

# *NanoSIMS et Biologie*

*Jean-Luc Guerquin-Kern*

*Ting-Di Wu*

*& Alain Croisy*

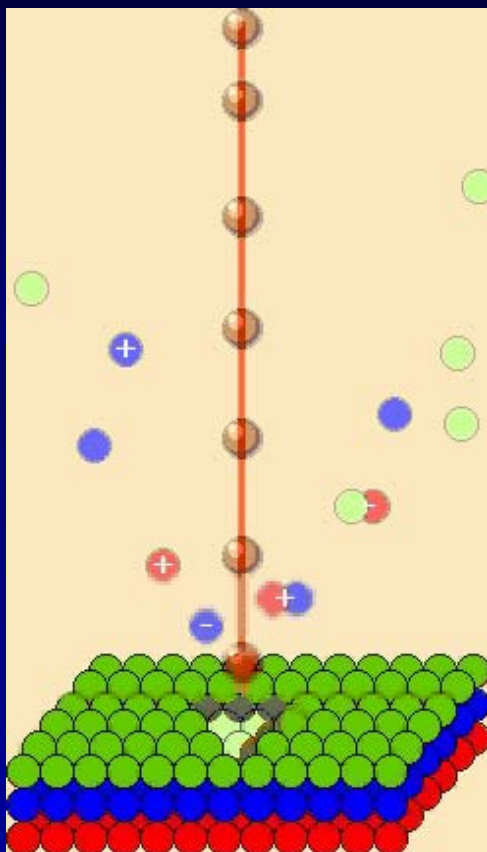
*INSERM U 759 Imagerie Intégrative*

*Institut Curie Recherche*

*Laboratoire de Microscopie ionique*

*Centre Universitaire d'Orsay*

# Principe



Sous l'impact d'un faisceau d'ions primaires (15 keV), les liaisons chimiques des molécules à la surface de l'échantillon sont rompues et il y a libération d'atomes et de fragments neutres ou ionisés. Les ions désorbés, qui caractérisent la zone analysée, peuvent être extraits et collectés.

Le faisceau d'ions secondaires ainsi formé est dirigé vers l'entrée d'un spectromètre de masse. Il est alors possible d'obtenir des images précises de la distribution d'un ion donné à la surface de l'échantillon.

- **SIMS dynamique**

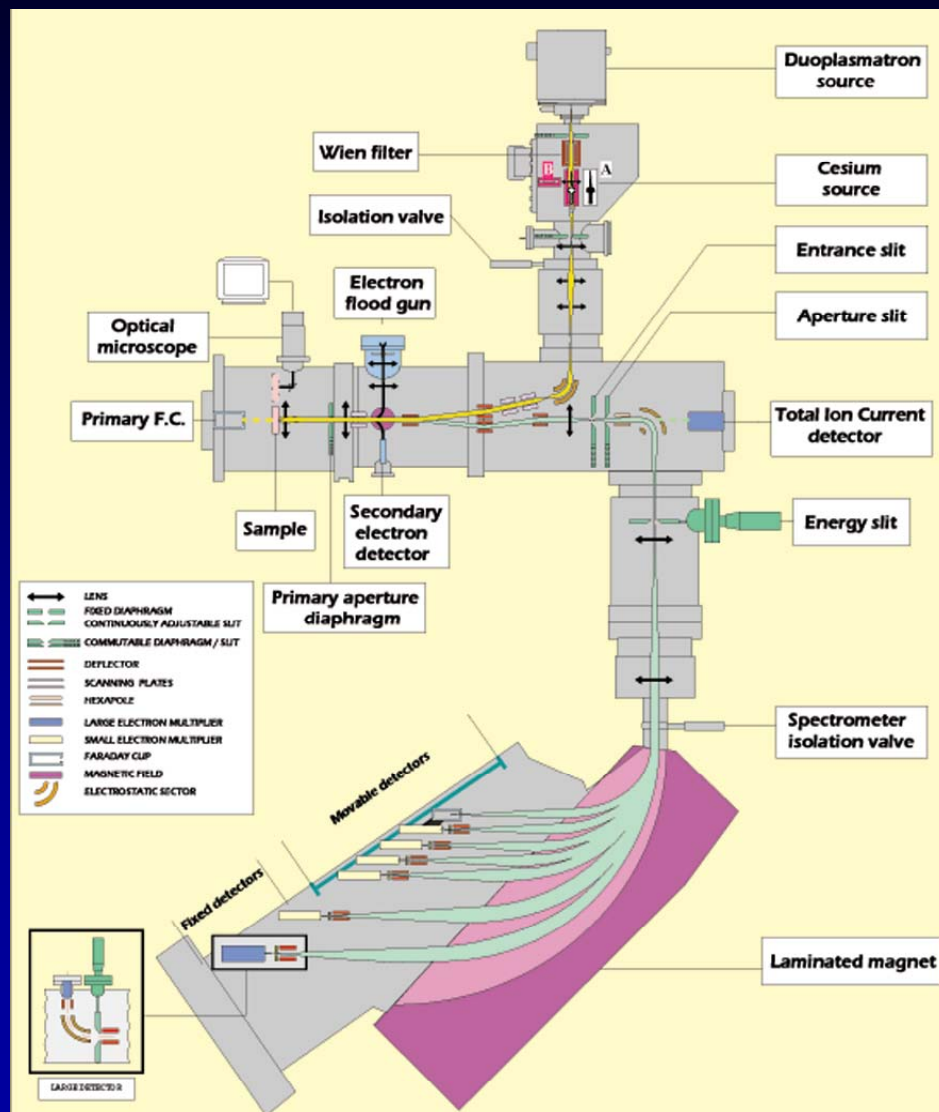
- *bombardement primaire à haute dose*
- *fragmentation importante (multiplication données et haute résolution mais perte d'info moléculaire)*
- *imagerie "d'éléments chimiques simples"*
- *spectromètre magnétique*

- **SIMS statique**

- *faisceau primaire faible dose ( $<10^{13}$  ions/cm<sup>2</sup>)*
- *fragmentation limitée*
- *imagerie « moléculaire »*
- *quantité « moléculaire » limitée (contrainte sur volume analysé)*
- *faisceau pulsé et analyse TOF*

