

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 1 SCIENCES ET TECHNOLOGIES**

**N° d'ordre : 42291**

**NOM/PRENOM DU CANDIDAT : Bernex Romain**

Ecole doctorale : Science de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement (SMRE)

Laboratoire : Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (LASIR)

Discipline : Optique, Lasers, Physico-Chimie et Atmosphère

Si cotutelle, établissement partenaire :

**JURY :**

- Directeur(s) de thèse : Ruckebusch Cyril
- Rapporteurs : Métivier Remi, Didier Pascal
- Examineurs : Sliwa Michel, Vezin Hervé, Rutledge Douglas, Méallet-Renault Rachel

**SOUTENANCE : 13 décembre 2016 à 14h au Bâtiment SH3, amphithéâtre B17**

**TITRE DE LA THESE :**

Etude photodynamique de nanoparticules de BODIPY et développements méthodologiques pour l'imagerie de fluorescence super-résolue

**RESUME :**

La première partie du travail de thèse a été l'étude de nanoparticules organiques (NPFs) de BODIPY de forte brillance (plus de 5000 molécules encapsulées). Des expériences par fluorescence résolue en temps ont permis de déterminer la présence d'agrégats non fluorescents et d'excimères (temps de vie de 1,8 ns). D'autre part, des expériences d'anisotropie de fluorescence résolue en temps et de spectroscopie d'absorption transitoire femtoseconde ont révélé l'existence de transferts d'énergie ultrarapides et efficaces, migration intermoléculaire ( $< 25$  ps) et annihilation singulet-singulet ( $< 2$  ps). Enfin, le suivi de l'émission des NPFs par spectroscopie de particules uniques a permis d'observer leur clignotement à l'échelle de la centaine de millisecondes. Cependant, due à une trop forte densité de molécules émissives, aucune extinction totale de fluorescence (état OFF) n'a été observée.

L'absence d'état OFF ne permettant pas l'utilisation d'une méthode de localisation de molécules uniques, la deuxième partie du travail a concerné le développement d'une méthode de traitement des données d'imagerie de fluorescence de molécules uniques possédant une forte densité de molécules émissives. Cette méthode (MAPPIX, MAPping Pixel dissimilarity) utilise la fluctuation d'intensité de l'émission de fluorescence des sondes au cours du temps et est basée sur un calcul de dissimilarité. Les résultats obtenus sur des données simulées et des images réelles se sont avérés très concluants. Bien que n'ayant pas pu être rationalisé en termes de gain de résolution, une amélioration de contraste permettant de dépasser la limite de diffraction a été observée.

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 1 SCIENCES ET TECHNOLOGIES**

**N° order : 42291**

**NAME/SURNAME OF THE CANDIDATE : Bernex Romain**

Doctoral School : Science de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement (SMRE)

Laboratory : Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (LASIR)

Discipline : Optique, Lasers, Physico-Chimie et Atmosphère

In case of co-tutorial thesis, provide the partner institution :

**THESIS COMMITTEE :**

- Thesis supervisor(s) : Ruckebusch Cyril
- Referees : Métivier Remi, Didier Pascal
- Examiners : Sliwa Michel, Vezin Hervé, Rutledge Douglas, Méallet-Renault Rachel

**DEFENSE : December 13, 2016 at 2 pm, Building SH3, room B17**

**TITLE OF THE THESIS :**

Study of the photodynamic for some BODIPY nanoparticles and methodological developments for super-resolution fluorescence imaging

**ABSTRACT :**

The first part of the thesis was the study of bright BODIPY nanoparticles (NPFs) (more than 5000 encapsulated molecules). Non-fluorescent aggregates and excimers (lifetime of 1.8 ns) were characterized by time resolved fluorescence experiments. In addition time-resolved fluorescence anisotropy and femtosecond transient absorption spectroscopy experiments revealed efficient ultrafast energy transfer, intermolecular migration ( $< 25$  ps) and singlet-singlet annihilation ( $< 2$  ps). Single particle spectroscopy on NPFs, function of the number of excited molecules within a NPF, revealed some blinking at the scale of about a hundred of milliseconds. However, due to too high density of emissive molecules, complete extinction of fluorescence (OFF state) could not be observed.

The absence of OFF state forbid the use of a single molecule localization methods, the second part of this work was thus focused on the development of a data treatment method for single molecule fluorescence images containing high density of emitters. This method (MAPPIX, MAPping Pixel dissimilarity) uses the intensity fluctuations of the probes fluorescence emission over time and is based on a dissimilarity calculation. The results obtained on simulated data and real images were very conclusive. Although it was not possible to be rationalized it in terms of resolution, a contrast improvement bypassing the diffraction limit was observed.