

Proposition de stage/thèse :

Optique adaptative et super localisation en microscopie non linéaire pour le suivi du transport intraneuronal à l'échelle du moteur moléculaire *in vivo*

Les moteurs moléculaires sont des éléments clés du transport de molécules dans les cellules, et en particulier dans les longues branches des neurones. Ce transport est perturbé à des stades très précoces de troubles neurodégénératifs tels que les maladies de Parkinson et d'Alzheimer. Le LuMin (ENS Paris-Saclay) a déjà montré la possibilité d'en étudier plusieurs paramètres (vitesse, fréquence des arrêts, etc.) dans des cultures de neurones en utilisant la fluorescence de centres NV de nanocristaux (NC) de diamant. Ces derniers sont internalisés dans les cellules par endocytose, et la vésicule qui les contient est ensuite prise en charge par des moteurs moléculaires. Le NC sert alors de sonde lumineuse à leur déplacement [1,2].

Pour donner un ordre de grandeur, un moteur moléculaire fait typiquement un pas de 10nm en 10ms environ. Nous avons récemment très fortement augmenté la précision spatiotemporelle de ces mesures en développant un nouveau microscope à deux photons (le signal n'est plus de la fluorescence mais est issu de la génération de second harmonique par les NC). Ce microscope permet, à l'aide d'un dispositif d'holographie numérique rapide, de localiser des NC de BaTiO₃ (diamètre ~130nm) en régime de super-localisation à des précisions spatiales d'environ 5nm, et temporelles de 2 à 5 ms dans des cultures de cellules sur lamelle [3].

L'objectif de ce projet est d'atteindre les mêmes performances en profondeur dans les tissus biologiques pour l'étude du transport intraneuronal *in vivo* dans des modèles animaux comme le zebrafish, en collaboration avec Christelle Langevin (INRAE). Cela sera possible grâce à une excitation infrarouge qui permet d'accéder à une fenêtre de transparence des tissus biologiques et à des profondeurs de plusieurs centaines de micromètres. Cependant les tissus, dont l'indice optique n'est pas homogène, induisent des aberrations qui altèrent le profil du faisceau d'excitation au cours du suivi d'un même NC et dégradent par conséquent la précision de localisation de celui-ci. Afin de maintenir la précision de mesure de la trajectoire du NC, ce qui est fondamental à l'échelle de la dynamique d'un moteur moléculaire unique, il est donc nécessaire de corriger les aberrations au cours du temps pour retrouver un faisceau d'excitation limité par la diffraction. Cela sera réalisé en utilisant une boucle d'optique adaptative (OA) spécialement dimensionnée pour la microscopie à deux photons *in vivo* et dont les performances ont déjà été démontrées à l'ISMO [4, 5].

Ce stage et la thèse qui suivra contiennent une part importante de travail expérimental et d'analyse, qui permettront d'étudier les paramètres de transport intracellulaire dans des structures neuronales en 3 dimensions et en profondeur *in vivo* avec des résolutions spatiotemporelles encore non atteintes dans ce contexte.

- [1] S. Haziza et al., *Nat Nanotechnol*, **12**, 322–328 (2017)
- [2] Q.-L. Chou et al., *eNeuro*, **9**, ENEURO.0227-21.2022 (2022)
- [3] F. Semmer et al., *ACS Photonics* (2023)
- [4] S. Imperato et al., *Opt Express* (2022)
- [5] A. Hubert et al., *J. Biomed. Opt.* (2023)

Contacts :

Alexandra Fragola (ISMO), alexandra.fragola@universite-paris-saclay.fr

François Marquier (LuMin), francois.marquier@ens-paris-saclay.fr

Financement : projet ANR (BADASS) acquis