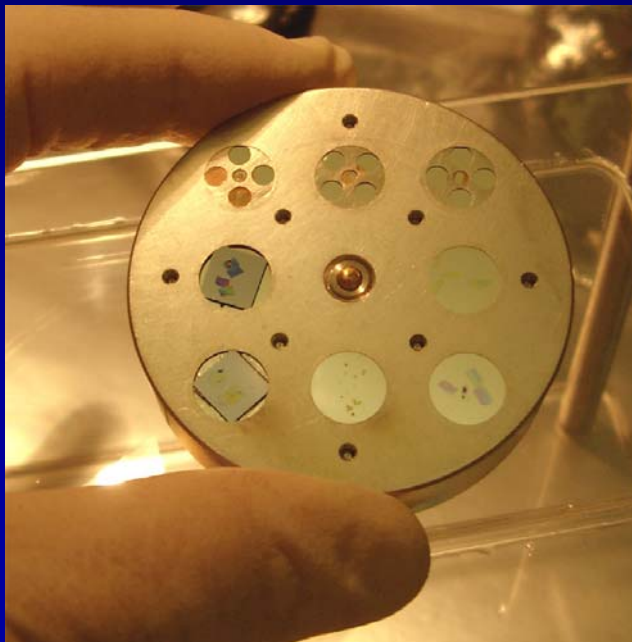
# Caractéristiques du NanoSims 50

- **excellente transmission des ions secondaires (80% avec M/ΔM de 5000)**
- **détection en parallèle de cinq images**
- **haute résolution latérale (50nm en Cs)**



# Caractéristiques des échantillons

- ✓ Les échantillons sont analysés **sous vide** à température ambiante
- ✓ Ils doivent être **fixés** et **déshydratés** comme pour le TEM
- ✓ Les échantillons doivent être **aussi plats que possible**.  
L'utilisation de sections minces diminue les phénomènes de charge sous le bombardement des ions primaires.



# *Applications biologiques*

---

*Analyses élémentaires*

*Pharmacologie*

*Analyses isotopiques*

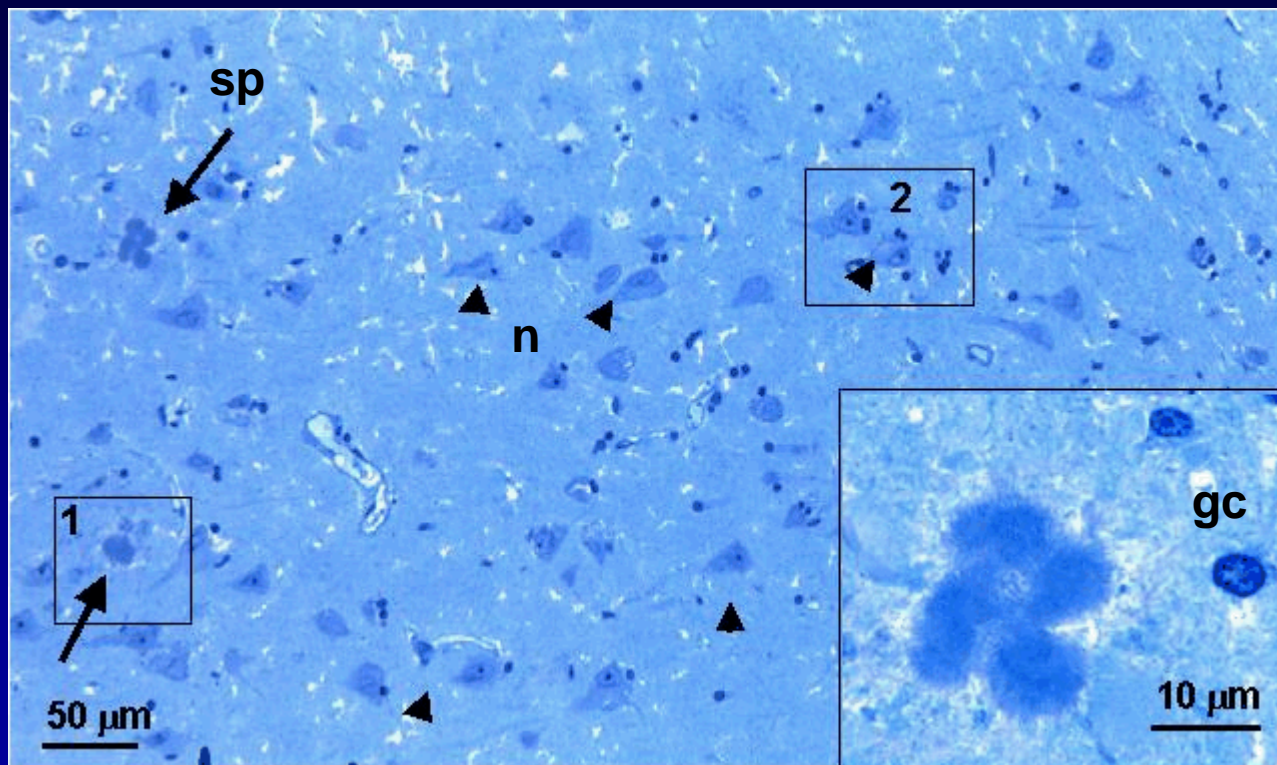
# *Analyse élémentaire*

---

Neuropathologie

Biominéralisation

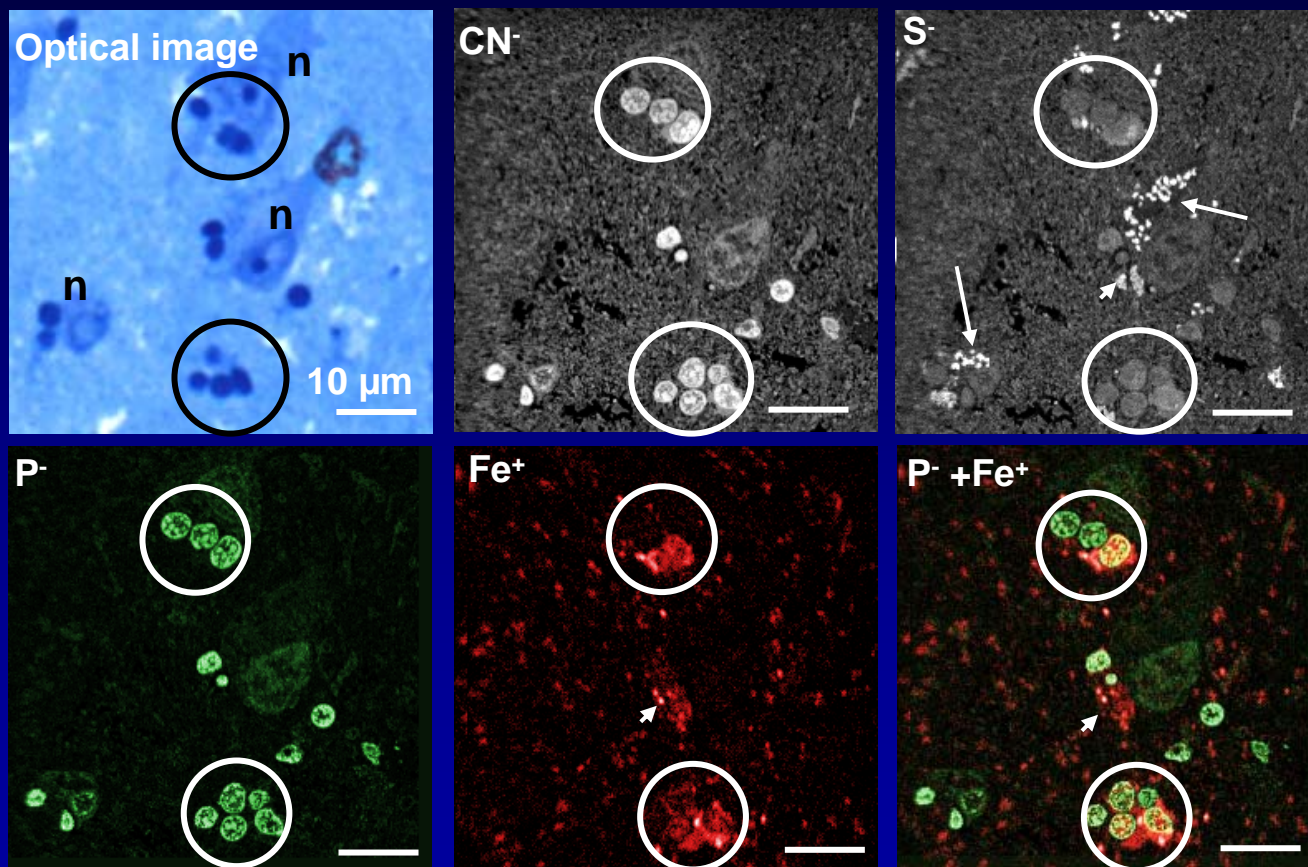
# Maladie d'Alzheimer région de l'hippocampe



