

Les métaux carbonyles

Une plateforme moléculaire pour l'imagerie bimodale vibrationnelle et de luminescence

Sylvain Clède

Résumé Grâce à leurs propriétés vibrationnelle et de luminescence, les métaux carbonyles sont des candidats idéaux pour réaliser une imagerie bimodale cellulaire. Le fil conducteur de cette recherche a été la mise au point, l'étude et l'utilisation d'un cœur rhénium tris-carbonyle $[LRe(CO)_3X]$ ($L =$ pyridyl-1,2,3-triazole et $X = Cl^-$), dit SCoMPI (« single core multimodal probe for imaging »), combinant les modalités d'absorption infrarouge (IR) et de luminescence sur une structure moléculaire unique, stable en milieu biologique. Des cartes IR et de luminescence ont été réalisées sur des cellules incubées avec un premier dérivé SCoMPI ; leur correspondance a démontré l'intégrité en milieu cellulaire et la pertinence en tant qu'agent bimodal d'une telle unité. Il était alors possible de l'envisager comme une plateforme moléculaire de spectroscopie corrélative, greffable à toute molécule biologique d'intérêt. Une première application à la détection d'un dérivé œstrogénique a mis en évidence tout son potentiel pour le traçage de molécules. L'étude approfondie de l'influence de substituants du ligand L sur la pénétration cellulaire de sondes SCoMPI a permis de mieux comprendre les paramètres influant sur leur internalisation. Le suivi IR/luminescence en temps réel de sa translocation a montré l'intérêt de ces objets pour l'imagerie de cellules vivantes.

Mots-clés Sonde métal carbonyle, traçage de molécules, imagerie cellulaire vibrationnelle, luminescence, spectroscopies corrélatives, spectromicroscopies, rayonnement synchrotron.

Abstract From metal carbonyls to single core multimodal probes for imaging
Metal carbonyls are ideal candidates for bimodal bio-imaging due to their appropriate vibrational and luminescence properties. The main focus of this work has been the development, the study and the use of a rhenium tris-carbonyl unit $[LRe(CO)_3X]$ ($L =$ pyridyl-1,2,3-triazole, $X = Cl^-$), named SCoMPI ("single core multimodal probe for imaging"), combining vibrational and luminescent modalities on a unique molecular moiety, robust in biological media. Since infrared and luminescent sub-cellular mappings of this first SCoMPI compound were consistent, its integrity and relevance as a bimodal imaging agent were demonstrated. A first bio-application to track an estrogen derivative showed that SCoMPIs have a great potential as luminescent and vibrational tags. The in-depth study of the influence of pendant groups on its cellular uptake allowed a better understanding of the parameters involved. Successful bimodal live-cell imaging highlighted that SCoMPIs could be used as imaging agents in living cells.

Keywords Metal carbonyl probe, molecule tracking, vibrational and luminescence cell-imaging, correlative spectroscopies, synchrotron-based spectromicroscopies.

Le monde vivant est constitué d'une multitude de biomolécules, chacune ayant une réponse propre à un *stimulus* extérieur. Détecter une molécule particulière (« l'aiguille ») dans cet environnement complexe (« la botte de foin ») n'est donc pas chose aisée. Une voie consiste à singulariser la molécule d'intérêt, en lui conférant un signal univoque qui permettra de la révéler sans aucune ambiguïté. La détection sera d'autant plus fiable que la molécule présente des modalités (singularités) multiples, que l'on peut sonder selon des approches différentes afin de conforter sa localisation. La détection simultanée des compartiments de la cellule (comme le noyau, l'appareil de Golgi ou le réticulum endoplasmique) peut permettre d'identifier des interactions entre les organites et la molécule d'intérêt, et donc de comprendre son activité biologique.

L'enjeu de ce travail est de mettre au point une sonde « Shiva » (figure 1), détectable selon diverses techniques complémentaires et greffable sur des molécules d'intérêt biologique afin de déterminer leur localisation subcellulaire.

Les métaux carbonyles : des sondes infrarouge et de luminescence

La spectroscopie infrarouge (IR) et les méthodes d'imagerie vibrationnelle présentent de nombreux atouts : faible énergie mise en jeu, pénétration accrue du rayonnement, signature propre à chaque fonction chimique ; elles sont ainsi de plus en plus utilisées pour la résolution de problématiques biologiques. Les métaux carbonyles sont des complexes de métaux de transition comportant au moins un ligand monoxyde de carbone (CO) dans leur sphère de coordination. Leur robustesse en environnement biologique et leurs propriétés spectrales en font des structures moléculaires de choix pour une imagerie vibrationnelle et de luminescence en milieu biologique. Les métaux carbonyles présentent en effet des bandes d'absorption IR intenses en dehors de tout signal cellulaire, dans la fenêtre dite de transparence des cellules entre $1\ 800$ et $2\ 200\text{ cm}^{-1}$, ce qui permet une détection univoque en milieu cellulaire [1-2], et même de les quantifier [3].

