

## Éditorial

### Imagerie moléculaire : vers une chimie *in cellulo*

Antoine Triller

Ces dernières années, un changement radical s'est opéré en microscopie optique. En fait, ce mouvement avait été amorcé il y a maintenant plus de 20 ans avec l'avènement de la microscopie confocale, puis, plus récemment, celui de la microscopie multi-photonique. Ces approches permettaient, dans le cadre d'une résolution optique traditionnelle, de découper un spécimen biologique en tranches optiques. Ces progrès ont été à l'origine d'avancées importantes tant du point de vue de la biologie cellulaire que de la physiologie. Nous n'en parlerons pas ici, elles sont bien connues des lecteurs de *médecine/sciences*.

Dans ce numéro, Ignacio Izedin, Xavier Darzacq et Maxime Dahan présentent de nouvelles avancées de la microscopie qui permettent une augmentation considérable de la résolution spatiale [1] (→).

En microscopie optique standard confocale ou multi-photonique, la résolution spatiale, imposée par les lois de l'optique, est au mieux de 200 nm et plus souvent dans les tissus de l'ordre de 500 nm. Il y a donc une véritable *terra incognita* entre ce qui est vu en microscopie optique et ce qui est détecté en microscopie électronique avec une résolution nanométrique. L'exploration de cette nouvelle dimension entre le micron et le nanomètre, en fait jusqu'au niveau moléculaire, conduit à repenser radicalement la compréhension que nous avons de nombreux phénomènes biologiques. Et cela pour deux raisons, une première qui résulte des avancées technologiques et une seconde qui est liée à la biologie elle-même, révélées par ces nouvelles méthodes qui donnent à voir la dynamique des processus biologiques.

Une importante avancée de ces dernières années, due à Stephan Hell, a été la microscopie STED (*stimulated-emission-depletion*) qui a permis de briser la barrière de la résolution spatiale imposée par les lois de l'optique [1]. D'autres stratégies astucieuses, dont l'illumination structurée qui augmente notablement la résolution spatiale, ont également été mises au point [2]. D'autres approches ont aussi été développées, permettant de visualiser les photons provenant d'une source unique, par exemple une protéine fluorescente. Il est alors possible, grâce à des algorithmes simples, de déterminer avec une très grande précision (typiquement 10-15 nm) qui ne dépend que du nombre de photons, les coordonnées de la source. Cela permet d'avoir accès à des informations inédites qui vont au-

delà des images à haute résolution, comme, par exemple, le nombre de molécule ou encore le suivi dynamique de molécules uniques.

Un exemple frappant d'application de ces méthodes nouvelles a été la mise en évidence de la diffusion des récepteurs dans la membrane des neurones. Ce phénomène, initialement vu avec des billes de latex [3], a été finalement démontré en attachant des nanocristaux fluorescents aux récepteurs [4]. Il a alors été établi que pratiquement tous les récepteurs de neurotransmetteurs (glycine, GABA, glutamate, etc.) entrent et sortent des synapses en diffusant dans la membrane plasmique avec des caractéristiques qui leur sont propres. Ces mouvements reflètent la dynamique des assemblages multimoléculaires qu'ils forment avec les protéines d'échafaudage. La mise en évidence de cette dynamique dans un système à l'équilibre donne accès à des informations qu'on ne peut pas obtenir avec d'autres méthodes. En effet, les temps de résidence dans ces assemblages multimoléculaires dépendent des constantes d'association et de dissociation des récepteurs avec les protéines d'échafaudage. La dynamique des assemblages multimoléculaires intracellulaires commence également à être étudiée. Du point de vue expérimental, la situation est plus complexe à l'intérieur de la cellule. Mais, par exemple, l'étude de la dynamique nucléaire des facteurs de transcription a d'ores et déjà permis de mettre en évidence des interactions transitoires de ces derniers avec la chromatine.