(collab. C. Quintana, IM Madrid)

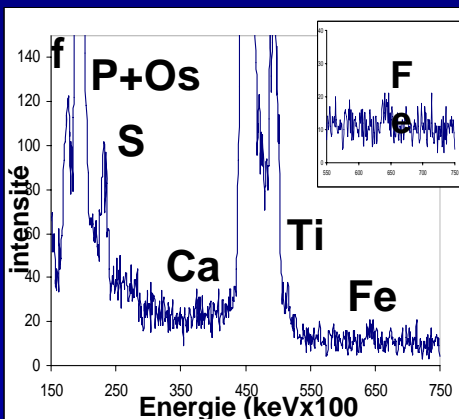
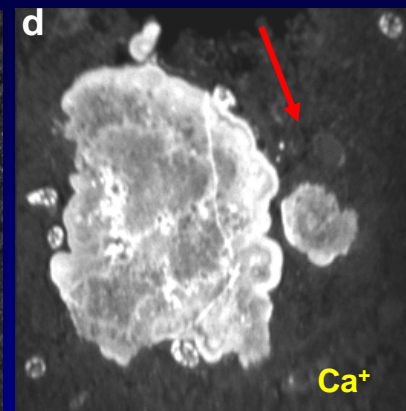
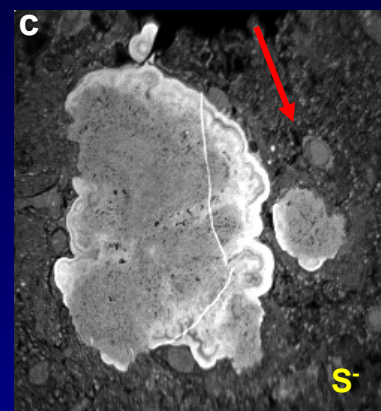
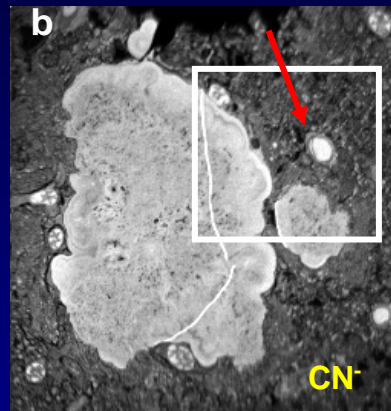
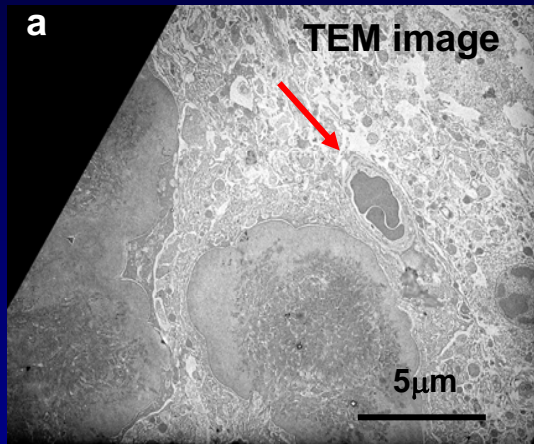
# Maladie d'Alzheimer

## Analyse de régions de l'hippocampe

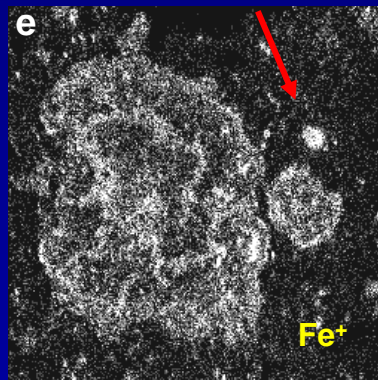


C. Quintana et al, *J. Struct. Biol.*, 153 (2006), 42-54

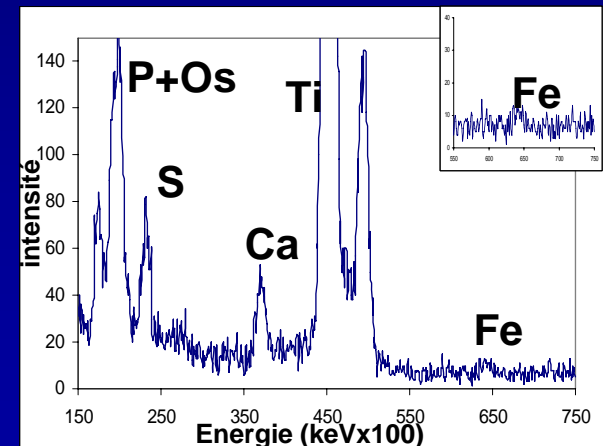
# Souris transgénique APP/PS1 dépôts amyloïdes



érythrocyte



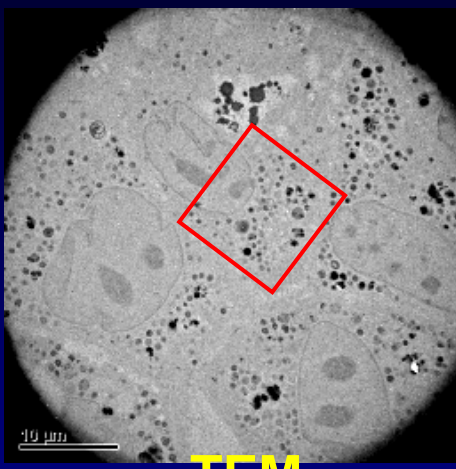
(champ de 50 μm x 50 μm)



