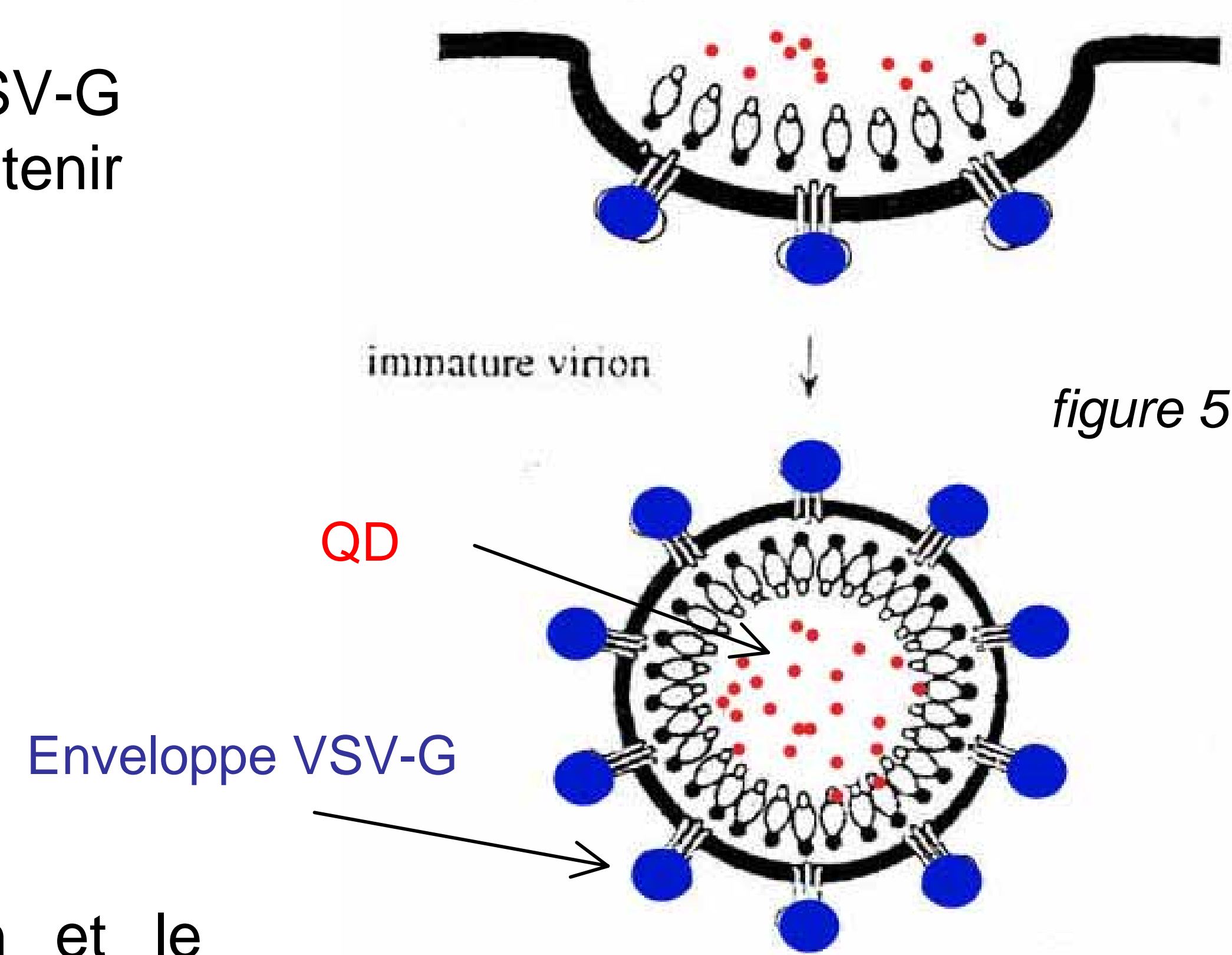


figure 5

La première étape du projet a consisté à optimiser la purification et le solubilisation des QD afin de limiter leur toxicité dans les cellules. Une fois encapsulés dans une micelle de polymères amphiphiles (figure 4), les QD sont électroporés dans les cellules à des concentrations élevées, de l'ordre de 10 μ M.