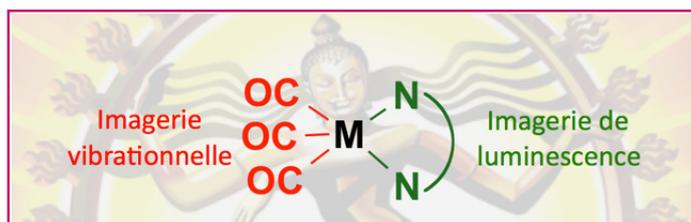


Figure 1 - Molécule « Shiva » pour une imagerie bimodale, par spectroscopie infrarouge grâce aux groupes carbonyles CO, et par luminescence grâce à l'interaction entre le métal M et le ligand hétéroaromatique N^N.

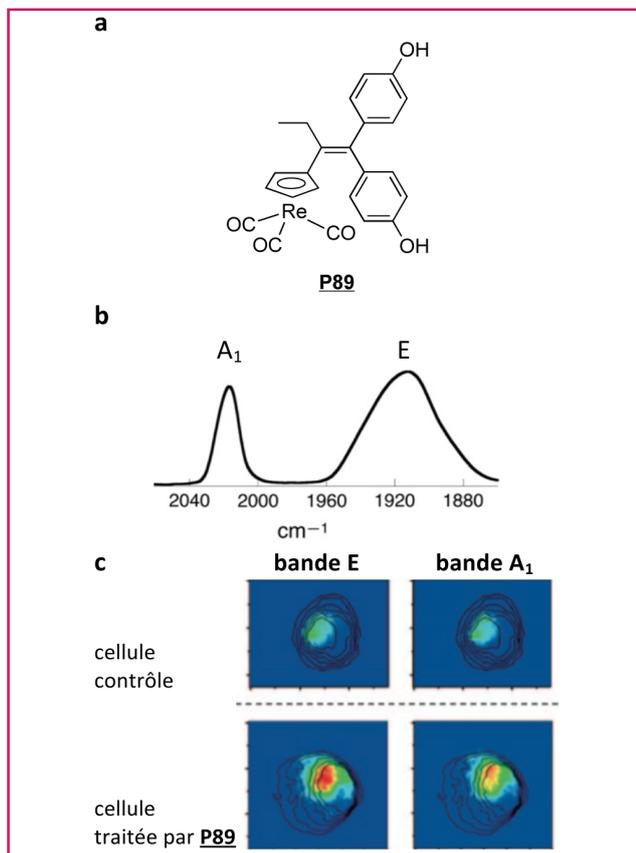


Figure 2 - a) Structure du composé P89. b) Spectre IRTF de P89 avec mise en évidence des bandes carbonyles A₁ et E. c) Cartographies AFMIR pour les bandes E et A₁ sur cellules mammaires MDA-MB-231 : signal intense pour les cellules incubées avec P89 (1 h, 10 μM) (ligne du bas), signal résiduel pour les cellules contrôles (ligne du haut). Voir [5].

Récemment, le développement de techniques d'imagerie vibrationnelle a permis d'étudier la distribution cellulaire de nombreux métaux carbonyles [4].

De géométrie locale C_{3v} (en chaise de piano), le fragment rhénium tris-carbonyle (Re(CO)₃) présente deux bandes intenses de vibration, d'étiquettes de symétrie E et A₁, respectivement à 1 920 et 2 025 cm⁻¹, dans la fenêtre de transparence cellulaire (figure 2b). Nous avons ainsi imagé un complexe de rhénium tris-carbonyle Re(CO)₃, analogue du tamoxifène (P89) (figure 2a), connu comme anti-œstrogène se fixant dans les cellules mammaires, par la technique AFMIR couplant microscopie à champ proche (AFM) et détection par excitation dans l'infrarouge (IR) [5] (figure 2 et encadré 1).

Afin de valider la technique AFMIR, nous avons réalisé une première expérience de spectroscopie corrélative en comparant la cartographie IR de P89 obtenue par spectromicroscopie (SM) infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) utilisant un

rayonnement synchrotron (SR) (encadré 2) avec la localisation nucléaire du composé 4',6-diamidino-2-phénylindole (communément appelé DAPI, marqueur fluorescent du noyau cellulaire) [6]. Les deux études (AFMIR et SM-IRTF-SR) ont permis de conclure à une localisation nucléaire possible de P89.