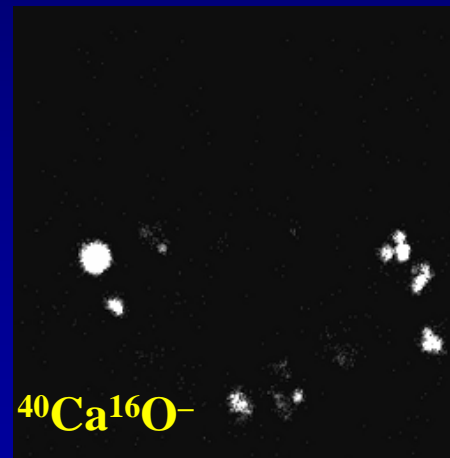
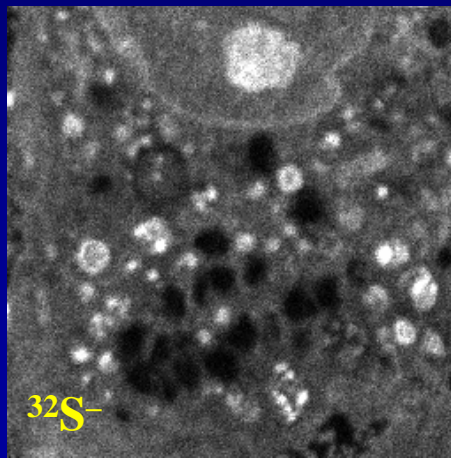
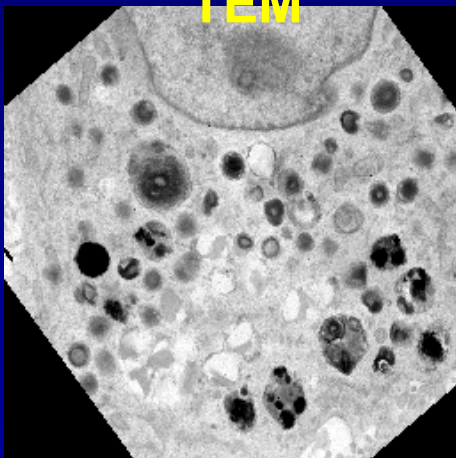
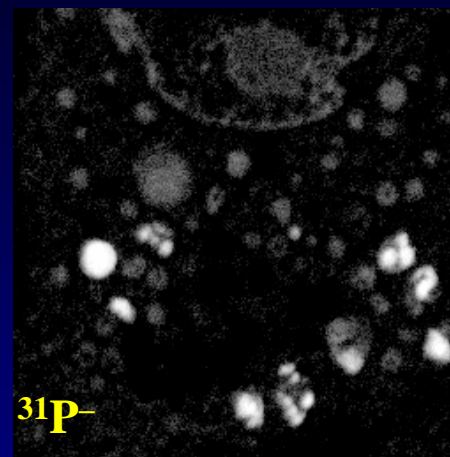
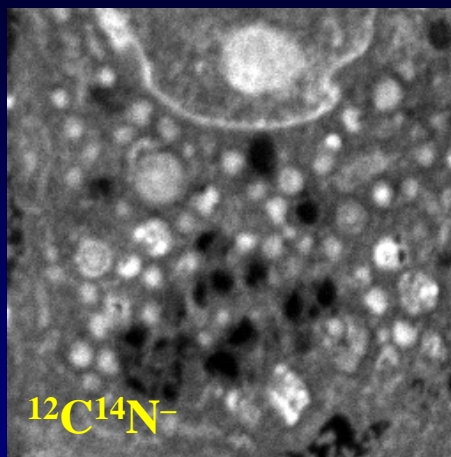
dépôt amyloïde

# Biominéralisation intracellulaire

## Etude sur cellules MDCK



TEM



(champ de 10 μm x 10 μm).

*(collab H Vali McGill University Montreal)*

Réalignement des images TEM et  
SIMS par ImageJ et Turboreg  
([bigwww.epfl.ch/thevenaz/turboreg/](http://bigwww.epfl.ch/thevenaz/turboreg/))