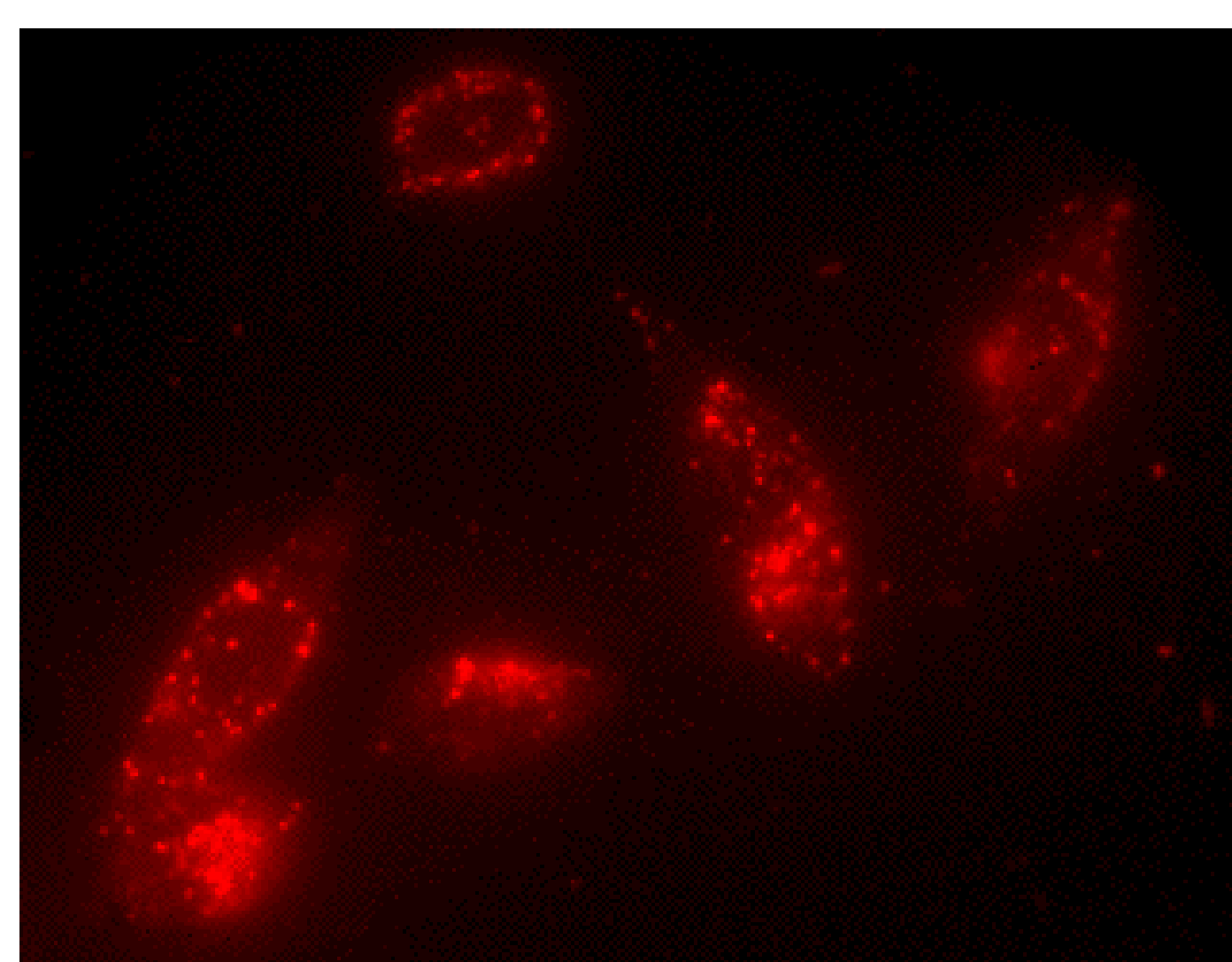


figure 6

Les images réalisées en microscopie de fluorescence classique (figure 6) ou confocale (figure 7) ont montré que les cellules électroporées présentent une concentration intracellulaire élevée de nanocristaux dont les propriétés optiques sont préservées.

