

Éditorial

De la révolution photonique
Ou comment l'optique non-linéaire
créée de nouvelles approches
en imagerie cellulaire et tissulaire

Didier Marguet, Thierry Galli

> Depuis la plus haute Antiquité, l'homme a tenté d'observer l'infiniment petit comme en atteste la lentille de cristal de roche retrouvée à Ninive en ancienne Assyrie au XII^e siècle avJC. Cependant, il faudra attendre le XVII^e siècle pour voir l'incorporation de lentilles optiques de qualité dans l'instrumentation scientifique. Fruit de nombreuses contributions, la paternité du microscope photonique reste multiple : l'Histoire retiendra les travaux majeurs des pionniers : Marcello Malpighi (1628-1694), Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723) ou Robert Hooke (1635-1703) qui, avec leurs propres instruments, caractérisèrent pour la première fois bactéries et cellules comme entités élémentaires du vivant.

Aujourd'hui, le microscope photonique des laboratoires de recherche a très largement bénéficié de la compréhension et de la maîtrise de la nature physique de la lumière. Les nombreuses améliorations apportées au cours des siècles ont permis d'engendrer par des méthodes contrastantes très diverses des images de grande qualité et de décrire des processus biologiques complexes à l'échelle moléculaire. De fait, l'instrumentation moderne a transformé significativement l'approche expérimentale du biologiste : les yeux des premiers observateurs ont été remplacés par des détecteurs électroniques, la lumière naturelle a été remplacée par des sources laser et l'ordinateur a totalement éradiqué le papier et le crayon. Plus récemment, l'introduction des lasers impulsionsnels comme source de lumière incidente et celle des protéines fluorescentes comme sondes intracellulaires ont largement contribué à renouveler les applications de la microscopie photonique en biologie. Certaines, comme l'excitation multiphotonique des fluorophores, la photo-activation, le transfert d'énergie par résonance de fluorescence, ou le recouvrement de fluorescence après photoblanchiment sont même en passe de devenir routinières.

Alors que la fin du XIX^e et le XX^e siècle ont vu l'avènement de la biologie cellulaire, nous sommes en passe d'aborder une nouvelle révolution en intégrant les principes d'interaction de la lumière avec la matière. Pour l'expérimentaliste, l'enjeu est de taille. En effet, si l'on pouvait voir la dynamique et la fonction des molécules individuelles en temps réel dans l'organisme vivant alors les nouvelles approches possibles abattraient les frontières entre biochimie, biologie cellulaire, biologie du développement et physiologie, révolutionnant la recherche biologique et certainement la médecine aussi. On se rapproche sensiblement de cet objectif. Certaines barrières ont déjà été franchies : les physiciens ont notamment acquis, avec la maîtrise des lasers impulsionsnels, une extraordinaire capacité à ajouter, soustraire, mixer et/ou manipuler les photons pour, en définitive, explorer les propriétés quantiques de la matière. Certaines de ces stratégies offrent déjà la possibilité d'accroître la résolution spatiale, tout en conservant une résolution temporelle suffisante, compte tenu de la sensibilité de détection de signaux spécifiques.

Aussi, nous a-t-il semblé important que *médecine/sciences* présente à ses lecteurs quelques-unes des nouvelles techniques d'imagerie. L'idée de

cette thématique a germé lors de l'atelier organisé par Claude Boccara, Hervé Rignault et Didier Marguet en 2005 à La-Londe-Les-Maures sous l'égide de l'Inserm et de la Société de Biologie Cellulaire de France (SBCF). On a pu y voir une démonstration de la puissance de l'optique non-linéaire pour engendrer de nouveaux contrastes d'image. Pascal Dufour et ses collaborateurs (*page 837*) illustrent comment l'excitation multiphotonique apporte un raffinement dans l'analyse de la dynamique intracellulaire. Il est maintenant également possible d'envisager d'observer sans marquage préalable : c'est le cas avec la production de seconde ou de troisième harmoniques (Delphine Débarre *et al.*, *page 845*) ou bien avec l'utilisation de l'effet Raman stimulé comme origine de contraste (Nadia Djaker *et al.*, *page 853*). Enfin, Arnaud Dubois et Claude Boccara (*page 859*) exposent le principe de la tomographie par cohérence optique fondée sur l'interférométrie en lumière faiblement cohérente et son application en biologie comme technique d'imagerie non invasive des milieux biologiques.