# Pharmacologie

---

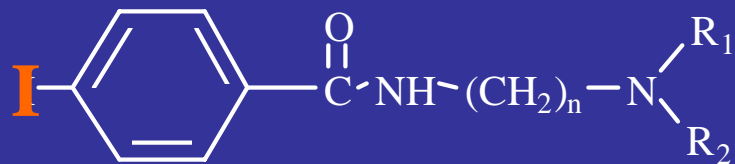
Ciblage de mélanocytes par IBZA

Vectorisation par STxB

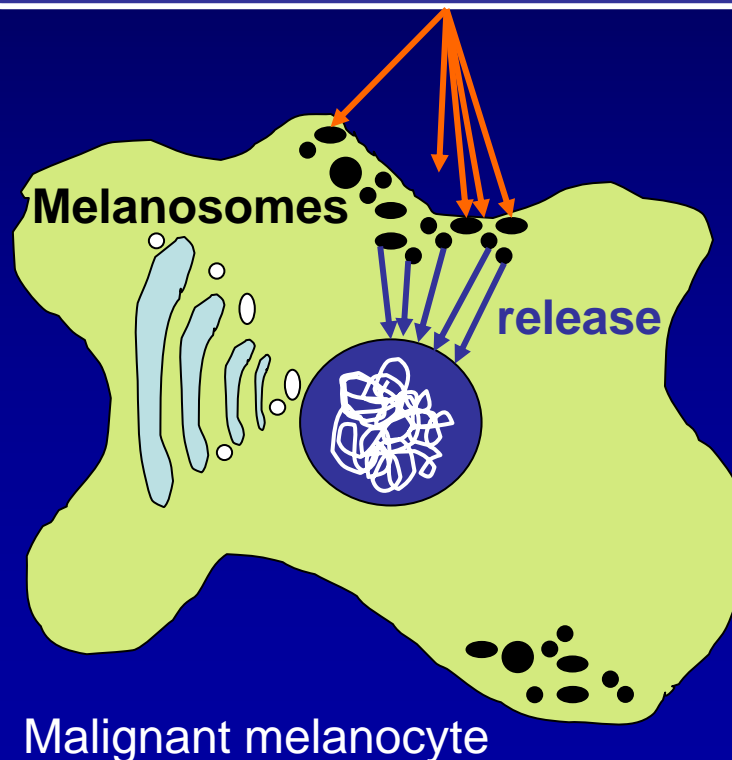
# Pharmacologie

## Ciblage de IBZA pour diagnostic et traitement de mélanome

Collab. INSERM 484 (Dir JC Madelmont), Clermont-Ferrand

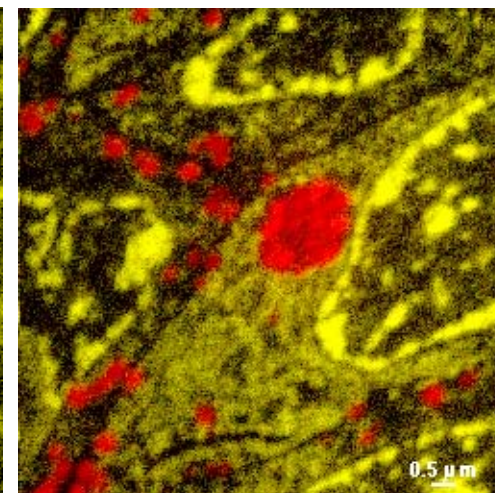
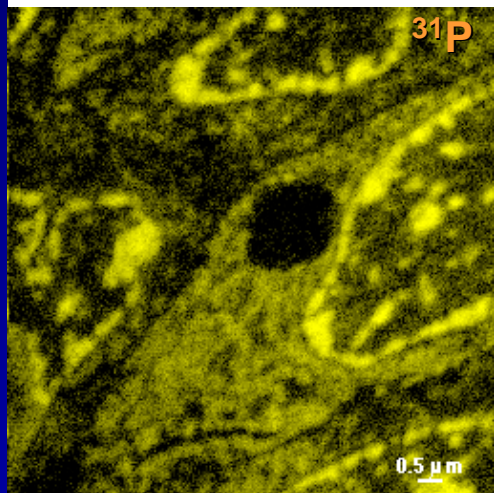
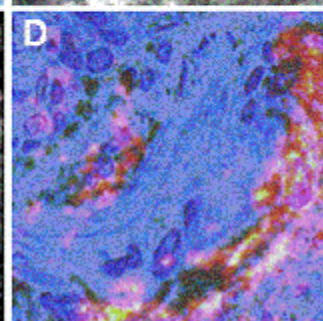
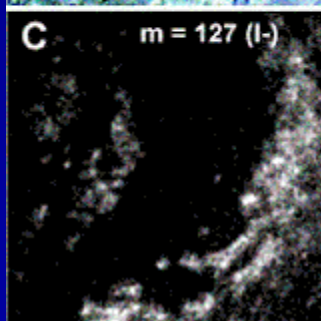
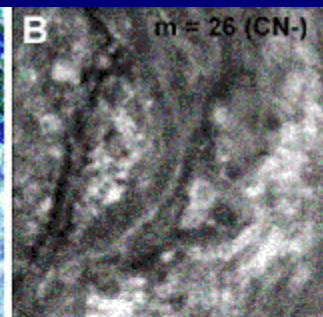
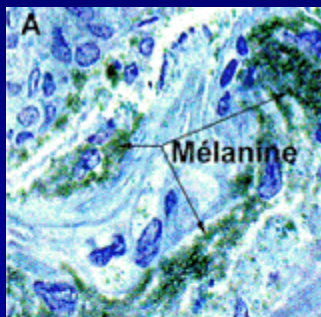
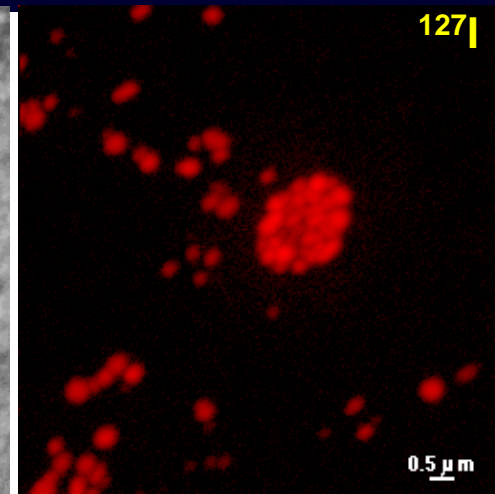
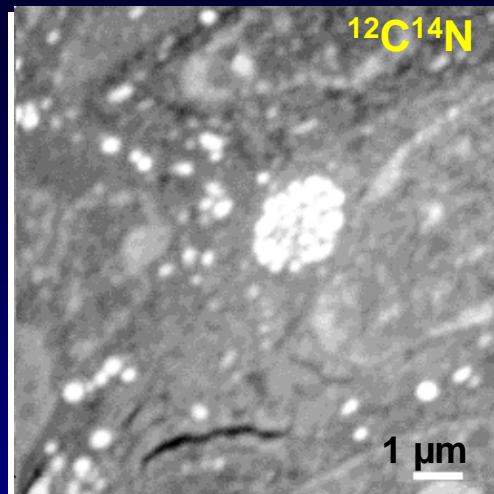
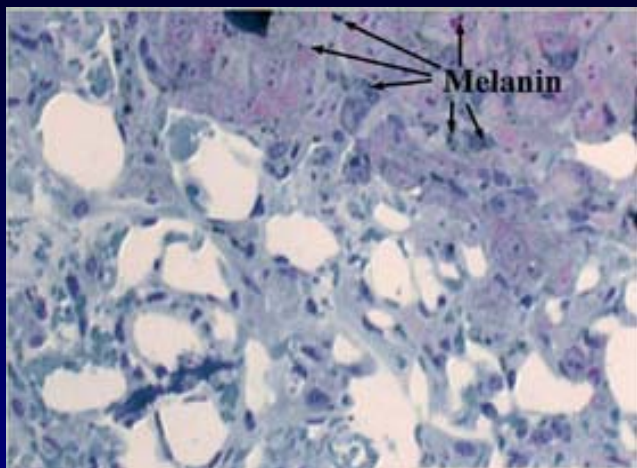