En outre, un choix judicieux du ligand ancillaire L dans les complexes [LM(CO)_nX] (M = métal, X = pyridine ou Br⁻, Cl⁻) permet de réaliser sous irradiation dans le proche UV des transferts de charge métal-ligand (TCML), les états excités atteints pouvant se désexciter par voie radiative [7]. Ces complexes luminescents ont été très largement étudiés [8] et leurs propriétés d'absorption/émission peuvent être modulées en faisant varier la nature de L et de X. En raison de sa facilité de préparation, son inertie chimique, sa photostabilité et ses propriétés photophysiques (longue durée de vie des états excités, large déplacement de Stokes), le fragment LRe(CO)₃ est de loin le plus décrit dans la littérature pour les applications luminescentes des métaux carbonyles en milieu biologique [9]. Les ligands L de type bipyridine (bipy) et orthophénantroline sont les plus communément utilisés dans l'élaboration de complexes [LRe(CO)₃X]⁺⁰ [7]. La fonctionnalisation de ces ligands est toutefois difficile [10] et des ligands plus facilement greffables ont donc été développés. C'est le cas du pyridyl-1,2,3-triazole (ou pyta) [10], élaboré par cycloaddition alcyne-azoture catalysée par le cuivre(I) (réaction CuAAC) entre l'éthynylpyridine et une fonction azoture. Nous avons décidé d'introduire ce ligand pyta dans la sphère de coordination de Re(CO)₃ pour lui conférer des propriétés de luminescence.

Considérant les travaux antérieurs et nos propres travaux, la pertinence des métaux carbonyles en tant que sonde vibrationnelle d'une part et sonde luminescente d'autre part était donc établie. Mais ces deux modalités n'avaient jusqu'alors jamais été combinées sur une même unité moléculaire. Actuellement, l'essentiel des sondes bimodales (fluorescence/IRM, fluorescence/radio-imagerie...) décrites dans la littérature résulte de la conjugaison de deux fragments moléculaires, chacun porteur d'une modalité [11]. Les structures obtenues sont donc de haut poids moléculaire et engendrent un fort encombrement stérique, ce qui risque de modifier les propriétés physico-chimiques des objets à marquer, en particulier si ces derniers sont de bas poids moléculaire.

Pourquoi ne pas envisager les métaux carbonyles comme un agent d'imagerie multimodal, permettant de corréler des méthodes spectroscopiques alternatives et complémentaires sur une unique structure moléculaire, de faible poids moléculaire ?

Définition et validation du concept SCoMPI

L'objectif premier était de montrer la faisabilité d'un couplage de deux spectroscopies grâce à un unique cœur moléculaire. Nous avons développé un fragment bimodal centré sur un cœur moléculaire unique [(pyta)Re(CO)₃Cl], dit SCoMPI (« single core multimodal probe for imaging »), permettant de combiner imagerie IR et de luminescence (figure 3a).

La pertinence de l'utilisation du fragment SCoMPI en tant qu'agent bimodal d'imagerie cellulaire IR/luminescence a été apportée par l'étude du composé SCoMPI-C₁₂N₃ (figure 3b) sur des cellules du cancer du sein. Comme le montre la figure 3c, les cartographies cellulaires selon ces deux modalités sont cohérentes, démontrant l'intérêt du cœur SCoMPI [12]. Ce composé a également fait l'objet d'une étude de traitement d'image réalisée sur la ligne synchrotron IRENI (SRC, Madison, E.-U.) [13].

Première bio-application au traçage intracellulaire

Pour illustrer l'utilité d'un cœur SCoMPI en tant que traqueur de molécules, nous avons greffé de manière covalente une unité SCoMPI au mestranol pour obtenir un dérivé œstrogénique SCoMPI-C₃-mestranol [14], pouvant être internalisé après incubation cellulaire (figure 4). S'appuyant sur la bimodalité IR/luminescence du cœur SCoMPI précédemment éprouvée, le composé SCoMPI-C₃-mestranol a été imagé

dans deux lignées cellulaires selon des techniques d'imagerie indépendantes :

- ses caractéristiques vibrationnelles ont été sondées par spectrophotométrie IRTF et spectromicroscopie IRTF basée sur un rayonnement synchrotron (ligne SMIS, synchrotron SOLEIL et ligne IRENI, SRC, Madison), par AFMIR et par microscopie confocale Raman (en collaboration avec Sophie Lecomte, CBM, Bordeaux) ;
- son émission de luminescence a été détectée par microscopie de fluorescence (champ large et confocal) et

Encadré 1

La technique de détection AFMIR ou le couplage d'un microscope à force atomique (AFM) à une excitation dans l'infrarouge (IR)