Nous formulons le souhait que cette série d'articles, bien que forcément incomplète, fasse naître de nouveaux intérêts pour promouvoir ces approches dans les laboratoires et donne l'envie de faire de l'imagerie à ceux qui ne la pratiquent pas encore. On peut aussi espérer que montrer et expliquer l'imagerie cellulaire et tissulaire ainsi que ses développements permettra de ne plus entendre des inepties telles que « *et à part l'imagerie cellulaire, vous utilisez d'autres techniques pour démontrer votre modèle ?* », comme récemment rapporté d'un oral de concours de recrutement de chercheur. En effet, le généticien ne rêve-t-il pas de « voir » l'activité des gènes en direct, le biochimiste les protéines interagir et se transformer, le physiologiste l'activité cellulaire dans l'organisme vivant et le médecin explorer les fonctions moléculaires de son patient de manière non invasive? Et si cela était déjà (ou presque) possible avec les nouveaux microscopes ? ♦

Photonic revolution Or how non linear optics fosters new approaches in cell and tissue imaging

D. Marguet, Centre d'Immunologie de Marseille Luminy, Inserm UMR 631, CNRS UMR 6102, Case 906, Parc scientifique de Luminy, 13288 Marseille Cedex 09, France.

marguet@ciml.univ-mrs.fr

T. Galli, Team « Avenir » Inserm, UMR 7592 CNRS P6-P7, Institut Jacques Monod, Tour 43, 2^e étage, 2, place Jussieu, 75005 Paris, France.

thierry@tgalli.net

TIRÉS À PART

T. Galli

Ateliers de formation 2006

Renseignements et inscriptions :
Ateliers de formation Inserm
101, rue de Tolbiac
75654 Paris Cedex 13
Tél. : 33 (0)1 44 23 62 03 — Fax : 33 (0)1 44 23 62 93
ateliers@tolbiac.inserm.fr

Inserm



**Institut national
de la santé et de la recherche médicale**

■ Atelier de formation n° 173

Caractérisation et développement de biomarqueurs dans les fluides biologiques et les extraits tissulaires : de la recherche fondamentale à la recherche clinique

Organisateurs : Jean-Paul Briand (CNRS UPR9021, Strasbourg), Marie-Hélène Metz-Boutigue (Inserm U575, Strasbourg)

Phase I • Le point sur...

1^{er}-2 février 2007 • La Londe-Les-Maures (Toulon)

Objectifs • La caractérisation de biomarqueurs pathologiques, présents dans les extraits tissulaires, fluides et cellules constitue un défi majeur pour le développement de nouveaux outils diagnostics, pronostics et le suivi de traitements thérapeutiques. Ces recherches reposent sur l'analyse d'un protéome dont la complexité résulte du grand nombre de protéines peu abondantes ou transitoirement présentes et de la grande variabilité des modifications post-traductionnelles. L'objectif de cet Atelier est de faire le lien entre les attentes des cliniciens et les avancées technologiques apportées par les scientifiques dans les domaines de la protéomique classique (électrophorèse 2D-spectrométrie de masse), des techniques multiplex, des approches d'immunochimie, des microarrays et de nouvelles techniques biophysiques. La mise en œuvre de ces méthodes innovantes représente un enjeu important dans le cadre de grandes pathologies telles que les cancers, le diabète (auto-immun), les maladies neurodégénératives, autoimmunes, inflammatoires et les chocs septiques. Les moyens d'une évaluation rigoureuse des biomarqueurs retenus, basée sur des procédures standardisées et validées de contrôle de qualité seront aussi présentés.

Public • Chercheurs en biologie, médecins ou pharmaciens, ingénieurs, étudiants, post-doctorants et doctorants du milieu académique et des secteurs pharmaceutique et biotechnologique.
Les conférences seront données en français.

Nombre maximum de participants : 80.

Programme • La première journée portera sur la présentation de méthodes innovantes de détection et d'analyse (CIPHERgen, Multiplex, tissu-array à haut débit, utilisation de molécules cage) ainsi que sur les méthodes de validation et les aspects de bioéthique. La deuxième journée portera sur l'utilisation de biomarqueurs dans plusieurs pathologies très étudiées (les cancers, le diabète (auto-immun), les maladies neurodégénératives, autoimmunes, inflammatoires et les chocs septiques) mais il sera également abordé des pathologies orphelines de marqueurs. Une table ronde sera animée par un industriel et un clinicien. Les participants pourront présenter un poster sur leur sujet de recherche en relation avec le thème de l'Atelier.

Avec la participation de • Christian Boitard (Paris, France), Patrick Calvas (Toulouse, France), Antony Goncalves (Marseille, France), Jocelyne Jacquemier (Marseille, France), Jean-Philippe Jais (Paris, France), Michel Jolivet (Marcy l'Etoile, France), Gérard Lizard (Dijon, France), Philippe Marin (Montpellier, France), Gérard Mathis (Gif-sur-Yvette, France), Marie-Hélène Metz-Boutigue (Strasbourg, France), Pierre Miossec (Lyon, France), Sylviane Muller (Strasbourg, France), Francis Schneider (Strasbourg, France).

Phase II • Maîtrise technique

6-9 mars 2007 • Marseille/Montpellier

13-15 mars 2007 • Strasbourg

19-22 mars 2007 • Dijon

Programme • 1. Immunohistochimie appliquée au diagnostic du cancer (Strasbourg).
2. La technique multiplex (Dijon).
3. La technique Tissu-array (Marseille).
4. Les techniques d'analyse protéomique (Montpellier, Strasbourg).

Sélection • 5-6 personnes sur chaque site seront sélectionnées parmi les participants de la phase I.

Date limite d'inscription : 1^{er} décembre 2006