N-2-Diethylaminoethyl-4-iodobenzamide



# Pharmacologie

## Ciblage de IBZA pour diagnostic et traitement de mélanome

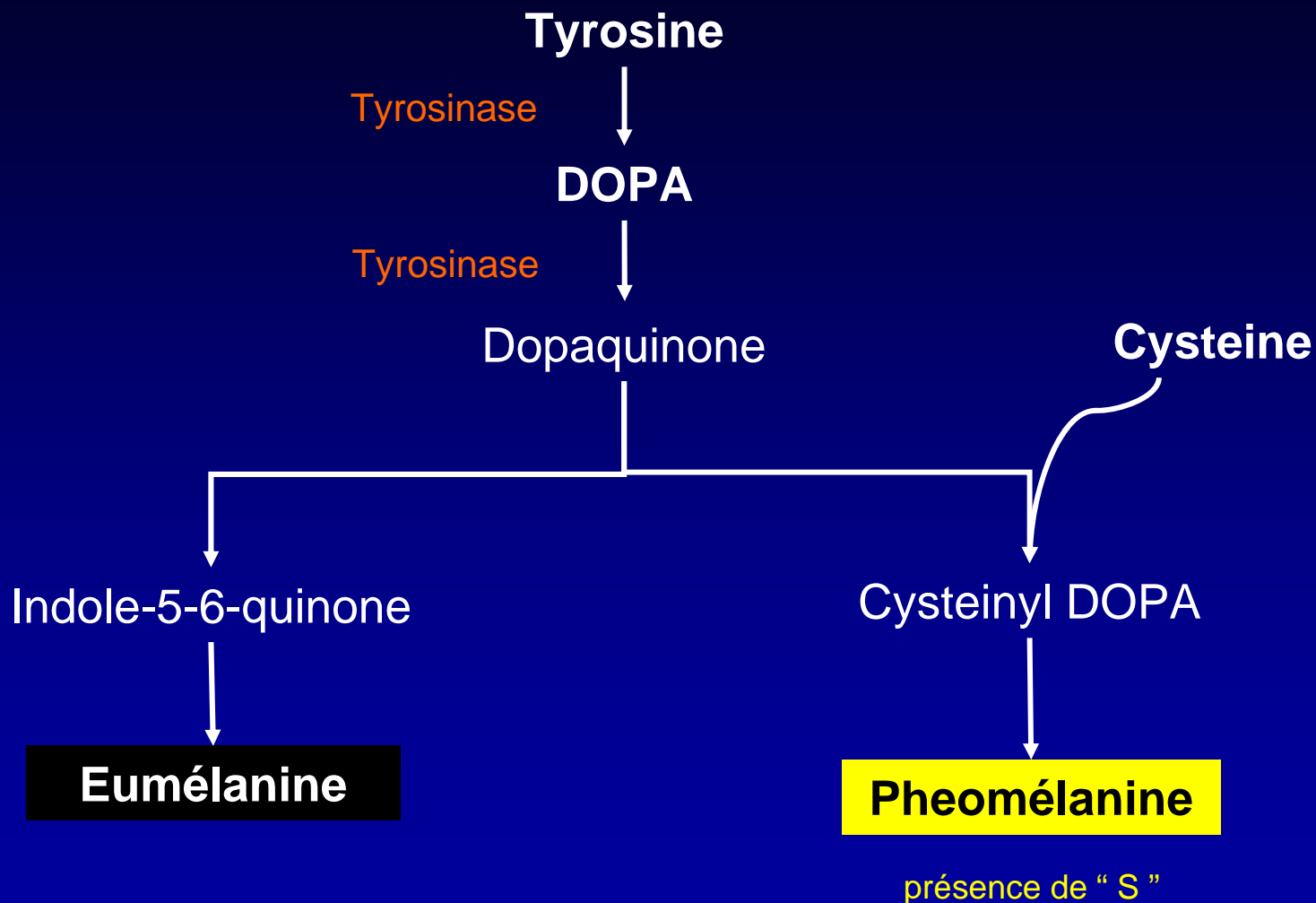


NanoSIMS

J-L Guerquin-Kern et al, Biomed Eng Online, 2004

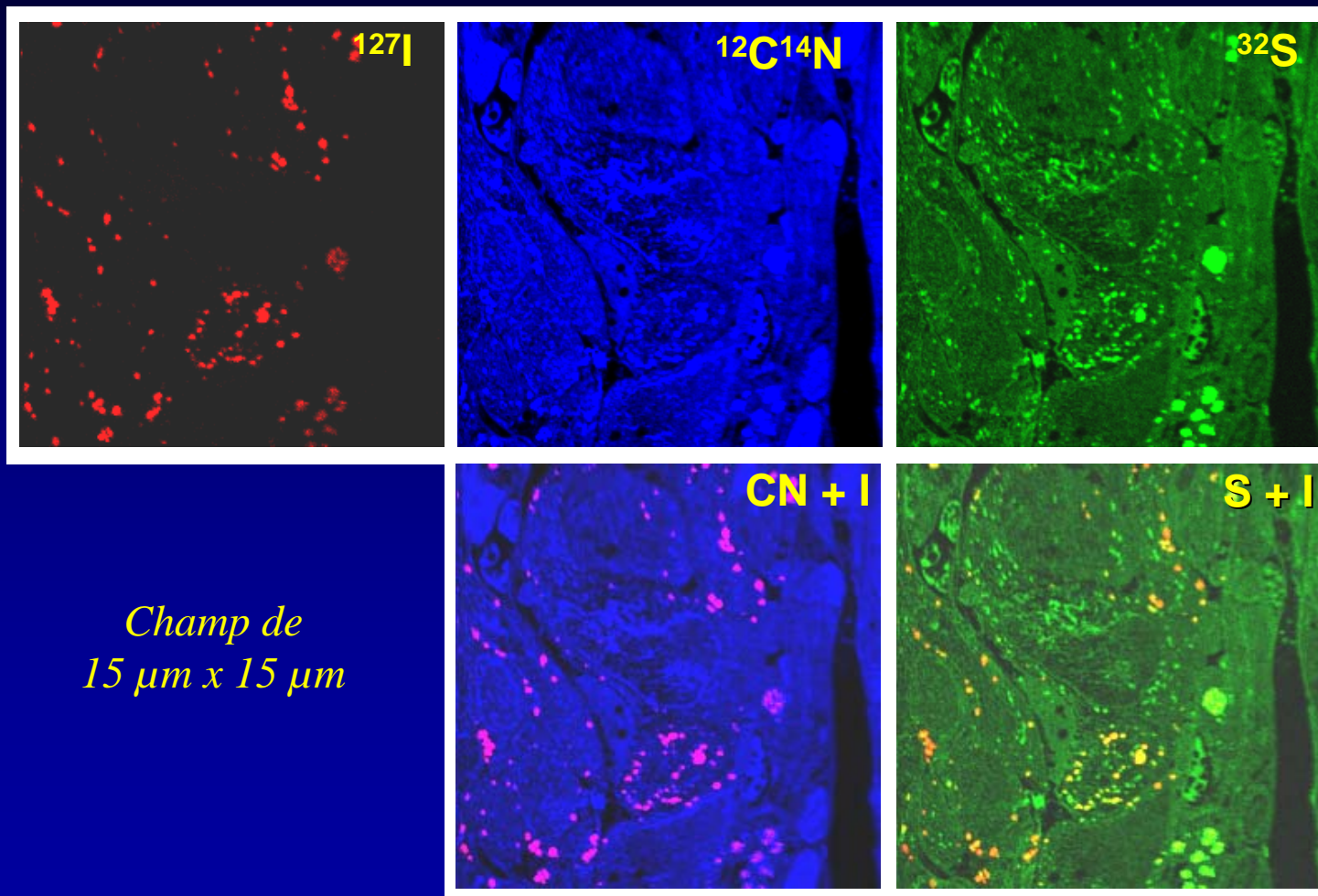
IMS-6f

## Ciblage de IBZA entre eumélanine et phéomélanine



# Pharmacologie

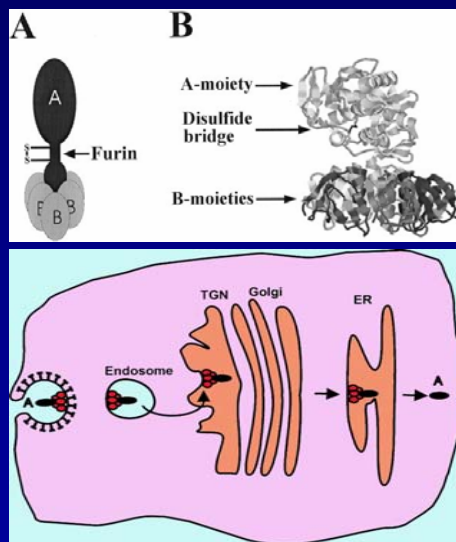
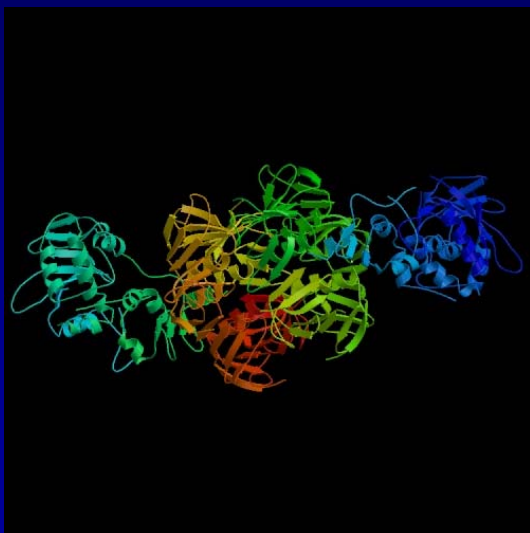