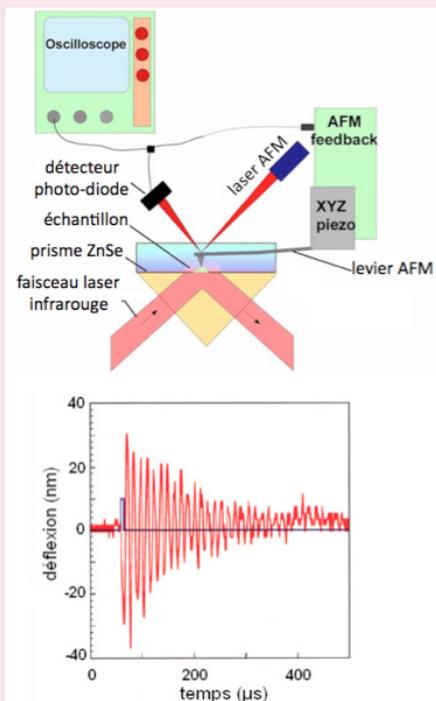
Alexandre Dazzi et ses collaborateurs ont développé et breveté une méthode d'imagerie submicrométrique, dite AFMIR, basée sur le couplage de la microscopie à force atomique (AFM) et de l'absorption d'un rayonnement infrarouge (IR) [a-b].

L'élément à visualiser (bactérie, cellule...) est placé sur un prisme de ZnSe. Transparent dans l'infrarouge, il permet l'irradiation du composé par un faisceau laser pulsé IR, rayonnement particulièrement adapté aux milieux biologiques. Moins énergétique en effet que les rayonnements visibles ou ultraviolets utilisés lors de l'excitation de fluorescence, il présente également l'avantage d'être peu diffusé par les tissus vivants. L'énergie mise en jeu (de l'ordre du millier de cm⁻¹) est à même d'occasionner des transitions vibrationnelles, caractéristiques de fonctions chimiques communément retrouvées dans le vivant – comme par exemple les lipides : vibration d'élongation ν(C-H) = 3 000 cm⁻¹ ; amides : vibration d'élongation ν(C=O) = 1 600-1 700 cm⁻¹ (amide I) ; déformation angulaire δ(H-N-C) = 1 550 cm⁻¹ (amide II) ; ADN : vibrations d'élongation symétrique (1 240 cm⁻¹) et antisymétrique (1 080 cm⁻¹) des phosphates.

Ainsi, dès lors qu'une molécule présente une fonction chimique absorbant le rayonnement laser, un échauffement local se produit et une onde acoustique est émise. Le levier AFM en contact avec l'objet d'étude subit cette onde et oscille alors selon ses modes propres de vibration. Le phénomène est qualifié de « photothermal induced resonance » (PTIR). Tel un diapason qui, frappé plus fortement, verra l'amplitude de ses modes propres augmenter, ceux du levier seront d'autant plus sollicités que l'absorption du rayonnement sera importante. En balayant la pointe AFM dans le plan d'étude, la cartographie chimique de la bande étudiée est donc obtenue.

[a] Dazzi A. *et al.*, High frequency deflection measurement of IR absorption, Brevet WO/2008/143817, 2008.

[b] Dazzi A. *et al.*, AFM-IR: combining atomic force microscopy and infrared spectroscopy for nanoscale chemical characterization, *Appl. Spectrosc.*, 2012, 66, p. 1365.



Montage AFMIR, impulsion laser (noir) et courbe de déflexion du levier AFM (rouge).

Encadré 2

Pourquoi utiliser un rayonnement infrarouge issu d'une source synchrotron ?

Le rayonnement synchrotron est une lumière émise par des électrons relativistes qui tournent dans un anneau de stockage (quasiment à la vitesse de la lumière). L'émission se fait tangentiellement à la trajectoire dans un faisceau extrêmement fin, lorsque l'on courbe la trajectoire des électrons avec un champ magnétique (force de Lorentz).

Si l'on souhaite imager une molécule dans une cellule (diamètre de l'ordre de 20 à 50 μm), il faut être capable de focaliser un grand nombre de photons sur une région de quelques micromètres carrés. Le rayonnement synchrotron répond à ce besoin : en raison de sa grande brillance (puissance émise par unité de surface de la source et par unité d'angle solide), il permet de produire sur une zone de quelques micromètres carrés plus de cent fois plus de photons infrarouges qu'une source thermique classique. Grâce au rayonnement synchrotron, on bénéficie donc d'un très bon rapport signal sur bruit, même à l'échelle subcellulaire.

- Plus d'informations : www.synchrotron-soleil.fr

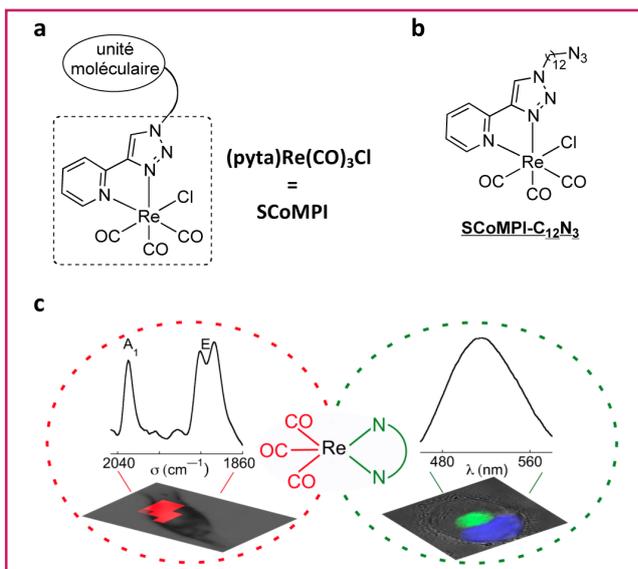


Figure 3 - a) Définition du fragment SCoMPI ; b) structure de SCoMPI-C₁₂N₃ ; c) bimodalité IR/luminescence validée. Voir [12].

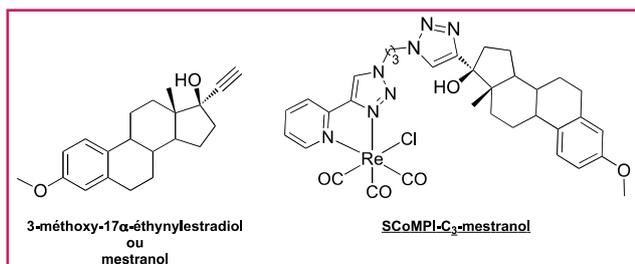


Figure 4 - Structure du méstranol (gauche) et du dérivé SCoMPI-C₃-méstranol (droite). Voir [14].

par spectromicroscopie UV basée sur un rayonnement synchrotron (ligne DISCO, synchrotron SOLEIL).

Cet ensemble de techniques vibrationnelles et de luminescence a permis d'établir que le conjugué s'accumulait majoritairement dans l'appareil de Golgi, organe mis en évidence par un marquage fluorescent (figure 5), mais également selon une méthode de détection non invasive basée sur des rapports de bandes IR [15]. De plus, il est intéressant de noter que la présence de l'unité SCoMPI a peu altéré l'activité œstrogénique du méstranol. Il a été mis en évidence que la pénétration cellulaire du dérivé était majoritairement due à un transport actif (transport initié et contrôlé par des mécanismes cellulaires), signe de la possible reconnaissance du dérivé par la machinerie cellulaire.

Influence de substituants sur l'internalisation et la cytotoxicité des composés SCoMPI

La pénétration cellulaire de composés SCoMPI substitués par une chaîne latérale carbonée de longueur n variable a été quantifiée par luminescence et IR. Les deux spectroscopies ont donné des résultats similaires, mettant en évidence une internalisation accrue avec la longueur de la chaîne (C₄, C₈, C₁₂), donc avec la lipophilie. En outre, nous avons établi que la cytotoxicité du cœur SCoMPI n'est révélée que si le dérivé est suffisamment lipophile pour passer la membrane cellulaire (figure 6) [16].

Imagerie bimodale de cellules vivantes

En vue d'approfondir la caractérisation de l'unité SCoMPI en tant qu'agent bimodal d'imagerie, nous avons entrepris l'étude cinétique en temps réel de sa pénétration cellulaire

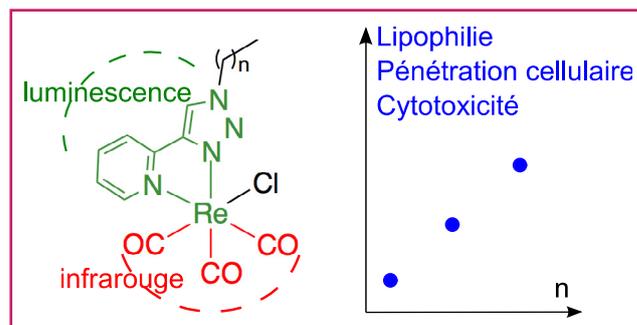


Figure 6 - Schéma de l'évolution de la lipophilie, de la pénétration cellulaire et de la cytotoxicité avec l'allongement n de la chaîne carbonée greffée sur le cœur SCoMPI. Voir [16].

selon les deux modalités. L'augmentation de l'absorption IR due aux groupes carbonyles CO et celle de l'émission de luminescence due au transfert de charge métal-ligand ont été suivies respectivement par spectromicroscopie IRTF et microscopie de fluorescence. La figure 7 illustre par exemple la pénétration intracellulaire du composé SCoMPI-C₁₂N₃ sur une durée de 80 minutes.

Imagerie tissulaire : greffage à un peptide pénétrant pour une vectorisation épidermique

Les traitements par voie orale ou intraveineuse présentent un certain nombre d'inconvénients, comme la douleur lors de l'injection ou une possible métabolisation prématurée du médicament par les reins. Une application topique (sur la peau ou les muqueuses) de la molécule active est une alternative parfois très efficace, notamment dans le traitement de maladies inflammatoires cutanées comme le psoriasis.

Les peptides pénétrants (« cell penetrating peptide », CPP) sont utilisés depuis une dizaine d'années en cosmétique et dans le domaine pharmaceutique afin d'aider une molécule active à traverser la barrière cutanée. Nous avons couplé un peptide pénétrant à une sonde SCoMPI et étudié sa pénétration cutanée par imagerie IR et de luminescence. Le franchissement du *stratum corneum*, véritable cuirasse protectrice contre les attaques extérieures, a été mis en évidence, prouvant l'intérêt d'un tel composé bimodal pénétrant, SCoMPI-peptide, pour l'application locale cutanée de principes actifs (figure 8) [17].

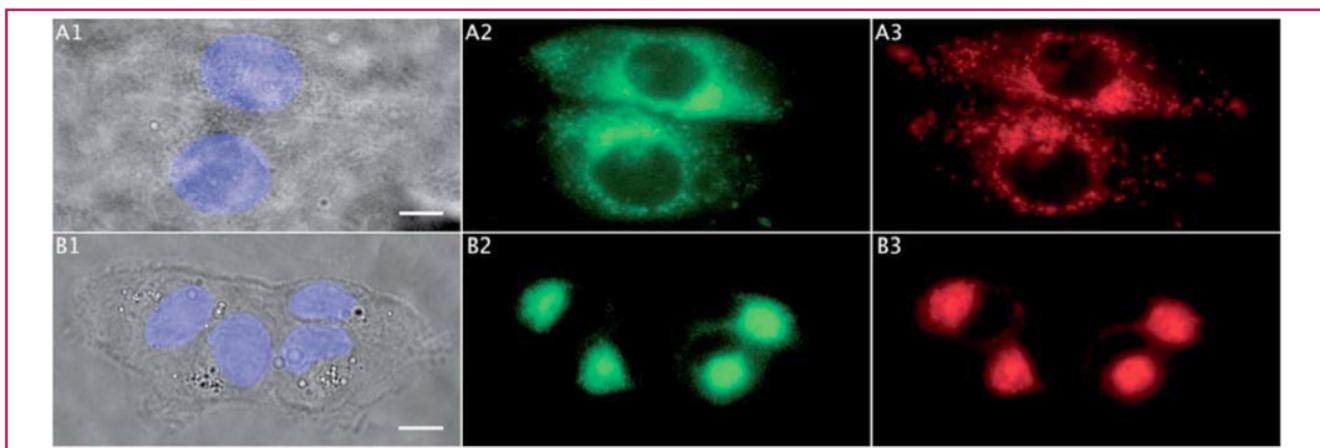


Figure 5 - **Expériences de colocalisation** (barres d'échelle : 10 μ m). Deux cellules MCF-7 (A) et quatre cellules MDA-MB-231 (B) incubées avec SCoMPI-C₃-méstranol (25 μ M, 1 h). A1) et B1) images en lumière blanche avec marquage nucléaire (DAPI, bleu) ; A2) et B2) SCoMPI-C₃-méstranol en vert ; A3) et B3) marqueur de l'appareil de Golgi en rouge. Cellules fixées et lamelles montées (solution de montage Vectashield). Voir [14].