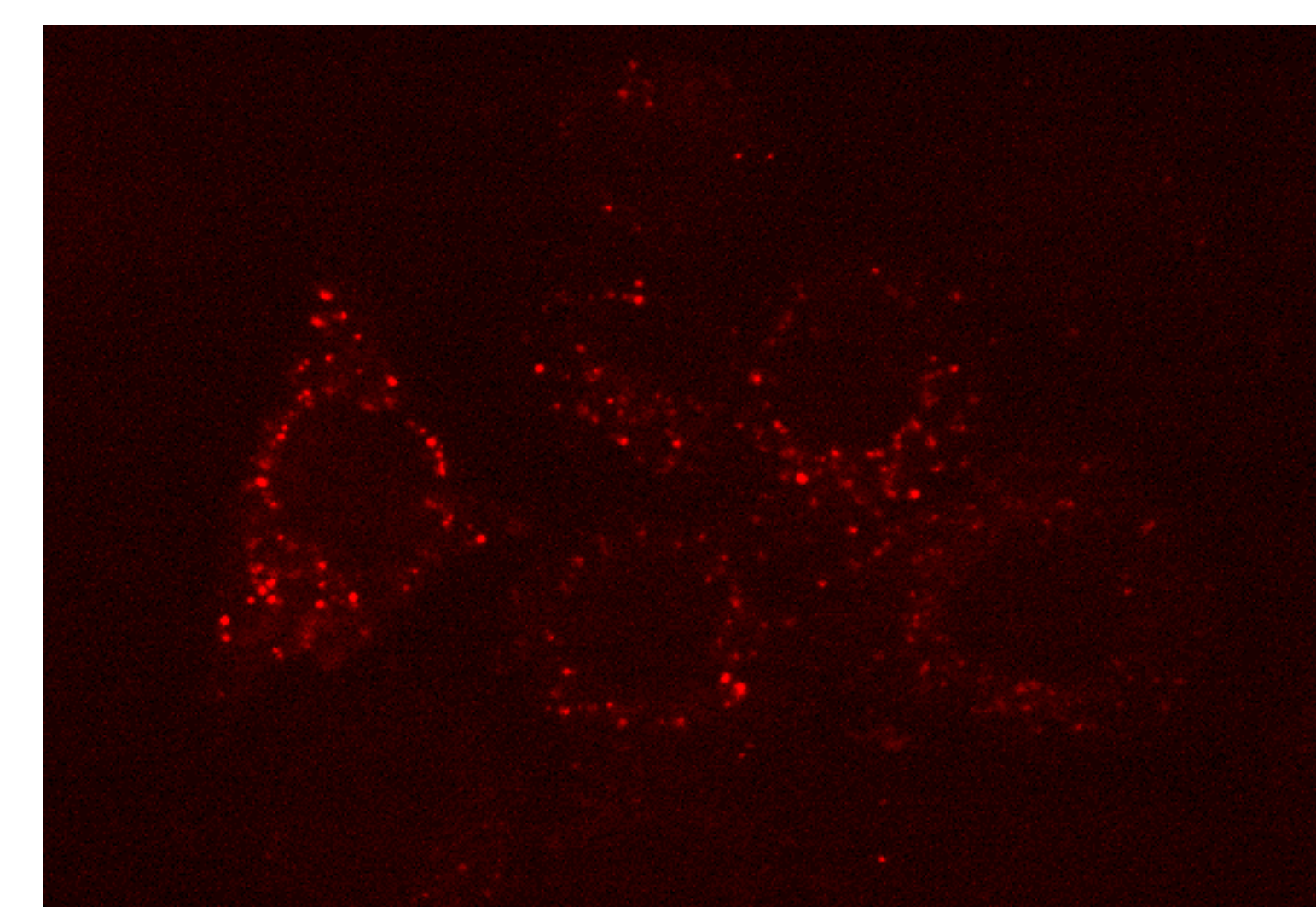


figure 7