## Ciblage de IBZA entre eumelanine et phéomélanine



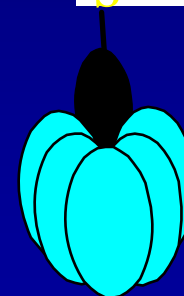
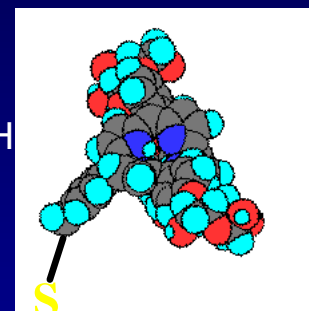
(Collab. INSERM 484, Clermont-Ferrand)

# Localisation d'un vecteur peptidique marqué au $^{15}\text{N}$

Ciblage PDT avec B-unit toxine Shiga

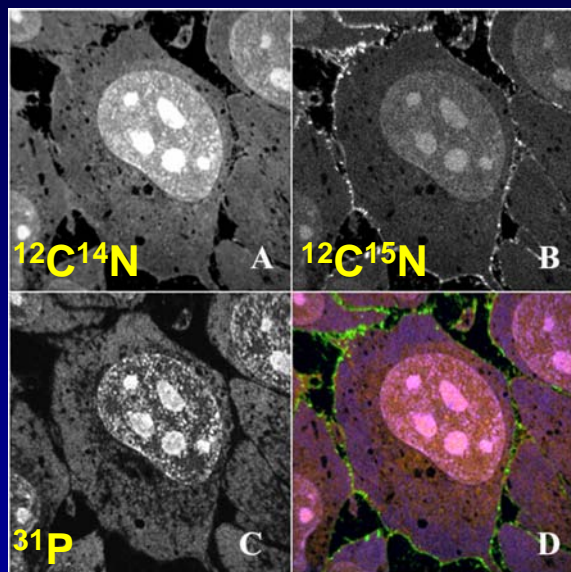


TPP-(pGluoH

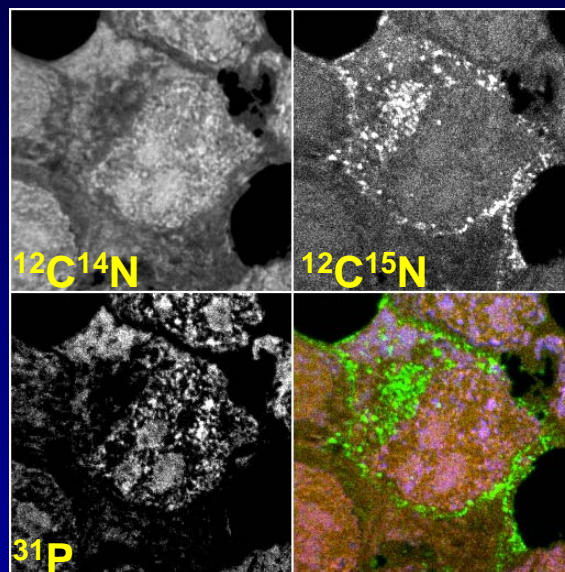


B-subunit

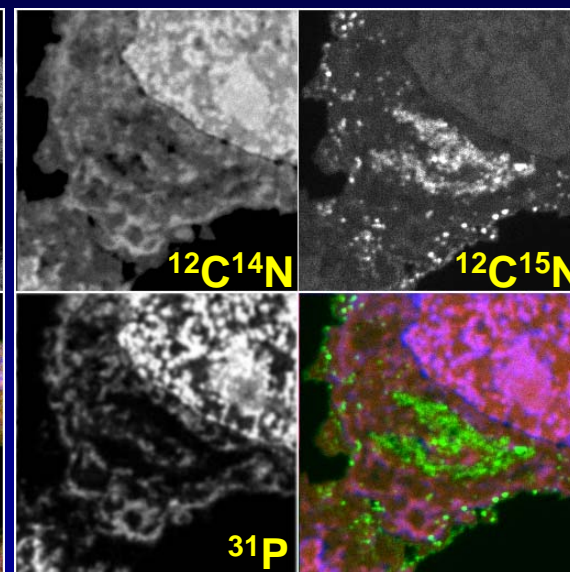
Collab. UMR 144 CNRS/Curie (L. Johannes)