On comprend donc intuitivement que la mesure des temps de résidence, la connaissance du nombre de chaque espèce de molécule impliquée, ainsi que l'organisation tridimensionnelle des molécules entre elles vont permettre d'avoir accès à une véritable chimie dans la cellule vivante, une chimie *in cellulo*. Au niveau des synapses, la démonstration que la dynamique moléculaire des assemblages entre récepteurs et protéines d'échafaudage pouvait être régulée physiologiquement [5] a encore renforcé la notion selon laquelle la caractérisation des mouvements des molécules permettait de faire le lien entre la « physiologie » et la « morphologie », en donnant accès à une biochimie dans les cellules vivantes. Cette approche rend nécessaire le développement de nouveaux outils théoriques pour intégrer les effets coopératifs dans les assemblages moléculaires et pour faire le saut d'échelle entre le comportement des molécules individuelles et celui d'assemblées de dizaines,



de centaines, voire de milliers de molécules. De fait, un modèle a été proposé pour rendre compte de la régulation des densités locales de ces molécules dans des états de quasi-équilibre [6]. La formation et la stabilité des domaines synaptiques peuvent alors être modélisées via une instabilité de Turing en termes de réaction-diffusion [7]. Les cinétiques moléculaires doivent maintenant être réconciliées avec les phénomènes biologiques. Cela est rendu possible parce qu'on peut maintenant suivre les molécules une à une, ce qui donne accès aux mécanismes normalement cachés dans les statistiques convoluées du comportement de systèmes à grand nombre de molécules. La microscopie moléculaire en est à ses débuts, mais on perçoit déjà qu'en révélant des aspects quantitatifs inédits, elle va permettre l'étude des assemblages multimoléculaires et de leurs régulations dans les systèmes vivants. Les techniques de molécules uniques permettant d'analyser les rapports entre molécules (FRET : *fluorescence resonance energy transfer*), la combinaison avec des étiquettes fluorescentes indicatrices du pH ou du voltage, par exemple, et, surtout, l'utilisation combinée avec les ressources de l'optogénétique [8] étendent considérablement les possibilités d'étude du vivant à haute résolution spatiale et temporelle. Aujourd'hui, ces techniques sont essentiellement développées sur des cellules en culture. Des tentatives qui ne manqueront pas d'être couronnées de succès visent à implémenter l'imagerie moléculaire dynamique dans les systèmes plus intégrés tels que les cultures organotypiques ou même encore des organes entiers dans l'animal vivant. Nous réalisons alors la puissance de cette approche qui permet un réductionnisme expérimental dans des systèmes intégrés vivants.

**Molecular imaging: towards an *in cellulo* chemistry**

## RÉFÉRENCES

1. Izeddin I, Darzacq X, Dahan M. Microscopies cellulaires à l'échelle de la molécule individuelle. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 547- 52.
2. Gustafsson MG, Shao L, Carlton PM, et al. Three-dimensional resolution doubling in wide-field fluorescence microscopy by structured illumination. *Biophys J* 2008 ; 94 : 4957-70.
3. Meier J, Vannier C, Serge A, et al. Fast and reversible trapping of surface glycine receptors by gephyrin. *Nat Neurosci* 2001 ; 4 : 253-60.
4. Dahan M, Levi S, Luccardini C, et al. Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single-quantum dot tracking. *Science* 2003 ; 302 : 442-5.
5. Triller A, Choquet D. New concepts in synaptic biology derived from single molecule imaging. *Neuron* 2008 ; 59 : 359-74.
6. Sekimoto K, Triller A. Compatibility between itinerant synaptic receptors and stable postsynaptic structure. *Phys Rev E* 2009 ; 9 : 1-13.
7. Haselwandter CA, Calamai L, Kardar M, et al. *Phys Rev E* 2011 (sous presse).
8. Zhang F, Aravanis AM, Adamantidis A, et al. Circuit-breakers: optical technologies for probing neural signals and systems. *Nat Rev Neurosci* 2007 ; 8 : 577-81.

## CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.



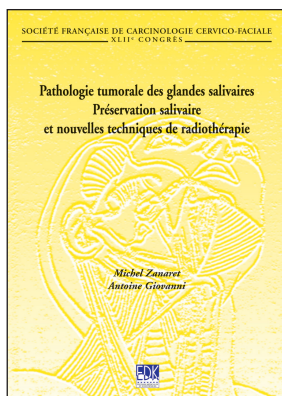
A. Triller

Institut de biologie de L'École normale supérieure (IBENS)  
46, rue d'Ulm 75005 Paris, France  
[antoine.triller@ens.fr](mailto:antoine.triller@ens.fr)

## TIRÉS À PART

A. Triller

## Bon de commande



ISBN : 978-2-8425-4150-7 306 pages

À retourner à EDK, 2, rue Troyon - 92316 Sèvres Cedex  
Tél. : 01 55 64 13 93 - Fax : 01 55 64 13 94 - E-mail : [edk@edk.fr](mailto:edk@edk.fr)

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Pathologie tumorale des glandes salivaires** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**  
en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de **EDK**

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Date d'expiration : | | | | | | | |

Signature :

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |