



HAL
open science

Sondes luminescentes lanthanidiques pour le suivi in situ de l'ATP extracellulaire et des ROS lors de la neuroinflammation

F. Collin, Chantal Galaup, C Fonta, Robert Mauricot, Stéphane Balayssac,
François Couderc, Laure Gibot, Véronique Gilard, Nadine Leygue, Lionel G
Nowak, et al.

► To cite this version:

F. Collin, Chantal Galaup, C Fonta, Robert Mauricot, Stéphane Balayssac, et al.. Sondes luminescentes lanthanidiques pour le suivi in situ de l'ATP extracellulaire et des ROS lors de la neuroinflammation. CNRS, MITI Métallo Mix, Jan 2022, Paris, France. hal-04788480

HAL Id: hal-04788480

<https://hal.science/hal-04788480v1>

Submitted on 18 Nov 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ILLUMINE_RATP

Sondes luminescentes lanthanidiques pour le suivi *in situ* de l'ATP extracellulaire et des ROS lors de la neuroinflammation

F. Collin¹, C. Galaup², C. Fonta³, R. Mauricot⁴, S. Balayssac¹, F. Couderc¹, L. Gibot¹, V. Gilard¹, N. Leygue², L. G. Nowak³, L. Perquis¹

projet

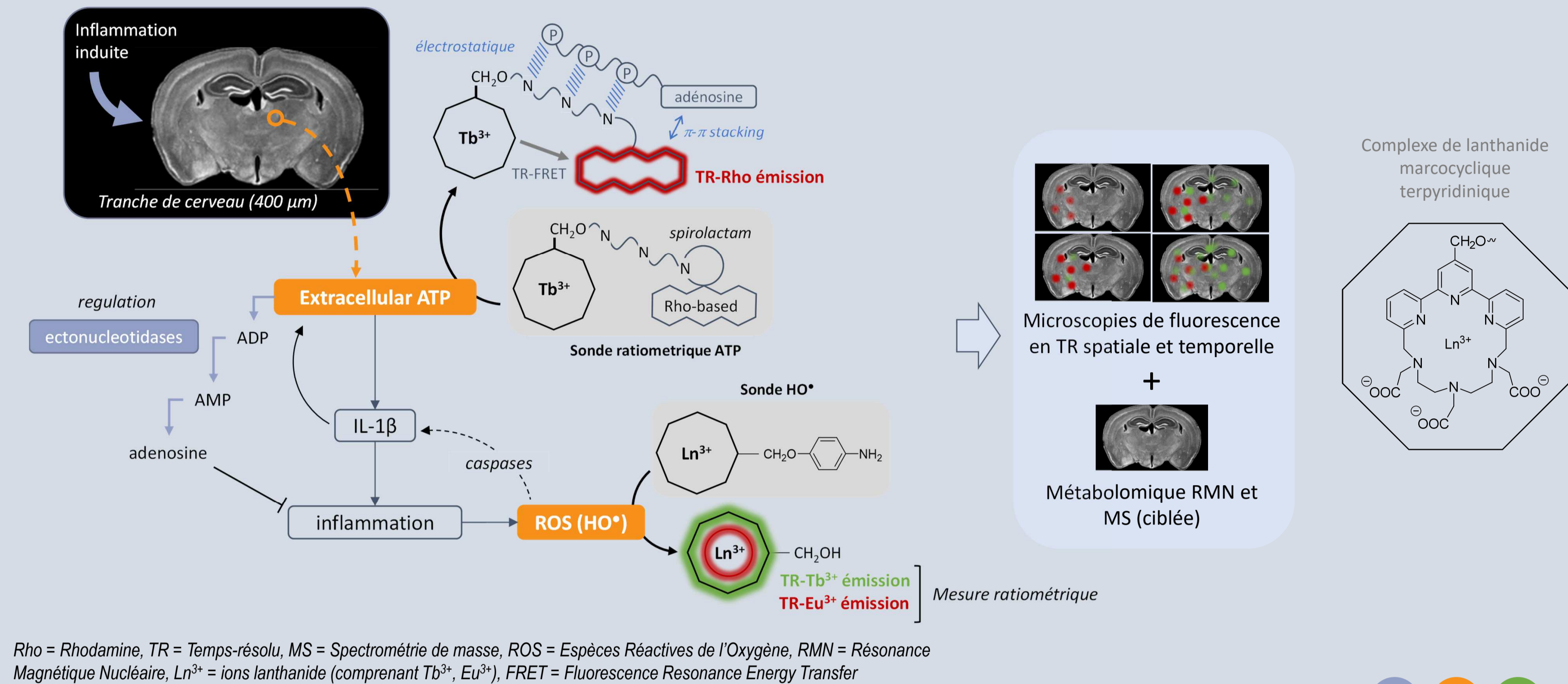
Suivre l'évolution *in situ* des niveaux d'ATP extracellulaire et de HO[•] intracellulaire sur (i) modèles cellulaires et (ii) tranches de cerveau, en condition d'inflammation.

Développement de deux sondes luminescentes organométalliques.

Caractérisation *in vitro* (pH physiologique, LCR artificiel, milieu cellulaire).

Utilisation en imagerie de fluorescence (preuve de concept) en milieu cellulaire et tissulaire, après induction d'une inflammation.

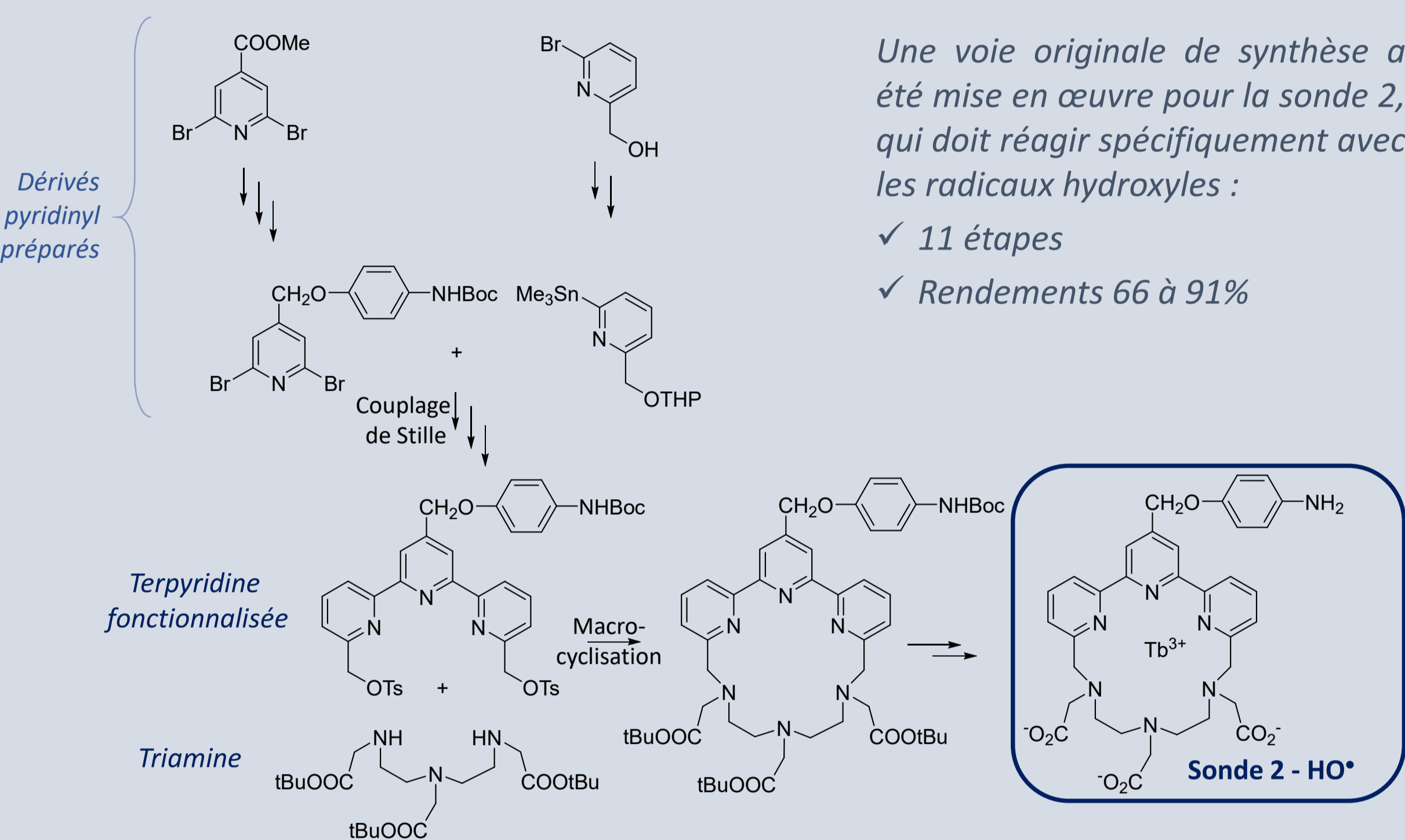
Etude des perturbations métaboliques pour relier inflammation et stress oxydant.



Rho = Rhodamine, TR = Temps-résolu, MS = Spectrométrie de masse, ROS = Espèces Réactives de l'Oxygène, RMN = Résonance Magnétique Nucléaire, Ln³⁺ = ions lanthanide (comportant Tb³⁺, Eu³⁺), FRET = Fluorescence Resonance Energy Transfer

résultats

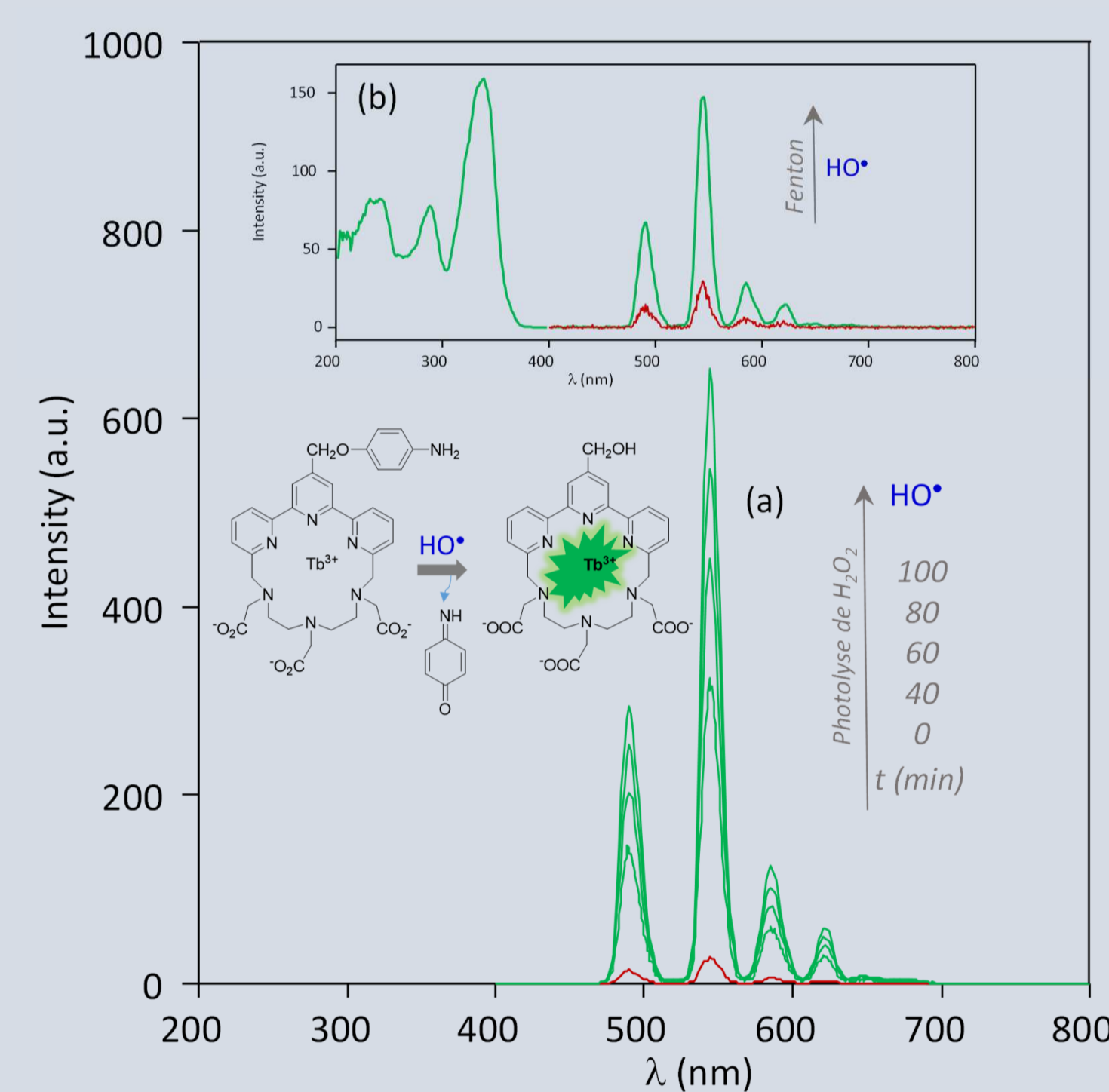
Synthèse de la sonde HO[•]



Spectroscopie de fluorescence

La sonde 2 réagit avec les radicaux HO[•] de façon dose dépendante, à pH physiologique :

- ✓ Recouvrement des propriétés de luminescence
- ✓ Spectre caractéristique de l'émission du terbium



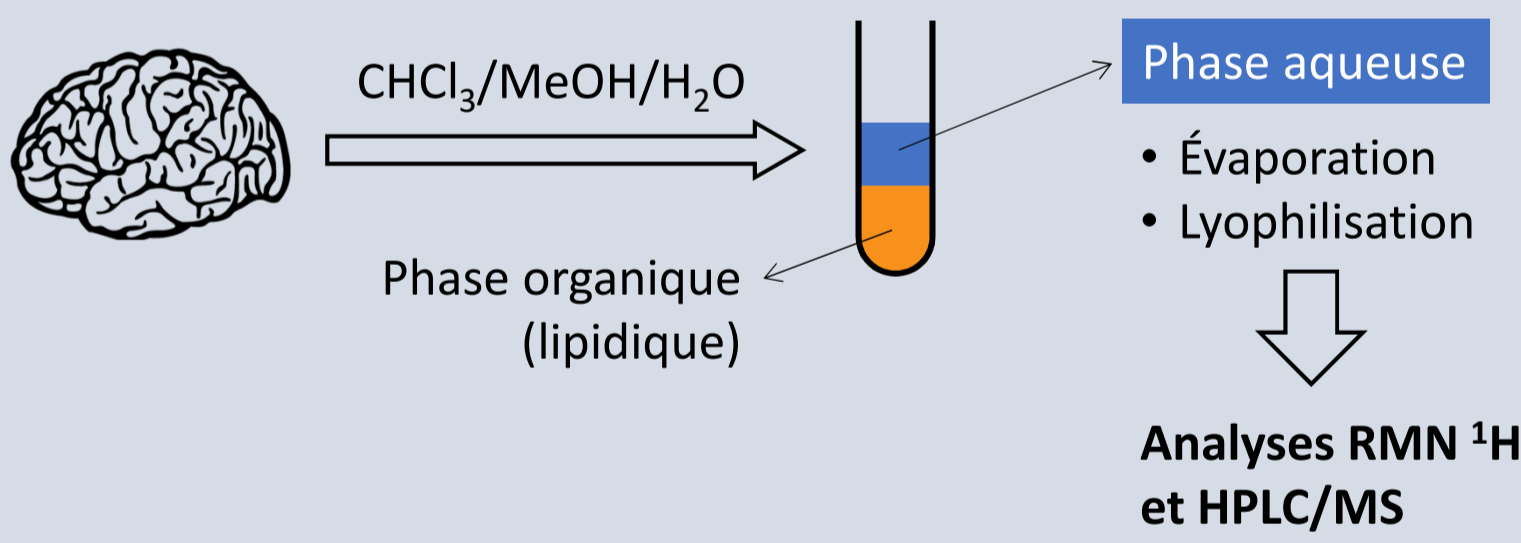
Tranches de cerveau

Des premières analyses métabolomiques ont été réalisées par RMN et spectrométrie de masse sur 6 cerveaux (36 tranches IL-1β et 36 tranches témoins)

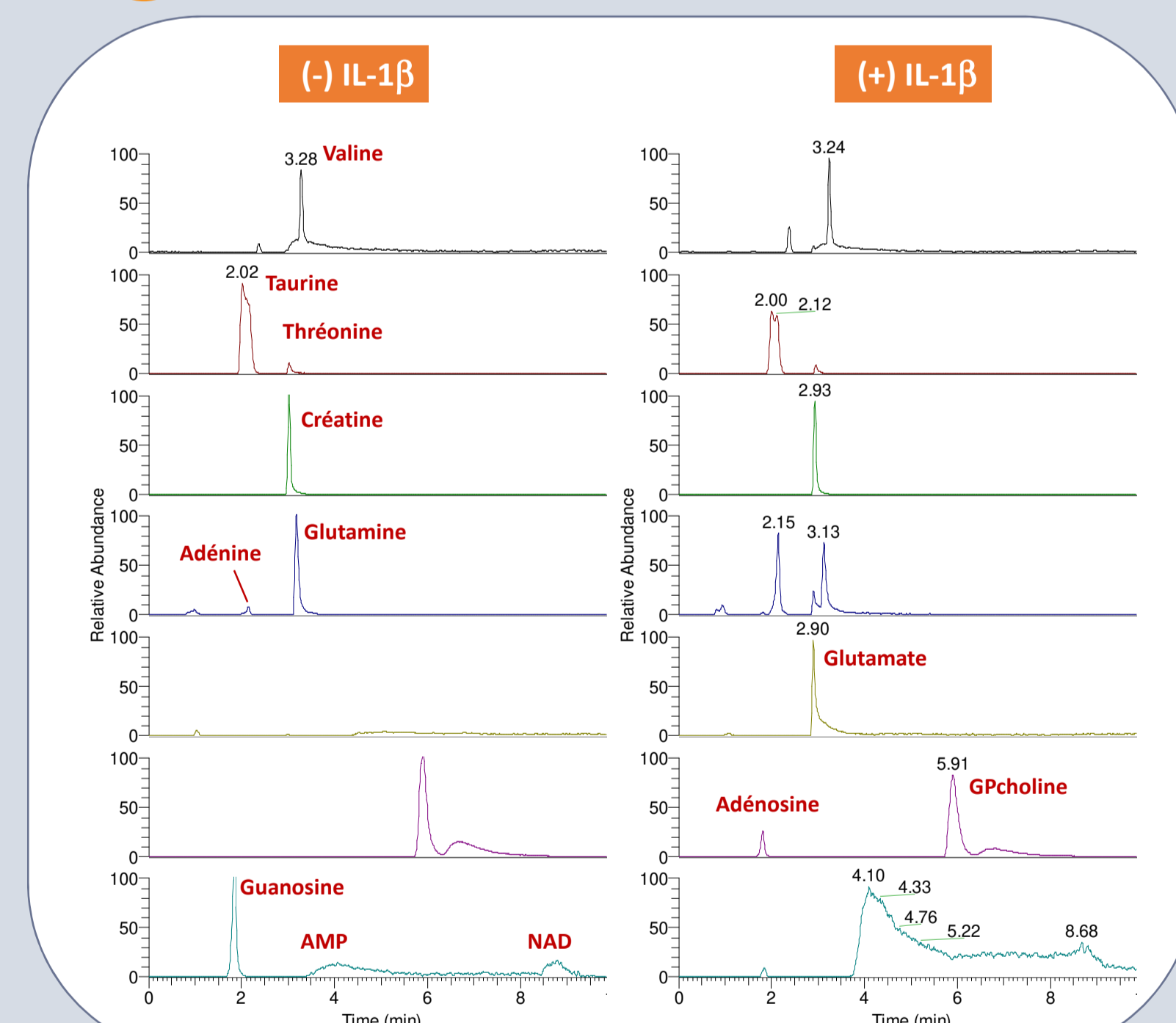


Dispositif d'incubation des tranches de cerveau de souris adultes (400 μm), tranches contrôles (vert) et en présence d'IL-1β (bleu).