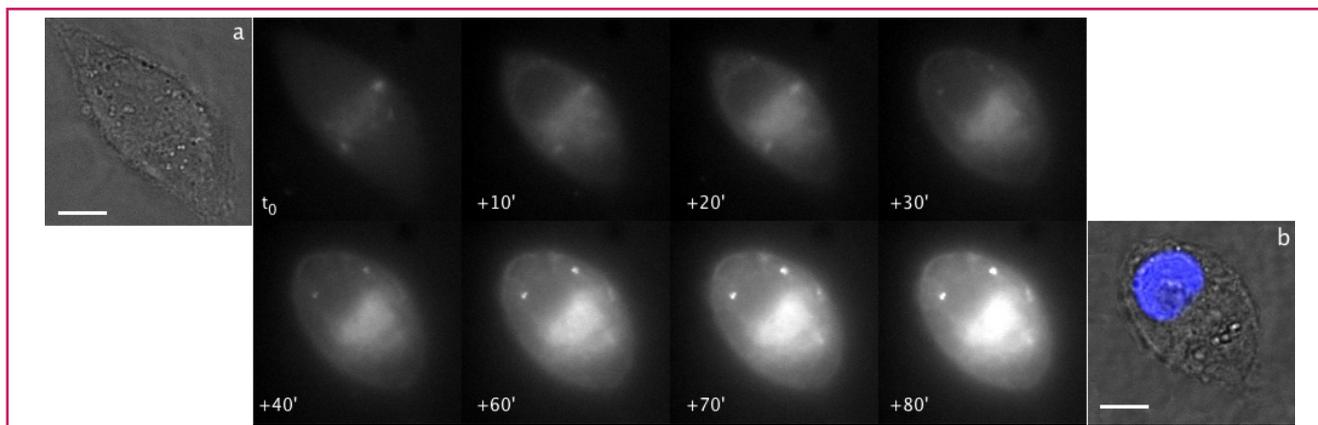


Figure 7 - Étude par microscopie de fluorescence de la cinétique de pénétration de SCoMPI-C₁₂N₃ dans une cellule MDA-MB-231. Une solution de milieu de culture à 25 µM en SCoMPI-C₁₂N₃ est introduite à t₀ et le signal de luminescence de SCoMPI-C₁₂N₃ est suivi pendant 80 minutes (clichés du centre enregistrés toutes les minutes, temps d'exposition : 400 ms). Images en lumière blanche respectivement avant (a) et à la fin (b) de l'expérience. Marquage nucléaire par le DAPI (bleu). Barres d'échelle : 10 µm.

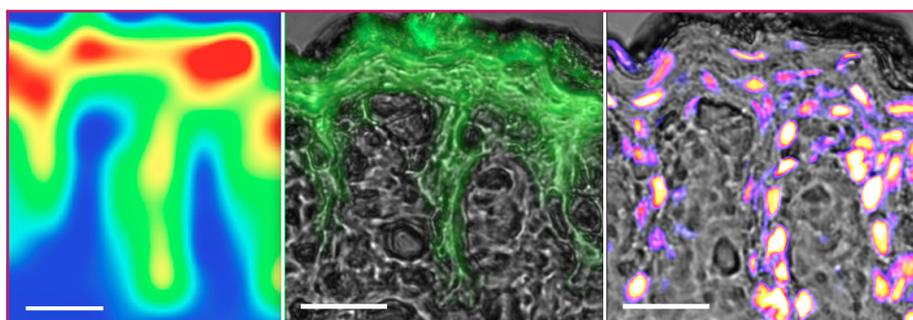


Figure 8 - Coupe de peau après 24 h d'application d'une solution aqueuse de peptide pénétrant greffé à une sonde SCoMPI. Gauche : carte infrarouge de la présence du SCoMPI (concentrations croissantes du bleu au rouge). Milieu : signal de luminescence du SCoMPI, montrant la pénétration du dérivé jusqu'à la jonction dermo-épidermique. Droite : marquage des noyaux des cellules de l'épiderme par le DAPI. Barres d'échelle : 20 µm. Voir [17].

Conclusion

Ce travail, à l'interface chimie-biologie-physique, a été consacré à la mise au point, à l'étude et à l'utilisation de sondes bimodales IR/luminescence pour l'imagerie cellulaire et tissulaire, dites SCoMPI. Dans une spectroscopie vibrationnelle aux multiples attraits (pas de photoblanchiment, détection d'organelles sans marqueur exogène), les composés SCoMPI sont des objets très prometteurs, autorisant une transversalité des techniques pour une meilleure compréhension des phénomènes biologiques.

L'auteur remercie chaleureusement ses directeurs de thèse, Pr Clotilde Policar et Dr François Lambert, et toutes les personnes qui ont contribué à ces travaux.