raster 30µm, T = 0 min



raster 20µm



raster 10µm

Time = 40 min

W Römer, T-D Wu, et al, Appl. Surf. Sci., 252, (2006), 6925-6930

## *Analyse isotopique*

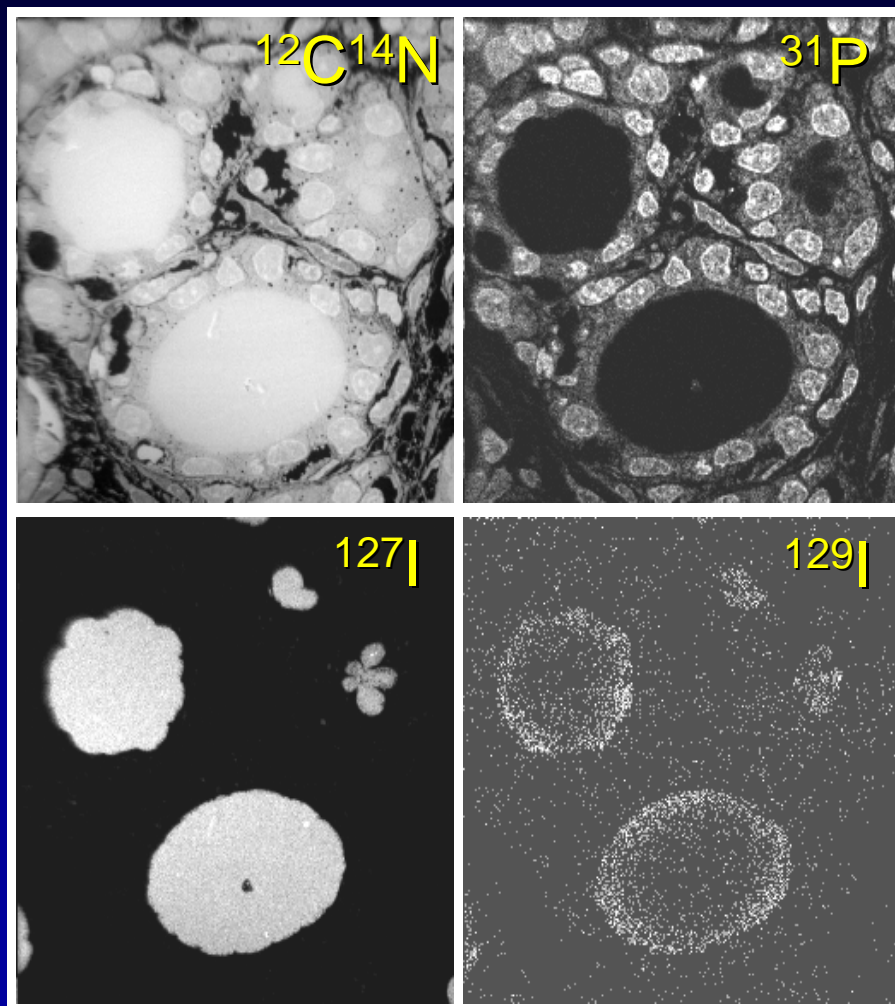
---

Distribution d'isotopes d'iode dans la thyroïde

Caractérisation de l'identité et de la fonction de bactéries

# *Distribution de l'iode dans la thyroïde*

## *Application pour les simulations de doses absorbées*



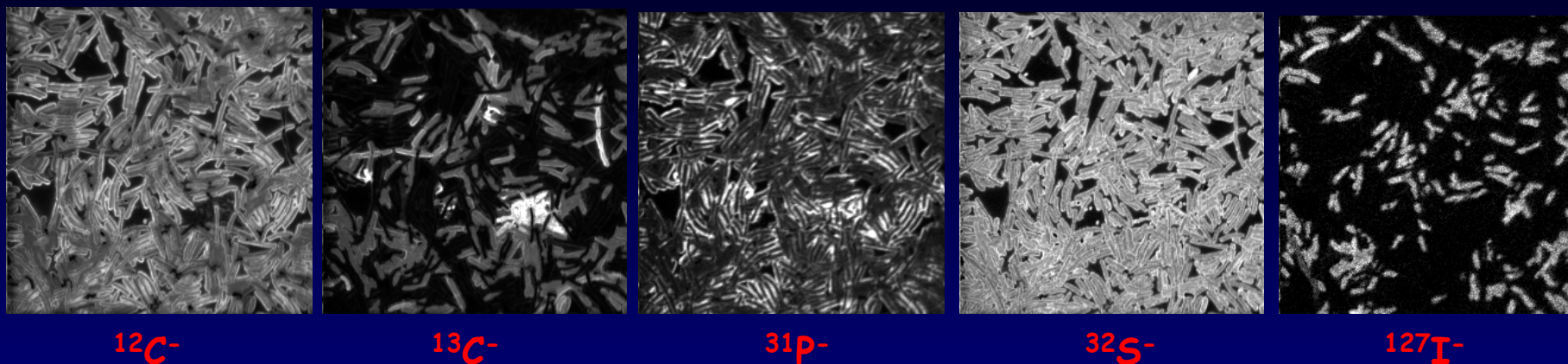
Champ de  
60  $\mu\text{m}$  x 60  $\mu\text{m}$



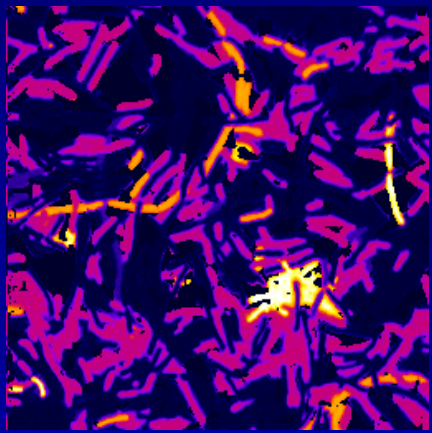
*Étude de communautés  
microbiennes complexes dans des  
processus de dégradation de déchets.*

**Visualisation de l'identité et de la fonction  
des microorganismes par imagerie SIMS**

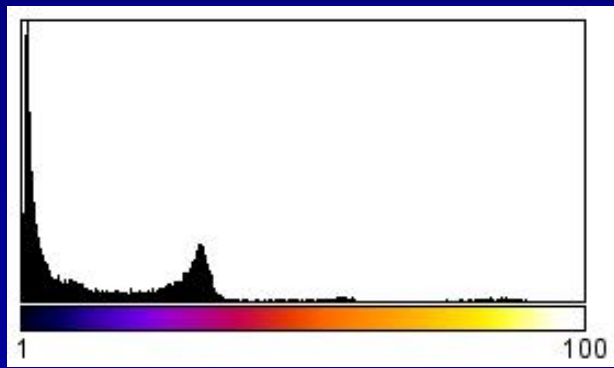
**$^{13}\text{C}$  enrichment : *E.Coli* (40% with I probe) and *B. subtilis* (1%, 10%,40%, 70% and 100%)**



raster 30 $\mu\text{m}$



**$^{13}\text{C}$  enrichment**



# Conclusions

- potentialités en biologie du SIMS, en terme de **sensibilité et de résolution**, pour l'imagerie et l'analyse chimique élémentaire à un niveau subcellulaire
- potentialités spécifiques avec ***l'analyse isotopique***
- ***complémentarité*** avec les autres méthodes d'analyse et d'imagerie