Extraction des métabolites

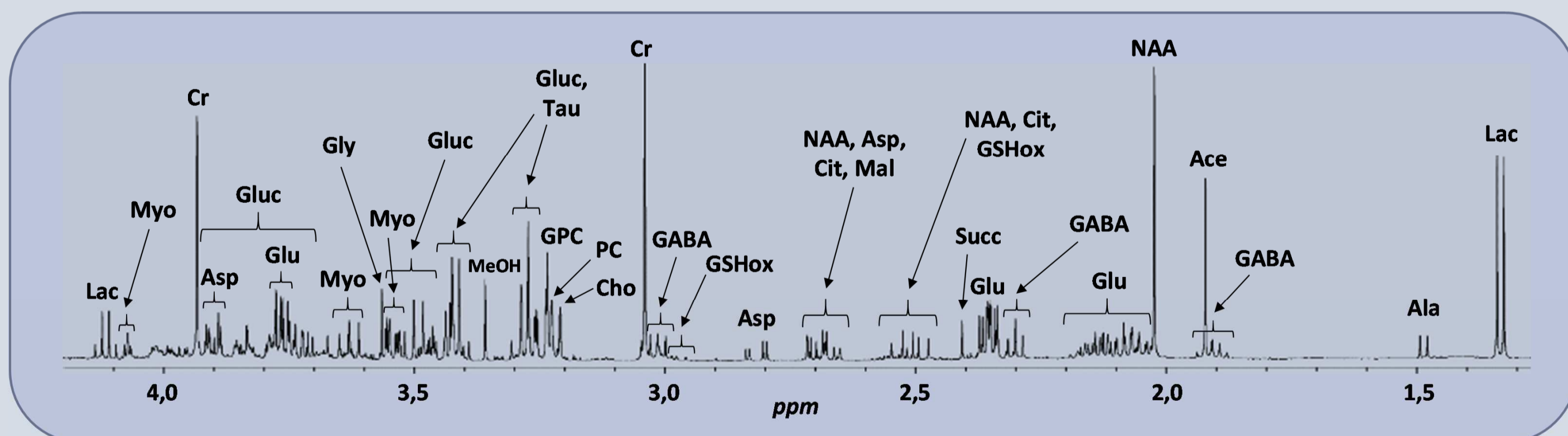


HPLC/MS



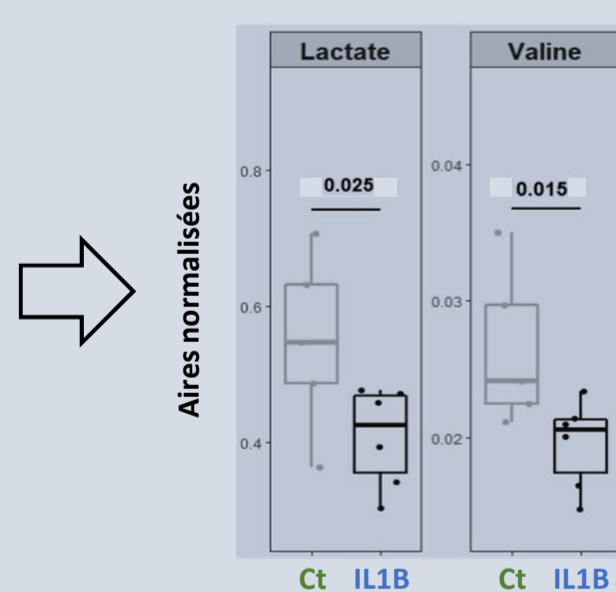
Chromatogrammes traces @5ppm, HPLC/ESI-HRMS (Orbitrap), sur des tranches de cerveau ayant subi ou non un traitement pro-inflammatoire par IL-1β ; recherche ciblée sur les métabolites précédemment identifiés par RMN.

RMN



Région (1,3-4,2 ppm) d'un spectre RMN ¹H enregistré sur un spectromètre Bruker 500 à 25°C de la phase aqueuse d'un échantillon contrôlé

Ace : acétate, Ala : alanine, Asp : aspartate, Cho : choline, Cit : citrate, Cr : créatine, GABA : acide γ-aminobutyrique, Glu : glutamate, Gluc : glucose, Gly : glycine, GPC : glycérophosphocholine, GSHox : glutathion oxydé, Lac : lactate, Mal : malate, MeOH : méthanol résiduel, Myo : myo-inositol, NAA : acide N-acétylaspartique, PC : phosphocholine, Succ : succinate, Tau : taurine



Boxplots de métabolites discriminants (lactate, valine) après analyses statistiques ; les valeurs au-dessus des boxplots représentent la valeur de p du test de Mann-Whitney.

perspectives

- Synthèse de la sonde ATP.
- Etude de la réponse *in vitro* des sondes (eau pH physio, LCR artificiel et milieu cellulaire) et de leur spécificité respective : ADP, AMP vs. ATP et O₂^{•-}, ¹O₂, ONOO⁻ vs. HO[•].
- Tests du système d'imagerie de fluorescence résolue dans le temps avec les sondes 1 et 2 et adaptation du même système pour l'étude des tranches de cerveau.

- Optimisation du modèle d'inflammation.
- Optimisation des conditions d'analyse par RMN et MS pour l'obtention des profils métaboliques des tranches de cerveau avant/après inflammation ; analyses chimiométriques et identification de métabolites discriminants (le cas échéant).

¹Laboratoire des Interactions Moléculaires et Réactivité Chimique et Photochimique (IMRCP), CNRS UMR 5623, Université Paul Sabatier – Toulouse III, ²Laboratoire de Synthèse et Physico-Chimie de Molécules d'Intérêt Biologique, CNRS UMR 5068, Université Paul Sabatier – Toulouse III, ³Centre de Recherches Cerveau et Cognition (CerCo), CNRS UMR 5549, Université Paul Sabatier – Toulouse III, ⁴Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales (CEMES), CNRS UPR 8011, Toulouse.