Références

- [1] Jaouen G., Vessières A., Top S., Ismail A.A., Butler I.S., Metal carbonyl fragments as a new class of markers in molecular biology, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, p. 4778.
- [2] Clède S., Policar C., Metal-carbonyl units for vibrational and luminescence imaging: towards multimodality, *Chem. Eur. J.*, **2015**, *21*, p. 942.
- [3] Salmain M., Vessières A., Jaouen G., Butler I.S., Fourier transform spectroscopic method for the quantitative trace analysis detection of transition-metal carbonyl-labeled bioligands, *Anal. Chem.*, **1991**, *63*, p. 2323.
- [4] Patra M., Gasser G., Organometallic compounds: an opportunity for chemical biology?, *ChemBioChem*, **2012**, *13*, p. 1232.
- [5] Policar C., Waern J.B., Plamont M.A., Clède S., Mayet C., Prazeres R., Ortega J.-M., Vessières A., Dazzi A., Subcellular imaging in the mid-IR of a metal-carbonyl moiety using photothermal induced resonance, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, p. 860.
- [6] Clède S., Lambert F., Sandt C., Gueroui Z., Delsuc N., Dumas P., Vessières A., Policar C., Synchrotron radiation FTIR detection of a metal-carbonyl tamoxifen analog: correlation with luminescence microscopy

to study its subcellular distribution, *Biotechnol. Adv.*, **2013**, *31*, p. 393.

- [7] Wrighton M., Morse D.L., Nature of the lowest excited state in tricarbonylchloro-1,10-phenanthroline-rhenium(I) and related complexes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, *96*, p. 998.
- [8] Lo K.K.-W., Choi A.W.-T., Law W.H.-T., Applications of luminescent inorganic and organometallic transition metal complexes as biomolecular and cellular probes, *Dalton Trans.*, **2012**, *41*, p. 6021.
- [9] Fernandez-Moreira V., Thorp-Greenwood F.L., Coogan M.P., Application of d⁶ transition metal complexes in fluorescence cell imaging, *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, p. 186.
- [10] Wolff M., Munoz L., Francois A., Carrayon C., Seridi A., Saffon N., Picard C., Machura B., Benoist E., Tricarbonylrhenium complexes from 2-pyridyl-1,2,3-triazole ligands bearing a 4-substituted phenyl arm: a combined experimental and theoretical study, *Dalton Trans.*, **2013**, *42*, p. 7019.
- [11] Guo K., Berezin M.Y., Zheng J., Akers W., Lin F., Teng B., Vasalatiy O., Gandjbakhche A., Griffiths G.L., Achilefu S., Near infrared-fluorescent and magnetic resonance imaging molecular probe with high T₁ relaxivity for in vivo multimodal imaging, *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, p. 3705.
- [12] Clède S., Lambert F., Sandt C., Gueroui Z., Refregiers M., Plamont M.-A., Dumas P., Vessières A., Policar C., A rhenium tris-carbonyl derivative as a single core multimodal probe for imaging (SCoMPI) combining infrared and luminescent properties, *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, p. 7729.
- [13] Mattson E.C., Unger M., Clède S., Lambert F., Policar C., Imtiaz A., D'Souza R., Hirschmugl C.J., Toward optimal spatial and spectral quality in widefield infrared spectromicroscopy of IR labelled single cells, *Analyst*, **2013**, *138*, p. 5610.
- [14] Clède S., Lambert F., Sandt C., Kascakova S., Unger M., Harté E., Plamont M.-A., Saint-Fort R., Deniset-Besseau A., Gueroui Z., Hirschmugl C., Lecomte S., Dazzi A., Vessières A., Policar C., Detection of an estrogen derivative in two breast cancer cell lines using a single core multimodal probe for imaging (SCoMPI) imaged by a panel of luminescent and vibrational techniques, *Analyst*, **2013**, *138*, p. 5627.
- [15] Clède S., Policar C., Sandt C., Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy to identify cell organelles: correlation with fluorescence staining in MCF-7 breast cancer cells, *Appl. Spectrosc.*, **2014**, *68*, p. 113.
- [16] Clède S., Lambert F., Saint-Fort R., Plamont M.-A., Bertrand H., Vessières A., Policar C., Influence of the side-chain length on the cellular uptake and the cytotoxicity of rhenium tris-carbonyl derivatives: a bimodal infrared and luminescence quantitative study, *Chem. Eur. J.*, **2014**, *20*, p. 8714.
- [17] Clède S., Delsuc N., Laugel C., Lambert F., Sandt C., Baillet-Guffroy A., Policar C., An easy-to-detect nona-arginine peptide for epidermal targeting, *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, p. 2687.



Sylvain Clède

est professeur de chimie en classe préparatoire aux grandes écoles. **Il a reçu le prix de thèse 2014 de la division de Chimie Physique**, division commune à la Société Chimique de France et à la Société Française de Physique. Sa thèse a été préparée au Laboratoire des Biomolécules, Département de chimie de l'ENS*, sous la direction du Pr Clotilde Policar et du Dr François Lambert.

* Laboratoire des Biomolécules, UMR 7203 CNRS/ENS/UPMC, Département de chimie de l'ENS, 24 rue Lhomond, F-75005 Paris. Courriel : sylvain.clede@wanadoo.fr